

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21

**REGRESSÃO ESPONTÂNEA DO CORPO LÚTEO EM BOVINOS: REVISÃO**

*SPONTANEOUS CORPUS LUTEUM REGRESSION IN CATTLE: REVIEW*

## 22 **RESUMO**

23

24 O conhecimento do processo de luteólise dentro da fisiologia reprodutiva se torna  
25 importante para que ocorra a compreensão do reconhecimento materno da gestação e seja  
26 possível formular estratégias anti-luteolíticas que visem manter esta fase conferindo aumentos na  
27 eficiência reprodutiva e produtiva. Durante o processo de luteólise, o tecido luteal sofre  
28 mudanças bruscas na capacidade esteroidogênica, vascularização e remodelamento, resultando  
29 em substituição da glândula por tecido conjuntivo, sendo a  $PGF2\alpha$  o principal determinante na  
30 indução espontânea da luteólise em bovinos. Simultaneamente, ocorre um íntimo processo entre  
31 as relações anatômicas que compreende o ovário, útero e suas vascularizações. A exposição do  
32 útero à interação coordenada entre  $P4$ ,  $E2$  e ocitocina aliada à expressão de seus receptores são  
33 essenciais para a secreção pulsátil de  $PGF2\alpha$  pelo endométrio a qual induzirá a luteólise. Nesta  
34 regressão do corpo lúteo (CL), estão envolvidos ainda os hormônios (LH, prolactina, cortisol) e  
35 várias substâncias vasoativas (óxido nítrico, VEGF, EG-VEGF, bFGF, END-1, AngII). A  
36 concentração de  $PGF2\alpha$  pode ser representada pela mensuração sanguínea da concentração de  
37 seu metabólito 13,14-dihidro-15-ceto-  $PGF2\alpha$  (PGFM) sendo a pulsatilidade da secreção de  
38  $PGF2\alpha$  durante os períodos pré-luteolítico, luteolítico e pós-luteolítico mensurável pelo aumento  
39 na concentração de PGFM. Neste artigo de revisão, será possível compreender e discutir os  
40 principais aspectos endócrinos e moleculares que ocorrem com as mudanças morfofuncionais no  
41 CL durante o processo de luteólise fisiológica em fêmeas bovinas.

42

43

44 Palavras chave: Luteólise Espontânea, Bovinos.

45 **ABSTRACT**

46

47 The knowledge of the luteolysis process within reproductive physiology becomes  
48 important to occur the understanding of maternal recognition of gestation being possible to  
49 formulate anti-luteolytic strategies aimed at maintaining this phase conferring increases in  
50 reproductive and productive efficiency. During the luteolysis process, luteal tissue undergoes  
51 abrupt changes in steroidogenic capacity, vascularization and remodeling, resulting in  
52 replacement of the gland by connective tissue, and PGF $2\alpha$  is the main determinant in the  
53 spontaneous induction of luteolysis in cattle. Simultaneously, an intimate process occurs between  
54 the anatomical relationships that comprise the ovary, uterus and its vascularizations. The  
55 exposure of the uterus to the coordinated interaction between P4, E2 and oxytocin, together with  
56 the expression of its receptors, are essential for the pulsating secretion of PGF $2\alpha$  by the  
57 endometrium, which will induce luteolysis. In this regression of the corpus luteum (CL),  
58 hormones (LH, prolactin, cortisol) and various vasoactive substances (nitric oxide, VEGF, EG-  
59 VEGF, bFGF, END-1, AngII) are also involved. The concentration of PGF $2\alpha$  can be represented  
60 by the blood measurement of the concentration of its metabolite 13,14-dihydro-15-keto-PGF $2\alpha$   
61 (PGFM), being the pulsatility of PGF $2\alpha$  secretion during the pre-luteolytic, luteolytic and post-  
62 luteolytic measured by the increased concentration of PGFM. In this review article, it will be  
63 possible to understand and discuss the main endocrine and molecular aspects that occur with the  
64 morphofunctional changes in CL during the physiological luteolysis process in bovine females.

65

66

67

68 Keywords: Luteolysis Spontaneous, Bovine.

## INTRODUÇÃO

69

70

71 A fertilidade de um rebanho bovino afeta a produtividade e lucratividade da atividade  
72 pecuária. Necessários aumentos na eficiência reprodutiva dependem da compreensão dos  
73 mecanismos endócrinos, celulares e moleculares envolvidos nos eventos do ciclo estral, e que  
74 resultam em maiores taxas de concepção. Na espécie bovina, a mortalidade embrionária é uma  
75 das causas mais relevantes da baixa fertilidade, promovendo altas perdas econômicas na  
76 atividade pecuária (Diskin et al, 2006). As principais perdas embrionárias ocorrem no “período  
77 crítico” entre o 15° e o 19° dia após a ovulação (Diskin et al, 2006). Neste período, ocorre o  
78 reconhecimento materno da gestação que compreende mecanismos que visam à inibição da  
79 regressão do corpo lúteo (CL; Bertan et al, 2006). O reconhecimento materno da gestação requer  
80 um ambiente uterino otimizado, o qual depende da função luteal em secretar adequadas  
81 quantidades de progesterona (P4).

82 A lise ou regressão do CL (luteólise) determina a redução da secreção de P4 (fim da fase  
83 luteal) e é importante para que a fêmea bovina retorne a um novo ciclo reprodutivo após a não  
84 constatação de uma gestação pelo animal. O processo de luteólise envolve diversos mecanismos  
85 anatômicos, endócrinos e moleculares que estimulam a secreção de agentes luteolíticos,  
86 determinando o fim da funcionalidade e da estrutura física que compreendia o CL (Ginther et  
87 al,2012). Assim, o conhecimento do processo de luteólise dentro da fisiologia reprodutiva na  
88 vaca é importante não só para o controle farmacológico do ciclo estral, mas também para  
89 compreensão do reconhecimento materno da gestação e formulação de estratégias anti-  
90 luteolíticas que visem manter a gestação. Neste sentido, estudos de cunho fisiológico enfocando  
91 a elucidação dos mecanismos que governam a luteólise sendo conduzidos por indução, atraso ou  
92 bloqueio da luteólise (Pugliesi et al, 2011; 2012a; 2012b; Shrestha et al, 2011; Ginther et al,

93 2010) se constituem a base para o desenvolvimento de novas biotécnicas reprodutivas que  
94 incrementem o manejo reprodutivo e a fertilidade em bovinos.

95 Desta forma, objetiva-se com este artigo de revisão, compreender e discutir os principais  
96 aspectos endócrinos e moleculares nas mudanças morfofuncionais no CL durante o processo de  
97 luteólise fisiológica em fêmeas bovinas.

## 98 **CORPO LÚTEO E ESTEROIDOGÊNESE LUTEAL**

99 O CL é um órgão endócrino temporário cuja principal função é a secreção de P4 pelas  
100 células esteroidogênicas (Niswender et al, 2000; Skarzynski et al, 2008; Salles; Araujo, 2010). A  
101 cada ciclo estral, as células luteínicas esteroidogênicas sintetizam e liberam P4 na circulação  
102 sistêmica, promovendo a quiescência na contratilidade do miométrio, o desenvolvimento  
103 glandular do endométrio e o ambiente uterino adequado para o desenvolvimento do concepto. A  
104 adequada função luteal em secretar P4 é crucial para determinar a duração fisiológica do ciclo  
105 estral e para ocorrer uma gestação bem sucedida.

106 O tecido luteal é composto por vários tipos celulares heterogêneos que consistem não  
107 apenas de células esteroidogênicas (células luteais pequenas e grandes), mas também de células  
108 não esteroidogênicas (células endoteliais, células musculares, periócitos, fibrócitos e células  
109 imunes (Shirasuna et al, 2007)). As células endoteliais vasculares representam mais de 50% do  
110 total do número de células no CL (O'Shea et al, 1989; Lei et al, 1991) e são responsáveis pela  
111 secreção de muitas substâncias vasoativas que regulam diretamente a secreção de P4 luteal  
112 (Myamoto et al, 1993, 1997; Shirasuna et al, 2007). Assim, os vasos sanguíneos e as células  
113 endoteliais no CL têm um papel essencial na função luteal nas vacas. O CL bovino se desenvolve  
114 rapidamente entre 2 a 3 dias após a ovulação, acompanhado de grande angiogênese e  
115 vascularização (Miyamoto et al, 2009). A maioria das células esteroidogênicas está em íntimo

116 contato com os capilares. Fatores de crescimento (como o VEGF e o bFGF) são os principais  
117 atuantes no desenvolvimento e na manutenção da densa rede de capilares neoformados e  
118 contribuem para a produção de P<sub>4</sub> (Sales ; Araujo, 2010).

119 O estímulo da esteroidogênese luteal é realizado principalmente pelo LH (Skarzynski et al,  
120 2008). Este hormônio luteotrófico é necessário para o desenvolvimento estrutural e funcional do  
121 CL. Outros hormônios também participam da estimulação do crescimento e da função luteal,  
122 incluindo a ocitocina, PGs e fatores de crescimento (Niswender et al, 2000). Após a ovulação,  
123 para que a P<sub>4</sub> seja sintetizada em grande quantidade pelas células luteais, além de ocorrer  
124 diferenciação celular, há aumento na expressão das enzimas necessárias para a conversão do  
125 colesterol em P<sub>4</sub> e das proteínas transportadoras de colesterol para o interior da membrana  
126 mitocondrial. O colesterol transportado para membrana mitocondrial interna interage com a  
127 enzima P450<sub>scc</sub>, transformando-o em pregnenolona (Bertan et al, 2006). Este precursor é  
128 transportado para o retículo endoplasmático liso e, por ação da enzima β-hidroxiesteróide  
129 desidrogenase (Δ<sup>5</sup> Δ<sup>4</sup> isomerase-3β-HSD), é convertido em P<sub>4</sub>. Assim, a produção de P<sub>4</sub> luteal é  
130 caracterizada por aumento na expressão das enzimas envolvidas na conversão de colesterol em  
131 P<sub>4</sub> (P450<sub>scc</sub> e 3β-HSD) e por decréscimo na expressão das enzimas que convertem P<sub>4</sub> em E<sub>2</sub>  
132 (P450<sub>17α</sub>-hidroxilase e P450 aromatase).

### 133 **LUTEÓLISE ESPONTÂNEA EM BOVINOS**

134 Na ausência da fertilização ou na incapacidade do concepto em sinalizar sua existência no  
135 útero, o CL deve regredir para possibilitar a ocorrência de um novo estro (Milvae, 2000; Webb et  
136 al, 2002). Durante o processo de lise ou regressão do CL (luteólise) o tecido luteal sofre  
137 mudanças bruscas na capacidade esteroidogênica, vascularização e remodelamento, resultando  
138 em substituição da glândula por tecido conjuntivo (Stocco et al, 2007). Assim, a luteólise

139 espontânea pode ser dividida em duas fases (Stocco et al, 2007; Skarzynski et al, 2008). A  
140 primeira é a luteólise funcional, a qual é associada a um marcado decréscimo na secreção de P4.  
141 A segunda fase, conhecida como luteólise estrutural, ocorre após o início do declínio da P4 e é  
142 determinada pela apoptose celular do CL até formação do corpo albicans.

### 143 **LUTEÓLISE FUNCIONAL**

144 A luteólise funcional é caracterizada pela redução da secreção de P<sub>4</sub> em um curto período  
145 de tempo na ovelha (McCracken et al, 1999) e na vaca (Ginther et al, 2010a). A luteólise  
146 funcional se inicia antes de se observar mudanças morfológicas na integridade das células luteais  
147 (Stocco et al, 2007). Assim, considerando-se as concentrações plasmáticas de P<sub>4</sub>, pode-se  
148 classificar três períodos relacionados com a luteólise espontânea em bovinos (Ginther et  
149 al,2010a; 2010b;), o período antes do início da redução da secreção de P<sub>4</sub> (pré-luteólise), o  
150 período de grande redução da P<sub>4</sub> (período luteolítico) e o período após o decréscimo das  
151 concentrações de P<sub>4</sub> a <1ng/mL (período pós-luteolítico). Baseado em amostragem da P<sub>4</sub>  
152 plasmática de hora em hora, estima-se que a duração do período luteolítico é de 24 horas em  
153 novilhas (Ginther et al, 2010a).

154 A redução das concentrações de P<sub>4</sub> durante a luteólise funcional em bovinos não ocorre de  
155 maneira contínua como observado na espécie equina (Ginther et al, 2011a; 2011b). Em novilhas,  
156 aumentos ou flutuações nas concentrações plasmáticas de P<sub>4</sub> ocorrem ao longo do período  
157 luteolítico (Ginther et al, 2010a; 2011b; 2011c). Há evidências em ratos (revisado em Stocco et  
158 al, 2007) indicando que durante a regressão funcional, as células luteais estão ainda com  
159 atividade esteroidogênica, entretanto o principal esteróide secretado durante este período não se  
160 constitui a P<sub>4</sub>, mas sim um metabólito da P<sub>4</sub> (20 $\alpha$ -progesterona). Em bovinos, outra característica  
161 que também pode ser observada durante a luteólise funcional é a perda de receptores de LH

162 aliado a uma menor perfusão sanguínea no CL (Niswender et al, 1976). Esta redução na perfusão  
163 sanguínea luteal parece ocorrer após um aumento agudo e transitório no fluxo sanguíneo logo  
164 após a indução da luteólise com PGF<sub>2α</sub> exógena (Acosta et al, 2002). Da mesma forma, durante  
165 um pulso luteolítico espontâneo de PGFM, a perfusão sanguínea luteal aumenta gradativamente  
166 durante a parte ascendente do pulso até o seu pico, e mantém elevado por 2 horas durante a parte  
167 descendente do pulso, para posteriormente reduzir (Ginther, 2007). Da mesma forma, durante  
168 pulsos de PGFM simulados por infusão intrauterina com PGF<sub>2α</sub>, a perfusão sanguínea no CL  
169 aumenta dentro de 1 hora após o início da infusão em novilhas (Shrestha et al, 2010b; 2011).

170       Devido aos vários efeitos adversos e respostas não fisiológicas após a administração de  
171 doses farmacológicas de PGF<sub>2α</sub> para induzir a luteólise (Ginther et al, 2009a; 2009b), o estudo  
172 das características da luteólise espontânea em bovinos deve ser realizado utilizando-se doses  
173 fisiológicas de PGF<sub>2α</sub> e seus análogos, e em tempo e intervalos que se assemelham aos pulsos  
174 espontâneos. Um exemplo destes efeitos é que a administração exógena de PGF<sub>2α</sub> promove um  
175 início mais rápido e reduz a duração da luteólise funcional em ovinos (McCracken et al, 1984) e  
176 bovinos (Ginther et al, 2009a). A administração de doses fisiológicas de PGF<sub>2α</sub> em intervalos  
177 próximos aos intervalos dos pulsos espontâneos de PGF<sub>2α</sub> induziu a luteólise funcional completa  
178 (P<sub>4</sub> < 1ng/mL) em ovelhas (Schramm et al, 1983) e novilhas (Ginther et al, 2009a). A dose total  
179 de PGF<sub>2α</sub> requerida para causar a luteólise funcional quando administrada de maneira pulsátil é  
180 de 1/10 a 1/40 da dose mínima requerida quando administrado de maneira contínua (Schramm et  
181 al, 1983; Ginther, 2007). Aboelenain et al(2015) sugerem que o processo de regressão luteal  
182 envolve o processo de apoptose e alguns outros fatores como um aumento na expressão de  
183 atividade lisossomal, síntese de catepsina lisossomais e formação de fagolisossomos, indicando



184 uma comunicação entre a função lisossomal, autofagia e apoptose durante a regressão do CL  
185 bovino.

## 186 LUTEÓLISE ESTRUTURAL

187 A regressão estrutural do CL é caracterizada pelo decréscimo no tamanho e peso da  
188 glândula, a qual eventualmente se torna um tecido totalmente regredido dentro do estroma  
189 ovariano denominado *corpo albicans*. A involução do CL é na verdade não somente a apoptose  
190 do tecido luteal, mas também a reposição do suporte vascular e tecido conectivo com feixes de  
191 fibras colágenas, fibroblastos e macrófagos. A maioria dos *corpos albicans* é substituída por  
192 estroma ovariano (Stocco et al, 2007). Na maior parte das espécies, a distinção entre a luteólise  
193 funcional e estrutural não está claramente reportada e os dois eventos podem não ser  
194 inteiramente separados (McCracken et al, 1999). Por exemplo, em ratos a  $PGF_{2\alpha}$  não causa a  
195 luteólise estrutural, a qual é induzida pela prolactina apenas após finalizada a luteólise funcional  
196 (Behrman et al, 1993). Em bovinos, a luteólise estrutural se inicia logo após o início do declínio  
197 da  $P_4$  plasmática (Ginther, 2007). Entretanto, o processo final de apoptose e substituição do  
198 tecido luteal pode demorar ainda alguns dias para ser completado após o fim da luteólise  
199 funcional (McCracken et al, 1999).

200 Uma grande variedade de agentes tem sido proposta como mediadores da luteólise  
201 estrutural (McCracken et al, 1999). Macrófagos e outras células imunes possuem papel  
202 importante na regressão luteal via a liberação do fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e outras  
203 citocinas (Benyo; Pate, 1992). O TNF- $\alpha$  pode também estar envolvido no efeito  
204 antiesteroideogênico durante a luteólise, já que *in vitro* o TNF- $\alpha$  inibe a produção de  $P_4$   
205 estimulada pelo LH nas células luteais bovinas (Benyo; Pate, 1992).

206 Durante a luteólise estrutural, um remodelamento considerável do tecido luteal ocorre  
207 durante a transformação do CL para *corpo albicans*. As metaloproteinases têm sido sugeridas  
208 como as mediadoras do remodelamento tecidual, particularmente da matriz extracelular  
209 (Birkedal-Hansen, 1995). O CL produz inibidores específicos das metaloproteinases que  
210 auxiliam na manutenção da integridade estrutural da glândula. A mais abundante  
211 metaloproteinase no CL de bovinos (Smith et al, 1996) é a metaloproteinase-1 (TIMP-1). Na  
212 vaca, a expressão luteal da TIMP-1 aumenta em 24 horas após a indução da luteólise com  $\text{PGF}_{2\alpha}$   
213 (Smith et al, 1996). O efeito positivo da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sobre a ação de algumas caspases e em citocinas  
214 co-relacionadas com a defragmentação de DNA celular também tem sido associado aos  
215 mecanismos que controlam a sinalização apoptótica durante a luteólise estrutural (revisado em  
216 Stocco et al, 2007).

## 217 **MECANISMOS ANATÔMICOS, ENDÓCRINOS E MOLECULARES ENVOLVIDOS**

### 218 **NA LUTEÓLISE EM BOVINOS**

219 O entendimento dos mecanismos luteolíticos requer o conhecimento das relações  
220 anatômicas entre o ovário, útero e suas vascularizações associadas. A exposição do útero à  
221 interação coordenada entre P4, E2 e ocitocina (Hooper et al, 1986; Lefrance; Goff, 1988; Silvia  
222 et al, 1991) aliada à expressão de seus receptores (Mann et al, 2001; Mann; Lamming, 2006) são  
223 essenciais para a secreção pulsátil de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pelo endométrio a qual induzirá a luteólise  
224 (McCracken, 1999). Além do E2, P4 e ocitocina, outros hormônios (LH, PRL, cortisol) e várias  
225 substâncias vasoativas (óxido nítrico, VEGF, EG-VEGF, bFGF, END-1, AngII) estão envolvidas  
226 no processo de regressão do CL (Stocco et al, 2007).

227 Neste contexto, verifica-se que o útero apresenta papel fundamental no controle da luteólise.  
228 A importância uterina foi primeiramente reportada em roedores (Loeb, 1923; 1927), através da

229 inexistência de ciclos reprodutivos e a persistência do CL após a histerectomia. Efeitos similares  
230 também foram observados em ovinos, bovinos, suínos e equinos (Anderson et al, 1969). Já em  
231 primatas, este efeito não é observado (Beavis et al, 1969; Neill et al, 1969). A persistência luteal  
232 após a histerectomia nas espécies supracitadas indicou que o útero é o responsável pela produção  
233 de uma substância que causa a regressão cíclica do CL. Todas as espécies que mantiveram o CL  
234 após esse procedimento possuem um útero bicornuado (McCracken et al, 1999). Na maioria  
235 destes animais, o efeito unilateral da histerectomia foi observado, ou seja, manutenção do CL  
236 após retirada de apenas um corno uterino. Posteriormente, evidências indicaram que a  $PGF2\alpha$  é  
237 esta substância luteolítica, a qual é liberada ciclicamente pelo útero por volta dos dias 15, 16 ou  
238 17 após a ovulação (Thatcher et al, 2001), e é o principal determinante na indução espontânea da  
239 luteólise em bovinos (McCracken, 1999). A concentração de  $PGF2\alpha$  pode ser representada pela  
240 mensuração da concentração de seu metabólito 13,14-dihidro-15-ceto-  $PGF2\alpha$ , PGFM  
241 (Ginther,2007).

242 Um mecanismo local de transferência da  $PGF2\alpha$  existe no pedículo útero-ovariano da vaca  
243 (Ginther et al, 1966; 1967; Hixon; Hansen, 1974). Estudos envolvendo a ligação dos vasos  
244 sanguíneos do útero e do ovário indicaram a importância da via vascular no efeito local do útero  
245 sobre a função ovariana em diversas espécies (revisado em (McCracken et al, 1999)). A artéria  
246 ovariana é fortemente anexada à superfície da veia útero-ovariana e percorre a veia de forma  
247 tortuosa antes de sua entrada no hilo ovariano. Esta via local facilita que substâncias difundam da  
248 veia útero-ovariana para a artéria ovariana e alcancem o ovário diretamente sem passar pela  
249 circulação sistêmica (Ginther, 1981). Além desse mecanismo de ação local, há evidências de que  
250 a  $PGF2\alpha$  possa agir, em parte, pela via sistêmica na vaca, já que ciclos estrais foram observados  
251 em bovinos de corte após a hemi-histerectomia quando o lado que o CL estava presente não foi

252 considerado (Ward et al, 1976). Adicionalmente, ciclos estrais de duração normal foram  
253 observados quando o ovário foi transplantado através de anastomoses vasculares com a artéria  
254 carótida e a veia jugular na vaca, e o outro ovário removido (Barcikowski et al, 1976).

255 Outra evidência que demonstra a maior eficácia da via local na indução da luteólise está  
256 relacionada à dose de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  necessária para induzir a regressão do CL. A dose mínima de  
257  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (1-2 mg) quando administrada via intrauterina (IU) no corno uterino ipsilateral ao CL é  
258 em torno de 10 vezes menor do que a dose via sistêmica (15 mg), a qual é administrada via  
259 endovenosa (Louis et al, 1974; Lauderdale; Fokolowsky, 1979). Neste contexto, a injeção de  
260  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (6 mg) dentro do corno uterino é seguido por maiores concentrações de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  na artéria  
261 ovariana ipsilateral do que na artéria carótida (Hixon ; Hansel, 1974). Assim, a rota natural de  
262 transporte entre o útero e ovário deve ser considerada em estudos da luteólise que utilizem  
263  $\text{PGF}_{2\alpha}$  exógena. Além disso, há a complexidade de se utilizar a veia jugular para tratamento com  
264  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ou para amostragem sanguínea já que 65% da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  é metabolizada durante uma única  
265 passagem pelos pulmões na vaca (Davis et al, 1985).

#### 266 AÇÃO DA PROSTAGLANDINA $\text{F}_{2\alpha}$

267 A secreção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pelo útero determina o final da fase luteal em várias espécies  
268 domésticas (McCracken et al, 1999; Weems et al, 2006; Skarzynski et al, 2008). Em bovinos, a  
269 secreção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ocorre em vários pulsos (4-7 pulsos) de curta duração (3-6 horas) durante 2 a  
270 3 dias, ocorrendo previamente, durante e após o declínio da  $\text{P}_4$  circulante (Kindhal et al, 1981;  
271 Ginther, 2007; 2010b). Pulsos sequenciais de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  são requeridos para induzir a luteólise  
272 completa em bovinos (Ginther et al, 2009a), equinos (Ginther et al, 2009b) e ovinos (Schramm et  
273 al, 1983). A necessidade do estímulo sequencial da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  para promover a luteólise foi  
274 demonstrada em bovinos (Ginther et al, 2009a) através da ocorrência de luteólise completa ( $\text{P}_4 <$

275 1ng/mL) após três sessões de infusão de PGF2 $\alpha$  (0,5 mg via IU a cada 12 horas), sendo que as  
276 concentrações de P4 resurgem quando realizado apenas uma sessão.

277 Devido aos vários efeitos adversos e respostas não fisiológicas após a administração de  
278 doses farmacológicas de PGF2 $\alpha$  para induzir a luteólise (Ginther et al, 2009a; 2009b), o estudo  
279 das características da luteólise espontânea em bovinos deve ser realizado utilizando-se doses  
280 fisiológicas de PGF2 $\alpha$  e seus análogos, e em tempo e intervalos que se assemelham aos pulsos  
281 espontâneos. Um exemplo desses efeitos é a administração de uma única dose luteolítica de  
282 PGF2 $\alpha$  que promove um início mais rápido com redução da duração normal da luteólise  
283 funcional em ovinos (McCracken et al, 1984) e bovinos (Ginther et al, 2009a).

284 A pulsatilidade da secreção de PGF2 $\alpha$  durante os períodos pré-luteolítico, luteolítico e pós-  
285 luteolítico pode ser mensurável pelo aumento na concentração de PGFM (Ginther, 2007).  
286 Durante o período luteolítico, os pulsos espontâneos de PGFM são mais proeminentes (pico e  
287 amplitude dos pulsos são maiores) do que os pulsos durante os períodos pré e pós-luteolítico  
288 (Ginther et al, 2010a; 2010b). Durante a parte ascendente do último pulso de PGFM no período  
289 pré-luteolítico, a concentração de P4 decresce para o mais baixo nível no pico do pulso de  
290 PGFM, seguido por um aumento de P4 (efeito rebote) para as concentrações prévias ao pulso  
291 (Ginther et al, 2010c; 2011c). O efeito rebote completo durante um pulso de PGFM no período  
292 pré-luteolítico é semelhante ao rebote com P4 que ocorre durante um pulso de PGFM induzido  
293 pelo E2 (Ginther et al, 2010d; Imam et al, 2010), e também é similar ao rebote completo que  
294 ocorre uma ou duas horas após o início da infusão de PGF2 $\alpha$  para simular o pulso de PGFM  
295 (Shrestha et al, 2010a; 2010b; 2011). Durante o início do período luteolítico, a P4 também  
296 decresce durante a parte ascendente do pulso de PGFM, entretanto, a concentração de P4 durante  
297 o rebote não retorna para as concentrações prévias (Ginther et al, 2010a; 2010c). No período

298 luteolítico avançado o efeito rebote não é mais observado. O pico do último pulso de PGFM  
299 durante a pré-luteólise ocorre em média 4 horas (variação de 2 a 8 horas) antes da hora de  
300 transição entre pré-luteólise e luteólise e o primeiro pulso durante a luteólise ocorre 9 horas após  
301 a transição (Ginther et al, 2011c). Desta maneira, estes estudos indicam que o último pulso de  
302  $PGF2\alpha$  durante a pré-luteólise reduz temporariamente a secreção de P4 e inicia o subsequente  
303 início da luteólise.

304 O sinal luteolítico promovido pela secreção inicial de  $PGF2\alpha$  promove uma cascata  
305 luteolítica envolvendo uma série de reguladores da função luteal, como o fluxo sanguíneo local,  
306 citocinas e fatores de crescimento. O efeito inicial da  $PGF2\alpha$  na esteroidogênese luteal é mediado  
307 pelo receptor de membrana ligado a proteína G (Davis; Rueda, 2002). A ativação desse receptor  
308 pela  $PGF2\alpha$  promove a produção de inusitol trifosfato (IP3) e diaciglicerol (DAG) a partir do  
309 fosfatidilinositol-4,5-difosfato mediado pela ação da fosfolipase C (Davis et al, 1987). O  
310 aumento do IP3 e do DAG é seguido pelo aumento do cálcio intracelular livre e atividade da  
311 proteína quinase C (Davis et al, 1987). Adicionalmente à ativação da fosfolipase C, há  
312 evidências de que a  $PGF2\alpha$  ativa a via da fosfolipase D, produzindo ácido fosfatídico em adição  
313 ao DAG, e ativa a cascata sinalizadora da MAP quinase (Tai et al, 2001; Chen et al, 2001).

314 O decréscimo rápido do fluxo sanguíneo luteal tem sido proposto como uma das principais  
315 ações da  $PGF2\alpha$ . Mudanças rápidas nos fatores angiogênicos diretamente envolvidos com o  
316 início da regressão vascular e modulação da secreção de P4 são causadas pela  $PGF2\alpha$  (Miyamoto  
317 et al, 2009). Inicialmente, o fluxo sanguíneo luteal na área periférica do CL aparentemente é  
318 aumentado rapidamente como resultado da vasodilatação causada pelo óxido nítrico (Acosta et  
319 al, 2002; Miyamoto et al, 2009). Isto sugere que o aumento do fluxo sanguíneo luteal causado  
320 pela  $PGF2\alpha$  é um dos primeiros sinais do início da cascata luteolítica na vaca. Na fase inicial da

321 luteólise, a PGF2 $\alpha$  suprime drasticamente a expressão de VEGF no CL. Outras substâncias  
322 vasoativas, como a EDN1, Ang II e a PGF2 $\alpha$  de origem luteal aumentam no CL, aonde uma  
323 severa vasoconstrição é induzida para interromper o suporte sanguíneo e acelerar a cascata  
324 luteolítica (revisado em (Miyamoto et al, 2009)).

325 O mecanismo pelo qual a PGF2 $\alpha$  reduz os níveis de P4 secretado pelo CL ainda precisa ser  
326 mais bem elucidado em bovinos. Em ratos, tem sido demonstrado (Strauss; Stambaugh, 1974;  
327 Kawano et al, 1988) que a PGF2 $\alpha$  não inibe a síntese de P4, mas ao invés, causa o seu  
328 metabolismo para 20 $\alpha$ -di-hidro-progesterona. A administração de PGF2 $\alpha$  exógena em bovinos  
329 causa a redução de RNAm para fatores relacionados a síntese esteroidogênica (StAR, 3 $\beta$ -  
330 hidroxisteróide dehidrogenase - 3 $\beta$ -HSD) e fatores angiogênicos (VEGF, Ang1, IGF-I e IGF-II) e  
331 aumenta o RNAm para fatores relacionados a síntese de PGs (COX-2 e enzima prostaglandina  
332 sintase (Shirasuna, 2010)). O efeito positivo da PGF2 $\alpha$  sobre a ação de algumas caspases e em  
333 citocinas correlacionadas com a desfragmentação de DNA celular tem sido associado aos  
334 mecanismos que controlam a sinalização apoptótica durante a luteólise estrutural (revisado em  
335 (Stocco et al, 2007)). Desta maneira, a ação da PGF2 $\alpha$  na luteólise é mediada por fatores locais  
336 que atuam na síntese de P4 e na regressão estrutural das células luteais (Skarkzynski et al, 2008).

### 337 **PAPEL DOS HORMÔNIOS ESTEROIDAIIS E DA OCITOCINA**

338 O E2, P4 e a ocitocina têm sido correlacionados como reguladores do início da secreção de  
339 PGF2 $\alpha$  durante a luteólise em fêmeas bovinas. Atualmente, vários modelos de mecanismos  
340 controladores da luteólise têm sugerido mudanças na expressão endometrial de receptores de E2,  
341 P4 e ocitocina influenciando na regulação da secreção de PGF2 $\alpha$  uterina e consequente luteólise  
342 na vaca (Silvia et al, 1991; Arosh et al, 2004; Weems et al, 2006). Nestes modelos, a expressão  
343 de receptores de E2 e de ocitocina é suprimida na fase inicial e intermediária de desenvolvimento

344 do CL devido ao efeito inibitório da alta concentração de P4 (Wathes; Hamon, 1993; Ivell et al,  
345 2000). O efeito da P4 sobre a sensibilidade uterina à ocitocina envolve uma ação não genômica  
346 da P4 no receptor uterino de ocitocina. A P4 se liga ao receptor de ocitocina com alta afinidade,  
347 inabilitando a molécula de ocitocina ter capacidade de se ligar e, conseqüentemente, suprimindo  
348 a indução da produção de IP3 e mobilização de cálcio necessários para a resposta celular (Zingg  
349 et al, 1998). A exposição do útero à P4 por no mínimo 10 dias após a ovulação é necessário para  
350 ativar os mecanismos de secreção espontânea de PGF2 $\alpha$  (McCracken et al, 1984; Silvia; Raw,  
351 1993). A prolongada exposição à P4 promove o acúmulo nas células endometriais de ácido  
352 araquidônico e COXs necessárias para síntese de PGF2 $\alpha$ .

353 Durante o final da fase luteal, os receptores de E2 no útero aumentam após o decréscimo  
354 dos receptores de P4 e decréscimo da sensibilidade uterina à P4 (Meyer et al, 1988).  
355 Sequencialmente, a ação do E2 circulante sobre os seus receptores endometriais estimula a  
356 síntese de receptores de ocitocina com subsequente secreção de PGF2 $\alpha$  através da ação da  
357 ocitocina em seus receptores endometriais (Flint; Sheldrick, 1985; Silvia et al, 1991; Mann et al,  
358 2001). A fonte de E2 durante a luteólise é oriundo dos folículos ovarianos, especialmente os de  
359 maior diâmetro e/ou futuros folículos dominantes que irão se desenvolver para folículos  
360 ovulatórios (Beg; Ginther, 2006). Na vaca, o aumento inicial de receptores de ocitocina que  
361 precede a luteólise ocorre após o 13º dia pós-ovulação (Mann; Lammimg, 1994).

362 O aumento da proeminência (pico e amplitude) dos pulsos de PGF2 $\alpha$  após a transição entre  
363 a preluteólise e luteólise (Ginther et al, 2010a; 2010b) é temporariamente associado com o  
364 aumento na concentração de E2 circulante (Ginther et al, 2010c; 2011c). A secreção de PGF2 $\alpha$ ,  
365 representada pelas concentrações de PGFM, é induzida dentro de 6 a 8 horas após o tratamento  
366 com E2 exógeno em novilhas (Thatcher et al, 1986; Araujo et al, 2009). Um único tratamento



367 com 0.1 mg de E2 no dia 14 pós-ovulação (Ginther et al, 2010d; Iman et al, 2010) estimula um  
368 pulso proeminente de PGFM e a luteólise prematura.

369 Em ruminantes, pulsos de ocitocina (ou da sua neurofisiina associada) ocorrem  
370 concomitantes com pulsos de PGF2 $\alpha$  durante a luteólise (Fairclough et al, 1980; Webb et al,  
371 1981). A maioria destes pulsos de ocitocina aparentemente é secretada pelo CL (Walters et al,  
372 1984; Hooper et al, 1986; Moore et al, 1986). A PGF2 $\alpha$  secretada pelo útero e a ocitocina luteal  
373 compõem um sistema de retroalimentação positiva. Em bovinos, a administração de PGF2 $\alpha$   
374 estimula a secreção de ocitocina no CL (Flint; Sheldrick, 1982; Lamsa et al, 1989), assim como  
375 altas doses de ocitocina promovem o aumento da secreção de PGF2 $\alpha$  (Silvia; Taylor, 1989;  
376 Kotwica et al, 1998). Entretanto, os fatores que iniciam e terminam a secreção destes hormônios  
377 ainda não foram determinados.

378 Durante os pulsos espontâneos de PGF2 $\alpha$ , a concentração de PGF2 $\alpha$  no efluente venoso  
379 útero-ovariano aumenta antes de qualquer detecção do aumento das concentrações de ocitocina  
380 (Moore et al, 1986). Isto implica que apesar de não se saber o que promove o início da secreção  
381 de PGF2 $\alpha$ , a ativação do sistema de retroalimentação positiva inicia-se no lado uterino. Duas  
382 possibilidades têm sido estudadas como causa do estímulo da secreção inicial de PGF2 $\alpha$ . A  
383 primeira considera que o útero possui um centro rítmico endógeno que promove a secreção de  
384 PGF2 $\alpha$  a cada 6-8 horas de intervalo. A outra possibilidade é que o útero recebe um sinal pulsátil  
385 externo oriundo de outro tecido. O principal candidato em prover essa sinalização é a ocitocina  
386 secretada pela hipófise posterior (Silvia et al, 1991). Apesar da sincronização dos pulsos de  
387 PGF2 $\alpha$  e ocitocina, a precisa relação temporal da ocitocina secretada pela hipófise posterior e da  
388 PGF2 $\alpha$  uterina ainda não foi caracterizada.

389 Com base nestes aspectos relacionados acima, foi proposto por McCracken et al (1995) um  
390 modelo hipotético que explica como ocorreria o controle neuroendócrino da secreção pulsátil de  
391  $PGF2\alpha$  durante a luteólise. Modelo: 1) No período luteal tardio, a perda da ação da P4 ocorre  
392 devido à redução da expressão de receptores de P4 tanto no hipotálamo quanto no endométrio, o  
393 que resulta no retorno da ação do E2 sobre estes tecidos; 2) O retorno da ação estrogênica irá  
394 estimular o centro hipotalâmico gerador dos pulsos de ocitocina a secretá-la em pulsos de alta  
395 frequência e baixa concentração e, simultaneamente, estimular a expressão de receptores de  
396 ocitocina no útero; 3) Baixos níveis de  $PGF2\alpha$  (subluteolítico) serão secretados pelo útero devido  
397 a interação da ocitocina de origem hipofisária com os seus receptores endometriais; 4) Baixas  
398 concentrações de  $PGF2\alpha$  são suficientes para iniciar a liberação de ocitocina luteal através da  
399 ação sobre os receptores de alta sensibilidade; 5) A secreção de ocitocina suplementar irá  
400 amplificar a secreção de  $PGF2\alpha$  endometrial; 6) A secreção de  $PGF2\alpha$  pelo endométrio será,  
401 neste momento, alta o suficiente para ativar os receptores de  $PGF2\alpha$  de baixa sensibilidade e irá  
402 inibir a secreção de P4 e liberar mais ocitocina do CL. Tais hipóteses ainda precisam ser  
403 melhores estudadas em fêmeas bovinas.

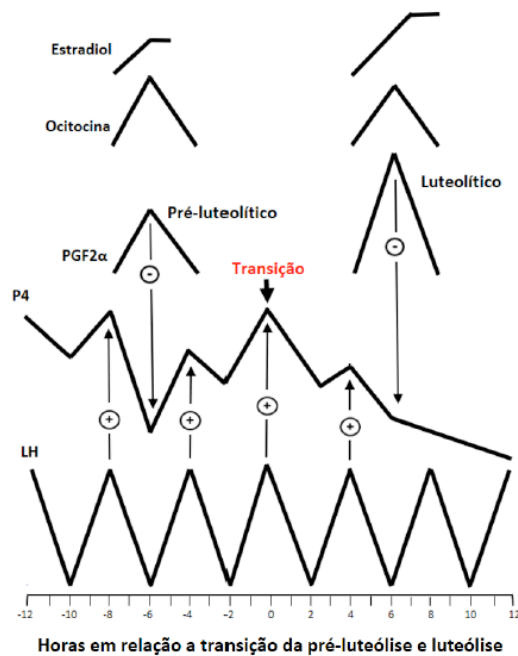
#### 404 **AÇÃO DO HORMÔNIO LUTEINIZANTE**

405 O efeito negativo da secreção de  $PGF2\alpha$  sobre a concentração de P4 é balanceado contra  
406 um efeito positivo das oscilações de LH durante o período final da preluteólise e período inicial  
407 da luteólise (Ginther et al, 2010c; 2011c). O balanço periódico entre o efeito luteolítico da  
408  $PGF2\alpha$  e o luteotrófico do LH é compatível com os seguintes achados em novilhas: 1) o LH  
409 exógeno prolonga a vida luteal (Donaldson; Hansel, 1965); 2) o LH é essencial para secreção de  
410 P4 pelo CL (Quintal-Franco et al, 1999); 3) aumento das concentrações de LH durante o rebote  
411 de P4 em pulsos de PGFM induzidos pelo E2 (Imam et al, 2010); e 4) o LH aumenta após a

412 infusão de  $\text{PGF2}\alpha$  (Shrestha et al, 2010b; 2011). Durante a fase intermediária do  
413 desenvolvimento luteal, um pulso de LH com pico de baixa frequência e alta amplitude ocorre a  
414 cada 4 horas (Cupp et al, 1995), e é associado com um aumento na P4 (Procknor et al, 1986). A  
415 ritmicidade entre as oscilações de P4 e LH durante a preludeólise é perdida e a proeminência das  
416 flutuações de P4 são reduzidas quando as oscilações de LH são bloqueadas por um antagonista  
417 de GnRH (Ginther et al, 2011b).

418 O estímulo do LH na secreção de P4 não se torna eficiente no transcórre da transição entre  
419 preludeólise e luteólise. Isto é indicado pela redução na ocorrência do pico de LH no mesmo  
420 momento que o pico da flutuação de P4 ocorre na luteólise (29%) comparado com a preludeólise  
421 (77%) e pela não observação do efeito rebote completo nas concentrações de P4 após o pico de  
422 PGFM e associado temporalmente ao aumento de LH no período luteolítico (Ginther et al,  
423 2010e). A redução na sincronia entre os picos dos pulsos de LH e das flutuações de P4 durante a  
424 luteólise pode refletir a menor responsividade ao LH das células luteais em regressão.

425 A interação do LH em relação às concentrações do E2, ocitocina e  $\text{PGF2}\alpha$  e seu efeito na  
426 secreção de P4 estão ilustrados na Figura 1.



427

428 Figura 1. Modelo esquemático das interações das concentrações de estradiol e dos pulsos de  
 429 ocitocina, PGF2 $\alpha$  e LH com a secreção de P4 durante o período pré-luteolítico e luteolítico em  
 430 bovinos (Adaptado de Ginther et al. 2011b).

431

432

### FUNÇÃO DA PROLACTINA

433

434

435

436

437

438

Além dos hormônios supracitados, outros hormônios como a prolactina (PRL) podem exercer funções específicas no mecanismo luteolítico. Em ratos, após o fim da secreção de P4, a PRL induz a apoptose das células luteais para se completar a regressão estrutural (Rothchild, 1981). Ao contrário, tem sido reportado que a infusão *in vitro* de PRL em ovários bovinos aumenta a secreção de P4 (Bartosik et al, 1967), já em roedores e carnívoros, a PRL é sugerida como o mais importante constituinte no complexo luteotrófico (Murphy et al, 1985).

439

440

Locais de ligação para PRL foram reportados (Poindexter et al, 1979) no CL bovino, sugerindo que a PRL possui uma função durante a fase luteal do ciclo estral. A expressão de

441 PRL e de RNAm para seus receptores varia durante a fase luteal (Shibaya et al, 2006) e pode  
442 estar relacionada com a regulação da secreção de P4 (Thompson et al, 2011). Adicionalmente,  
443 segundo indicado por resultados *in vitro* (Erdman et al, 2007), a PRL pode atuar como um fator  
444 vasoativo, mediando o desenvolvimento e regressão luteal.

445 A ocorrência de pulsos proeminentes de PRL foi reportada durante e após a luteólise  
446 funcional em novilhas (Ginther; Beg, 2011) e éguas (Ginther et al, 2011d). Em bovinos, esta  
447 secreção pulsátil de PRL é mais proeminente e rítmica durante as 12 horas antes do fim da  
448 luteólise e durante as primeiras 12 horas da pós-luteólise (Ginther and Beg, 2011). A duração de  
449 um pulso de PRL é por volta de 4 horas (Ginther; Beg, 2011). Os pulsos de PRL após o início da  
450 luteólise são temporariamente associados com o aumento das concentrações de PGFM em  
451 novilhas (Ginther; Beg, 2011) e éguas (Ginther et al, 2011d). Centralizado ao pico de PGFM, a  
452 concentração de PRL é maior no pico e após uma hora deste, indicando aparentemente um efeito  
453 positivo da  $PGF2\alpha$  na secreção de PRL em bovinos (Ginther; Beg, 2011). Entretanto, ainda não é  
454 conhecido se um hormônio estimula o outro ou se outros fatores estão envolvidos nesta relação  
455 temporal.

## 456 **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

457 A regressão espontânea do corpo lúteo em bovinos envolve uma complexa inter-relação  
458 hormonal e sinalização em tecidos neuroendócrinos para que ocorra uma cascata luteolítica  
459 coordenada, resultando na perda da função luteal em secretar progesterona e na redução  
460 morfológica deste tecido. Tal controle envolve a fundamental participação do útero, hipófise e  
461 ovário na secreção de hormônios esteroides (estradiol), peptídeos (ocitocina e prolactina) e  
462 eicosanoides (prostaglandina  $F2\alpha$ ). Desta forma, verifica-se pelos diversos estudos supracitados que o  
463 evento de luteólise funcional nos bovinos compreende um período ao redor de 24 horas e que a luteólise  
464 estrutural pode ser verificada subsequentemente ao início da redução da progesterona circulante através

465 de avaliações ultrassonográficas. A compreensão de tal controle neuroendócrino na manutenção ou perda  
466 da funcionalidade luteal é fundamental para se aprofundar o conhecimento deste evento que controla o  
467 ciclo estral bovino, e para se aplicar diversas biotécnicas reprodutivas objetivando melhoria na eficiência  
468 reprodutiva de rebanhos para produção de leite ou carne.

#### 469 **AGRADECIMENTOS**

470 Agradecemos o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo  
471 (FAPESP) pela concessão de bolsa e auxílio ao primeiro autor (Processos: 2015/10606-9,  
472 2016/23964-3).

#### 473 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

474 ACOSTA, T. J.; YOSHIKAWA, N.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood  
475 flow within the early and midcycle corpus luteum after PGF $2\alpha$  injection in the cow.  
476 **Biology of Reproduction**, v.66, p.651–8, 2002.

477 ANDERSON, L.L.; BLAND, K. P.; MELAMPY, R. M. Comparative aspects of uterine-luteal  
478 relationships. **Recent Progress in Hormone Research**, v.25, p.57–104, 1969.

479 ARAUJO, R. R.; GINTHER, O. J.; FERREIRA, J. C.; PALHAO, M. M.; BEG, M. A.;  
480 WILTBANK, M. C. Role of follicular estradiol-17 $\beta$  in timing of luteolysis in heifers.  
481 **Biology of Reproduction**, v.81, p.426–37, 2009.

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

485 BARCIKOWSKI, B.; PICHOVA, D.; SKARDA, J.; JERLICKA, I. The oestrous cycle in cattle  
486 after transplantation of the ovary. **Proc. Symp. RIA in Anim. Physiol. Slovak Acad. Sci.**,  
487 Kosice; Czech Acad. Sci., Prague p.89–100, 1976.

488 BARTOSIK, D.; ROMANOFF, E. B.; WATSON, D. J.; SCRICCO, E. Luteotropic effects of  
489 prolactin in the bovine ovary. **Endocrinology**, v.81, p.186–94, 1967.

490 BEAVIS, E. L. G.; BROWN, J. B.; SMITH, M. A. Ovarian function after hysterectomy with  
491 conservation of the ovaries in premenopausal women. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**,  
492 v.76, p.969–78, 1969.

493 BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular  
494 factors. **Reproduction**, v.132, p.365–77, 2006.

495 BEHRMAN, H. R.; ENDO, T.; ATEN, R.; MUSICKI, B. Corpus luteum function and  
496 regression. **Reproductive Medicine Review**, v.2, p.153–60, 1993.

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

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

502 BIRKEDAL-HANSEN, H. Proteolytic remodeling of the extracellular matrix. **Current**  
503 **Opinion in Cell Biology**, v.7, p.728–35, 1995.

504 CHEN, D.; FONG, H. W.; DAVIS, J. S. Induction of c-fos and c-jun messenger ribonucleic acid  
505 expression by prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  is mediated by a protein kinase C-dependent extracellular signal  
506 regulated kinase mitogen-activated protein kinase pathway in bovine luteal cells.  
507 **Endocrinology**, v.142, p.887–95, 2001.

508 CUPP, A. S.; STUMPF, T. T.; KOJIMA, F. N.; WERTH, L. A.; WOLFE, M. W.; ROBERSON,  
509 R. J.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Secretion of gonadotropins change during the luteal phase

510 of the bovine estrous cycle without corresponding changes in progesterone or 17 $\beta$ -estradiol.  
511 **Animal Reproduction Science**, v.37, p.109–19, 1995.

512 DAVIS, A. J.; FLEET, I. R.; HANSFORD, P. A.; HARRISON, F. A.; WALKER, F. M. M.  
513 Pulmonary metabolism of prostaglandin F $2\alpha$  in the conscious non-pregnant cow. **Journal of**  
514 **Physiology**, v.358, p.107-118, 1985.

515 DAVIS, J. S.; WEAKLAND, L. L.; WEILAND, D. A.; FARESE, R. V.; WEST, L. A.  
516 Prostaglandin F(2 $\alpha$ ) stimulates phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate hydrolysis and mobilizes  
517 intracellular Ca $^{2+}$  in bovine luteal cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of**  
518 **the United States of America**, v.84, p.3728–32, 1987.

519 DAVIS, J. S.; RUEDA, B. R. The corpus luteum: an ovarian structure with maternal instincts  
520 and suicidal tendencies. **Frontiers in Bioscience**, v.7, p.1949–78, 2002.

521 DONALDSON, L. E.; HANSEL, W. Prolongation of life span of the bovine corpus luteum by  
522 single injections of bovine luteinizing hormone. **Journal of Dairy Science**, v.48, p.903–41965,  
523 1965.

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

526 FAIRCLOUGH, R. J.; MOORE, L. G.; MCGOWAN, L. T.; PETERSON, A. J.; SMITH, J. F.;  
527 TERVIT, H. R.; WATKINS, W. B. Temporal relationship between plasma concentrations of  
528 13,14-dihydro-15- keto-prostaglandin F and neurophysin I/II around luteolysis in sheep.  
529 **Prostaglandins**, v.20, p.199–208, 1980.

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



532 GINTHER, O. J; WOODY, C. O.; JANAKIRAMAN, K.; CASIDA, L. E. Effect of intrauterine  
533 plastic coil on the oestrous cycle of the heifer. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.12,  
534 p.193–8, 1966.

535 GINTHER, O. J. Local versus systemic uteroovarian relationships in farm animals. **Acta**  
536 **Veterinaria Scandinavica**, v.77, p.103–15, 1981.

537 GINTHER, O. J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Book 4**, Color-Doppler  
538 Ultrasonography. Cross Palms, WI. Equiservices Publishing; 2007.

539 GINTHER, O. J; SILVA, L. A.; ARAUJO, R. R.; BEG, M. A. Temporal associations among  
540 pulses of 13,14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2</sub>α, luteal blood flow, and luteolysis in cattle. **Biology**  
541 **of Reproduction**, v.76, p.506–13, 2007.

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

545 GINTHER, O. J; SIDDIQUI, M. A.; BEG, M. A. Physiologic and nonphysiologic effects of  
546 exogenous prostaglandin F<sub>2</sub>α on reproductive hormones in mares. **Theriogenology**, v.72, p.417–  
547 24, 2009b.

548 GINTHER, O. J; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; SHAHIDUZZAMAN, A. K.;  
549 HANNAN, M. A.; BEG, M. A. Intrapulse temporality between pulses of a metabolite of  
550 prostaglandin F<sub>2</sub>α and circulating concentrations of progesterone before, during, and after  
551 spontaneous luteolysis in heifers. **Theriogenology**, v.74, p.1179–86, 2010a.

552 GINTHER, O. J; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; SHAHIDUZZAMAN, A. K.;  
553 BEG, M. A. Characteristics of pulses of 13,14-dihydro-15-ketoprostaglandin F<sub>2</sub>α before, during,

554 and after spontaneous luteolysis and temporal intrapulse relationships with progesterone  
555 concentrations in cattle. **Biology of Reproduction**, v.82, p.1049–56, 2010b.

556 GINTHER, O. J; SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A. Circulating concentrations within a pulse of a  
557 metabolite of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  during preluteolysis and early luteolysis in heifers. **Animal**  
558 **Reproduction Science**, v.122, p.253–8, 2010c.

559 GINTHER, O. J; SHRESTHA, H. K.; FUENZALIDA, M. J.; BEG, M. A. Stimulation of pulses  
560 of 13,14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2</sub> $\alpha$  (PGFM) with estradiol-17 $\beta$  and changes in circulating  
561 progesterone concentrations within a PGFM pulse in heifers. **Theriogenology**, v.74, p.384–92,  
562 2010d.

563 GINTHER, O. J; FUENZALIDA, M. J.; SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A. Concomitance of  
564 luteinizing hormone and progesterone oscillations during the transition from preluteolysis to  
565 luteolysis in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.75, p.164–71, 2010e.

566 GINTHER, O. J; RODRIGUEZ, M. B.; BEG, M. A. Concentrations of circulating hormones  
567 during the interval between pulses of a PGF<sub>2</sub> $\alpha$  metabolite in mares and heifers. **Animal**  
568 **Reproduction Science**, v.128, p.22–28, 2011b.

569 GINTHER, O. J; HANNAN, M. A.; BEG, M. A. Luteolysis and associated interrelationships  
570 among circulating PGF<sub>2</sub>, progesterone, LH, and estradiol in mares. **Domestic Animal**  
571 **Endocrinology**, v.41, p.174–184, 2011a.

572 GINTHER, O. J; FUENZALIDA, M. J.; SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A. The transition  
573 between preluteolysis and luteolysis in cattle. **Theriogenology**, v.75, p.164–71, 2011b.

574 GINTHER, O. J; PINAFFI, F. L. V.; SILVA, L. A.; BEG, M. A. Temporal relationship of a  
575 pulse of prolactin (PRL) to a pulse of metabolite of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  in mares. **Theriogenology**, v.77,  
576 p.99–107, 2011d.

577 GINTHER, O. J; BEG, M. A. Pulses of prolactin before, during, and after luteolysis and  
578 synchrony with pulses of metabolite of prostaglandin F2 $\alpha$  in heifers. **Animal Reproduction**  
579 **Science**, v.128, p.29–36, 2011.

580 HIXON, J. E.; HANSEL, W. Evidence for preferential transfer of prostaglandin F2 $\alpha$  to the  
581 ovarian artery following intrauterine administration in cattle. **Biology of Reproduction**, v.11,  
582 p.543–52, 1974.

583 HOOPER, S. B.; WATKINS, W. B.; THORBURN, G. D. Oxytocin, oxytocin-associated  
584 neurophysin, and prostaglandin F2 $\alpha$  concentrations in the utero-ovarian vein of pregnant and  
585 nonpregnant sheep. **Endocrinology**, v.119, p.2590–7, 1986.

586 IMAM, S.; SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Intrapulse changes in  
587 progesterone and LH concentrations and luteal blood flow during an estradiol-induced pulse of a  
588 metabolite of prostaglandin F2 $\alpha$  in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.121, p.34–8, 2010.

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

592 KAWANO, T.; OKAMURA, H.; TAJIMA, C.; FUKUMA, K.; KATABUCHI, H. Effect of RU  
593 486 on luteal function in the early pregnant rat. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83,  
594 p.279–85, 1988.

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

597 KOTWICA, J.; SKARZYNSKI, D.; JAROSZEWSKI, J.; WILLIAMS, G.L.; BOGACHI, M.  
598 Uterine secretion of PGF2 $\alpha$ , stimulated by different doses of oxytocin and released

599 spontaneously during luteolysis in cattle. **Reproduction Nutrition Development**, v.38, p.217–  
600 226, 1998.

601 LAMSA, J. C.; KOT, S. J.; ELDERING, J. A.; NAY, M. G.; MCCRACKEN, J. A.  
602 Prostaglandin F<sub>2</sub>α-stimulated release of ovarian oxytocin in the sheep in vivo: threshold and  
603 dose dependency. **Biology of Reproduction**, v.40, p.1215–23, 1989.

604 LAUDERDALE, J. W.; FOKOLOWSKY, J. H. Efficacy of Lutalyse sterile solution. In:  
605 Proceedings from the Lutalyse Symposium; August 6–8; Augusta, Michigan p.26–7, 1979.

606 LEFRANCE, M.; GOFF, A. K. Effects of progesterone and estradiol 17-β on oxytocin-induced  
607 release of prostaglandin F<sub>2</sub>α. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.82, p.429–36, 1988.

608 LEI, Z. M.; CHEGINI, N.; RAO, C.V. Quantitative cell composition of human and bovine  
609 corpora lutea from various reproductive states. **Biology of Reproduction**, v.44, p.1148–1156,  
610 1991.

611 LOEB, L. Effects of hysterectomy on system of sex organs and on periodicity of sexual cycle in  
612 guinea pigs. **American Journal of Physiology**, v.83, p.202–24, 1927.

613 LOEB, L. The effect of extirpation of the uterus on the life and function of the corpus luteum in  
614 the guinea pig. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.20,  
615 p.441–3, 1923.

616 LOUIS, T. M.; HAFS, H. D.; MORROW, D. A. Intrauterine administration of prostaglandin F<sub>2</sub>α  
617 in cows: progesterone, estrogen, LH, estrus and ovulation. **Journal of Animal Science**, v.38,  
618 p.347–53, 1974.

619 MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Use of repeated biopsies to monitor endometrial oxytocin  
620 receptors in the cow. **Veterinary Record**, v.135, p.403–5, 1994.

621 MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Timing of prostaglandin PGF<sub>2</sub> $\alpha$  release episodes and oxytocin  
622 receptor development during luteolysis in the cow. **Animal Reproduction Science**, v.93, p.328–  
623 36, 2006.

624 MANN, G. E.; PAYNE, J. H.; LAMMING, G. E. Hormonal regulation of oxytocin-induced  
625 prostaglandin PGF<sub>2</sub> $\alpha$  secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. **Domestic Animal**  
626 **Endocrinology**, v.2, p.127–41, 2001.

627 MCCRACKEN, J. A.; SCHRAMM, W.; OKULICZ, W. C. Hormone receptor control of  
628 pulsatile secretion of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early  
629 pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v.7, p.31–55, 1984.

630 MCCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C.; ROBINSON, A. G. The central oxytocin  
631 pulse generator: a pacemaker for luteolysis. **Advances in Experimental Medicine and Biology**,  
632 v.395, p.133–154, 1995.

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

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

638 MILVAE, R. A. Inter-relationships between endothelin and prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in corpus  
639 Luteum function. **Rev. Reproduction**, v.5, p.1–5, 2000.

640 MIYAMOTO, A.; VON LUTZOW, H.; SCHAMS, D. Acute actions of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ , E<sub>2</sub>,  
641 and I<sub>2</sub> in microdialyzed bovine corpus luteum in vitro. **Biological Reproduction**, v.49, p.423–  
642 430, 1993.

643 MIYAMOTO, A.; SHIRASUNA, K.; SASAHARA, K. Local regulation of corpus luteum  
644 development and regression in the cow: Impact of angiogenic and vasoactive factors.  
645 **Domestical Animal Endocrinology**, v.37, p.159–169, 2009.

646 MOORE, L. G.; CHOY, V. J.; ELLIOT, R.L.; WATKINS, W. B. Evidence for the pulsatile  
647 release of PGF $2\alpha$  inducing the release of ovarian oxytocin during luteolysis in the ewe. **Journal**  
648 **of Reproduction and Fertility**, v.76, p.159–66,1986.

649 MURPHY, B. D.; RAJKUMAR. K. Prolactin as a luteotrophin. **Canadian Journal of**  
650 **Physiology and Pharmacology**, v.63, p.257–64, 1985.

651 NEILL JD, JOHANSSON ED, KNOBIL E. Failure of hysterectomy to influence the normal  
652 pattern of cyclic progesterone secretion in the rhesus monkey. **Endocrinology**, v.84, p.464–5,  
653 1969.

654 NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; ROLLYSON, M. K.; MCINTUSH, E. W.  
655 Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological reviews**,  
656 v.80, p.1–29, 2000.

657 NISWENDER, G. D.; REIMERS, T. J.; DIEKMAN, M.A.; NETT, T. M. Blood flow: a mediator  
658 of ovarian function. **Biology of Reproduction**, v.14, p.64–81, 1976.

659 O'SHEA, J. D.; RODGERS, R.J.; D'OCCHIO, M. J. Cellular composition of the cyclic corpus  
660 luteum of the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.85, p.483–7, 1989.

661 POINDEXTER, A. N.; BUTTRAM JR, V. C.; BESCH, P. K.; SMITH, R. G. Prolactin receptors  
662 in the ovary. **Fertility and Sterility**, v.31:273–7, 1979.

663 PROCKNOR, M.; DACHIR, S.; OWENS, R. E.; LITTLE, D. E.; HARMS, P. G. Temporal  
664 relationship of the pulsatile fluctuation of luteinizing hormone and progesterone in cattle: a time  
665 series cross-correlation analysis. **Journal of Animal Science**, v.62, p.191–8, 1986.

666 QUINTAL-FRANCO, J. A.; KOJIMA, F. N.; MELVIN, E. J.; LINDSEY, B. R.; ZANELLA, E.;  
667 FIKE, K. E.; WEHRMAN, M. E.; CLOPTON, D. T.; KINDER, J. E. Corpus luteum  
668 development and function in cattle with episodic release of luteinizing hormone pulses inhibited  
669 in the follicular and early luteal phases of the estrous cycle. **Biology of Reproduction**, v.61,  
670 p.921–6, 1999.

671 ROTHCHILD, I. The regulation of the mammalian corpus luteum. **Recent Progress in**  
672 **Hormone Research**, v.37; p.183–298, 1981.

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

675 SCHRAMM, W.; BOVAIRD, L.; GLEW, M. E.; SCHRAMM, G.; MCCRACKEN, J. A. Corpus  
676 luteum regression induced by ultra-low pulses of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ . **Prostaglandins**, v.26,  
677 p.347–64, 1983.

678 SHIBAYA, M.; MURAKAMI, S.; TATSUKAWA, Y.; SKARZYNSKI, D. J.; ACOSTA, J. T.;  
679 OKUDA, K. Bovine corpus luteum in an extrapituitary site of prolactin production. **Molecular**  
680 **Reproduction and Development**, v.73, p.512–9, 2006.

681 SHIRASUNA, K.; SHIMIZU, T.; HAYASHI, K-G.; NAGAI, K.; MATSUI, M.; MIYAMOTO,  
682 A. Positive association, in local release, of luteal oxytocin with endothelin 1 and prostaglandin  
683 f<sub>2</sub> $\alpha$  during spontaneous luteolysis in the cow: a possible intermediary role for luteolytic  
684 cascade within the corpus luteum. **Biology of Reproduction**, v.76, p.965–70, 2007.

685 SHIRASUNA, K. Nitric oxide and luteal blood flow in the luteolytic cascade in the cow.  
686 **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p.9–14, 2010.

687 SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A.; SIDDIQU, M. A.; GINTHER, O. J. Dynamic progesterone  
688 responses to simulation of a natural pulse of a metabolite of prostaglandin F2 $\alpha$  in heifers.  
689 **Animal Reproduction Science**, v.118, p.118–23, 2010a.

690 SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A.; IMAM, S.; GINTHER, O. J. Luteal blood flow and  
691 concentrations of circulating progesterone and other hormones associated with a simulated pulse  
692 of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 $\alpha$  in heifers. **Reproduction**, v.139, p.673–83, 2010b.

693 SHRESTHA, H. K.; PUGLIESI, G.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Role of LH in changes in  
694 concentrations of progesterone and luteal blood flow during the hours of a simulated pulse of  
695 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 $\alpha$  (PGFM) in heifers. **Biology of Reproduction**, v.85,  
696 p.482–9, 2011.

697 SILVIA, W. J.; LEWIS, G. S.; MCCRACKEN, J. A.; THATCHER, W. W.; WILSON, L.  
698 Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2 $\alpha$  during luteolysis in ruminants.  
699 **Biology of Reproduction**, v.45, p.655–63, 1991.

700 Silvia WJ, Raw RE. Regulation of pulsatile secretion of prostaglandin F2 $\alpha$  from the ovine uterus  
701 by ovarian steroids. *J Reprod Fert* 1993;98:341–7.

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

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

708 SMITH, G. W.; JUENGEL, J. L.; MCINTUSH, E. W.; YOUNGQUIST, R. S.; GARVERICK,  
709 H. A.; SMITH, M. F. Ontogenies of messenger RNA encoding tissue inhibitor of



710 metalloproteinases 1 and 2 within bovine periovulatory follicles and luteal tissue. **Domestic**  
711 **Animal Endocrinology**, v.13, p.151–60, 1996.

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

714 STRAUSS, J. F.; STAMBAUGH, R. L. Induction of 20  $\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase in rat  
715 corpora lutea of pregnancy by prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$ . **Prostaglandins**, v.5, p.73–85, 1974.

716 TAI, C. J.; KANG, S. K.; CHOI, K. C.; TZENG, C. R.; LEUNG, P. C. Role of mitogen-activated  
717 protein kinase in prostaglandin F(2 $\alpha$ ) action in human granulosa-luteal cells. **Journal of Clinical**  
718 **Endocrinology Metabolism**, v.86, p.375–80, 2001.

719 THATCHER, W. W.; GUZELOGLU, A.; MATTOS, R.; BINELLI, M.; HANSEN, T. R.; PRU,  
720 J. K. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. **Theriogenology**, v. 56,  
721 p.1435–50, 2001.

722 THATCHER, W. W.; TERQUI, M.; THIMONIER, J.; MAULEON, P. Effect of estradiol-17  $\beta$   
723 on peripheral plasma concentration of 15-keto-13,14-dihydro PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and luteolysis in cyclic  
724 cattle. **Prostaglandins**, v.31, p.745–756, 1986.

725 THOMPSON, I. M.; OZAWA, M.; BUBOLZ, J. W.; YANG, Q.; DAHL, G. E. Bovine luteal  
726 prolactin receptor expression: Potential involvement in regulation of progesterone during the  
727 estrous cycle and pregnancy. **Journal of Animal Science**, v.89, p.1338–46, 2011.

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

731 WARD, K. E.; LONGWELL, L. C.; KREIDER, J. L.; GODKE, R. A. Effect of unilateral  
732 hysterectomy on cycling beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.43, p.309, 1976.

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

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

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

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

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