



Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos – Artigo de revisão

Hormones used as ovulation inducers in cattle – A review

Camila Amaral D'Avila¹, Fabiane Pereira de Moraes¹, Thomaz Lucia Jr.¹, Bernardo Garziera Gasperin¹

ReproPel¹, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil.

Resumo

Diversos hormônios podem ser utilizados em protocolos que visam otimizar biotécnicas reprodutivas como a inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que exigem controle preciso do ciclo estral e da ovulação. Alguns hormônios possuem ação central no eixo hipotalâmico-hipofisário, como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e os ésteres de estradiol como o benzoato (BE) e o cipionato de estradiol (CE), enquanto outros como a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o hormônio luteinizante (LH) apresentam ação local, a nível ovariano. Atualmente os protocolos mais utilizados para indução da ovulação utilizam GnRH e estrógenos. Recentemente, foi demonstrado que as prostaglandinas possuem efeitos positivos na indução do processo ovulatório, mas seu mecanismo de ação não está totalmente esclarecido. A presente revisão tem por objetivo abordar os principais indutores da ovulação utilizados em protocolos para controle do ciclo estral em bovinos, relatando o período de ocorrência das ovulações após a sua aplicação.

Palavras-chave: sincronização da ovulação, protocolos, biotécnicas reprodutivas

Abstract

Several hormones may be used in protocols aimed to optimize reproductive biotechniques such as artificial insemination (AI) and fixed-timed artificial insemination (FTAI) which require precise control of the estrous cycle and the ovulation. Some hormones act on the hypothalamic-pituitary axis, such as the gonadotrophin releasing hormone (GnRH) and estradiol esters such as estradiol benzoate (EB) and cypionate (EC), whereas others act directly on the ovaries, such as human chorionic gonadotrophin (hCG) and luteinizing hormone (LH). Currently, the most commonly used protocols for ovulation induction use GnRH or estrogen. Prostaglandins have recently been shown to have positive effects on induction of the ovulatory process, but their mechanism of action is not fully understood. The present review aims to address the main ovulation inducers used in protocols to control the estrous cycle in cattle, emphasizing the period between their administration and the occurrence of ovulation.

Keywords: ovulation synchronization, protocols, reproductive biotechniques

Introdução

O desempenho reprodutivo satisfatório de um rebanho depende de diversos fatores, como o controle eficiente do ciclo estral dos animais, com incremento na taxa de prenhez a partir de inseminação artificial (IA) ou inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O uso de protocolos hormonais para sincronizar ovulações permite a execução da IATF em um momento pré-determinado, excluindo a necessidade de detecção de estro (Bo et al., 2004). Os protocolos mais utilizados atualmente para induzir a ovulação baseiam-se no uso de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou de ésteres de estradiol, combinados com a administração de progesterona (P4) exógena por dispositivos intravaginais (DIV) de liberação lenta. Porém, a sua utilização depende da viabilidade econômica, aplicabilidade e legislação vigente em cada país.

Desse modo, a presente revisão tem por objetivo abordar os principais hormônios utilizados na indução da ovulação em protocolos reprodutivos em bovinos.

Protocolos de sincronização

As fêmeas destinadas a protocolos reprodutivos devem ser submetidas a exame ginecológico

¹Correspondência: tluciajr@gmail.com

Recebido: 21 de maio de 2019

Aceito: 25 de outubro de 2019

completo, considerando: escore de condição corporal (ECC), categoria animal (nulíparas ou múltiparas), histórico reprodutivo e avaliação sanitária. Além disso, é importante realizar exame ultrassonográfico para avaliar a condição ovariana e uterina.

Os protocolos visando a sincronização da ovulação geralmente iniciam com a aplicação de um DIV para liberação lenta de P4 exógena, para simular a fase lútea, e de uma fonte de estrógenos, para promover a regressão de folículos que estejam presentes nos ovários. Após a metabolização do estrógeno, há o início de uma nova onda folicular em aproximadamente quatro dias, quando é aplicado estradiol-17 β (Bo et al., 1995). Análogos de prostaglandina F2 α (PGF2 α) também podem ser aplicados, para promover a regressão de um corpo lúteo (CL), que eventualmente possa estar presente.

A ovulação do folículo dominante depende da remoção da fonte exógena de P4 (após cinco a nove dias de exposição), que é realizada juntamente com a aplicação de um indutor de ovulação. Os principais fármacos usados como indutores de ovulação em protocolos de IATF em vacas são: análogos (gonadorelina) ou superanálogos (buserelina, lecirelina, fertirelina) do GnRH e ésteres de estradiol, como o benzoato (BE) e o cipionato de estradiol (CE). Cada um destes fármacos possui um intervalo específico entre sua aplicação e a ovulação e, portanto, o momento da realização da IATF é ajustado para cada indutor. Por exemplo, quando é utilizado o BE, sua administração também poderá ser realizada 24 h após a remoção da P4, devido a sua maior biodisponibilidade e menor meia-vida (Baruselli et al., 2006). Também podem ser utilizados como indutores a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o hormônio luteinizante (LH). Recentemente, foi observado efeito positivo da PGF na ovulação em bovinos (Leonardi et al., 2012; Castro et al., 2018).

Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)

O GnRH é um decapeptídeo liberado de forma pulsátil pelo hipotálamo e cujo alvo são sítios específicos localizados na hipófise anterior, ocasionando a liberação do LH (Estes et al., 1977). Desse modo, sua ação é causar ovulação ou luteinização do folículo dominante presente no momento da aplicação (Macmillan e Thaxter, 1991). A sua atuação diretamente na hipófise resulta em ovulações em intervalos menores em relação aos ésteres de estradiol.

O *Ovsynch* é um dos protocolos pioneiros na utilização de GnRH para o controle do ciclo estral e ovulação e consiste na aplicação de GnRH no dia 0, PGF no dia 7 e 48 h após nova aplicação de GnRH. Com este protocolo, as ovulações ocorrem cerca de 24 a 32 h após a aplicação da segunda dose do GnRH em vacas e novilhas leiteiras (Pursley et al., 1995). Outros trabalhos demonstraram que as ovulações ocorrem entre 28 a 30 h após segunda aplicação de GnRH em vacas leiteiras (Liu et al., 2018).

Existem alterações do protocolo *Ovsynch*, como o *Co-Synch*, em que se realiza a IA no momento da segunda aplicação de GnRH, enquanto que no *Ovsynch* a IA é feita de 8-16 h após a segunda aplicação de GnRH (Gottschall et al., 2016). Outra alteração é o protocolo *Heatsynch*, em que a segunda aplicação de GnRH é substituída por CE, 24 h após aplicação de PGF. As ovulações ocorreram entre 48 a 72 h após aplicação de CE e as taxas de prenhez de vacas leiteiras sincronizadas com *Ovsynch* e *Heatsynch* não diferem (Pancarci et al., 2002). Outro estudo relatou que a substituição da segunda aplicação de GnRH por CE, 24 h após PGF, resultou em maior expressão de estro, porém com menos ovulações, sendo que estas ocorreram no intervalo entre 60 a 65 h após aplicação de CE e no *Ovsynch* de 19 a 32 h (Stevenson et al., 2004). A substituição da segunda aplicação de GnRH permite a indução de secreção mucosa, de tônus uterino e de comportamento sexual devido ao uso de estrógeno, além da redução do custo total do protocolo (Stevenson et al., 2004). O protocolo *Select-Synch*, outra variação do *Ovsynch*, adaptada para vacas de corte com cria ao pé, permite a IA somente em vacas que apresentarem estro após a segunda dose de GnRH.

Ésteres de estradiol

Os ésteres de estradiol são esteroides naturais com 18 átomos de C, que têm como principais compostos o 17 β -estradiol, a estrona e o estriol. Estes ésteres são amplamente usados para o controle do ciclo estral e, quando usados na ausência de P4, estimulam a liberação de GnRH e LH pelo hipotálamo e hipófise, respectivamente, induzindo a ovulação do folículo dominante (Moenter et al., 1990). Portanto, nestes protocolos a ovulação é mais tardia, em comparação com protocolos que empregam o GnRH. Entre os ésteres de estradiol, o BE possui meia-vida curta (aproximadamente 3 dias). O valerato de estradiol (VE), menos utilizado, possui meia vida intermediária (7-8 dias) e o CE possui meia vida longa (10-12 dias) (Willians e Stancel, 1996).

A aplicação de BE 24 h após a remoção do DIV de P4 resultou em ovulações 64 h após remoção

da P4 (Hanlon et al., 1997). Um trabalho comparando o uso de BE e CE, demonstrou que com o uso de BE a ovulação ocorreu após um intervalo mais curto após a remoção da P4 (Torres-Júnior et al., 2014). Com aplicação de BE 24 h após a remoção da fonte de P4, as ovulações ocorreram após 69 h (Pfeifer et al., 2014) e entre 66 a 78 h (Pfeifer et al., 2016). Com CE aplicado no momento da retirada da P4 exógena, ocorreu um pico de LH após 38 h, com ocorrência de ovulação após 66 h (Ambrose et al., 2001), ou após 55 h (Pancarci et al., 2002).

O uso do BE 24 h após a remoção da fonte de P4 é eficiente em induzir a ovulação, mas requer um manejo a mais. Por outro lado, a menor biodisponibilidade e a meia-vida mais longa do CE permitem sua administração simultânea à retirada da fonte de P4. Assim, é possível manter níveis plasmáticos suficientes para estimular o pico de LH após a queda dos níveis de P4 (Ayres et al., 2006) e simplificar a execução do protocolo, com a eliminação de um manejo. Com o uso de BE ou CE, não houve diferença nas taxas de prenhez em vacas leiteiras, (Franca et al., 2015) nem nas taxas de gestação, em vacas de corte *Bos taurus indicus* (Torres-Júnior et al., 2014).

Apesar de sua eficiência e da excelente relação custo-benefício, o uso de ésteres de estradiol como indutores de ovulação foi proibido pela legislação em alguns países, devido à preocupação com potenciais efeitos residuais nos alimentos de origem animal, que poderiam ser prejudiciais à saúde dos seus consumidores (Lane et al., 2008), o que justifica a busca por outros indutores de ovulação.

Gonadotrofina coriônica humana (hCG)

A hCG é um hormônio glicoproteico muito utilizado devido a sua atividade semelhante ao LH, porém com ação mais prolongada. O seu efeito luteotrófico é devido a ligação aos receptores de LH das células lúteas, o qual persiste por até 30 h após o tratamento (De Rensis et al., 2008). A aplicação da hCG ocasiona elevação da capacidade esteroidogênica do CL primário, devido à diferenciação das células da teca e granulosa em células lúteas grandes e pequenas e à transformação de células lúteas pequenas em células grandes (Farin et al., 1988).

Em bovinos, a hCG se liga aos receptores de LH nas células da granulosa e da teca dos folículos ovarianos, sendo utilizada para induzir a ovulação em protocolos de IATF (De Rensis et al., 2008). A ação luteinizante da hCG permite prolongar a vida útil do CL e aumentar as concentrações plasmáticas de P4 (De Rensis et al., 2008). Além de induzir a maturação de folículos e a ovulação, quando administrada durante o diestro, na presença de folículos pré-ovulatórios, a hCG pode induzir a formação de corpos lúteos acessórios, prolongando o ciclo estral (Diaz et al., 1998).

O uso da hCG em protocolos de IATF foi associado com incremento na fertilidade de vacas leiteiras comprometidas pelo estresse térmico (De Rensis et al., 2008). A substituição do GnRH por hCG no início do protocolo *Ovsynch*, não resultou em aumento nas taxas de ovulação e de concepção em vacas leiteiras (Keskin et al., 2010). Em outro estudo, com um protocolo de IATF baseado no uso de P4 por cinco dias comparando o uso de GnRH e hCG no final do protocolo, relatou que o uso de hCG nas concentrações de 1000 e 3000 UI resultou em melhor dinâmica folicular. Além disso, melhores resultados foram obtidos ao utilizar-se dose de 3000 UI (Garcia-Ispierto et al., 2018). A substituição do GnRH por hCG no início do protocolo *Cosynch*, no final do protocolo e no início e no final do protocolo em vacas de corte em lactação não foi eficaz, com taxas de prenhez mais elevadas com o uso de GnRH no início e no final ou apenas no final do protocolo (Schmitz et al., 2017). Em vacas Nelore submetidas a IATF, o uso de hCG (300 UI i.m, 200 UI i.m ou 200 UI s.c) no dia 8 do protocolo foi inferior ao uso de eCG (300 UI i.m) quanto ao crescimento final do folículo dominante, ocasionando ovulações precoces (Prata et al., 2018).

Hormônio Luteinizante (LH)

O LH é um hormônio glicoproteico sintetizado e secretado na hipófise anterior (Brown e McNeilly, 1999). Em folículos pré-ovulatórios o LH estimula a ovulação e age nas células da granulosa e da teca (Richards et al., 2002), fazendo com que estas comecem sua luteinização pré-ovulatória e se diferenciem, após a ovulação, em células lúteas produtoras de P4 (Robinson et al., 2008).

Com a administração exógena de LH é possível controlar o momento da ovulação, para que esta ocorra entre 24 e 36 h após (Nogueira e Barros, 2003). A substituição da segunda dose de GnRH no protocolo *Ovsynch* por LH ou hCG em búfalas não resultou em diferenças na taxa de prenhez (Baruselli et al., 2009). Também em búfalas, a obtenção de taxas de ovulação e de prenhez aceitáveis, tanto com LH como com GnRH (64,2% e 56,5%), respectivamente, demonstrou que a segunda aplicação de GnRH no *Ovsynch* pode ser substituída por uma aplicação de LH (De Araujo Berber et al., 2002). Em novilhas, o

uso de LH como indutor de ovulação proporcionou taxa de ovulação maior do que a observada com GnRH (Martinez et al., 1999), mas em novilhas Nelore, não resultou em aumento nas taxas de prenhez com IATF (Taira et al., 2011).

Prostaglandinas

As prostaglandinas são derivadas do ácido araquidônico, a partir de diversas reações enzimáticas (Moses e Bertone, 2002). Dentre as prostaglandinas, a $PGF2\alpha$ é muito utilizada em protocolos de sincronização do estro, devido ao seu efeito luteolítico, possibilitando maiores taxas de expressão de estro, quando comparada à detecção de estro sem sincronização. Porém, o uso de $PGF2\alpha$ não resulta em sincronização da ovulação para viabilizar IATF, pois o estro pode acontecer em até cinco dias. Assim, em protocolos de IATF, o uso de $PGF2\alpha$ é associado com o uso de uma fonte exógena de P4 e indutores da ovulação. Sua ação luteolítica decorre da ligação a receptores acoplados à proteína G, mas é pouco efetiva quando aplicada antes do 5º dia do ciclo estral, devido à baixa responsividade do CL (Narumiya et al., 1999). No Brasil, dois análogos de $PGF2\alpha$ são disponíveis comercialmente: o dinoprost trometamina, semelhante à $PGF2\alpha$ natural e com meia vida curta; e o cloprostenol sódico, mais potente e com meia-vida mais longa, cerca de 23 vezes maior que a $PGF2\alpha$ natural (Bourne, 1981).

Além do seu conhecido efeito luteolítico, trabalhos recentes sugerem que a $PGF2\alpha$ e seus análogos podem ser usados como indutores da ovulação (Leonardi et al., 2012; Castro et al., 2018), ainda que o seu mecanismo de ação não esteja elucidado. A aplicação exógena de análogo de $PGF2\alpha$ foi associada com ovulação em novilhas pré-púberes, independentemente do uso de tratamento anterior com P4 exógena. O processo ovulatório foi induzido por um mecanismo independente da luteólise, pois novilhas pré-púberes ovularam 94 h após tratamento com $PGF2\alpha$ (Leonardi et al., 2012). Além disso, a aplicação de análogo da $PGF2\alpha$ 24 h após a remoção da fonte exógena de P4 pode ser utilizada para induzir ovulação sincronizada em novilhas, que ocorreu 73 h após remoção do DIV (Pfeifer et al., 2014). Recentemente, foi relatado que a PGF promoveu indução sincronizada da ovulação de maneira similar ao BE, quando aplicados 24 h após remoção P4, em vacas leiteiras no pós-parto, sendo um potencial indutor de ovulação em protocolos de IATF, com ovulações ocorrendo 84 h e 71 h, respectivamente, após remoção do DIV (Pfeifer et al., 2016). Em protocolos utilizando P4 e GnRH, a $PGF2\alpha$ foi um indutor da ovulação tão eficaz quanto o CE, mas proporcionando maior diâmetro para o folículo pré-ovulatório (Castro et al., 2018).

O mecanismo através do qual a $PGF2\alpha$ atua como indutor de ovulação ainda não é totalmente conhecido, mas é possível que esta atue em nível sistêmico, com ação no eixo hipotalâmico-hipofisário, aumentando a capacidade de resposta da hipófise ao GnRH e estimulando a liberação de LH (Randel et al., 1996). Assim, a $PGF2\alpha$ poderia eventualmente substituir o GnRH como indutor de ovulação, reduzindo os custos dos protocolos de IATF, nas ocasiões em que o uso de estrógenos é restrito. Ainda, existem evidências de que a PGF desempenhe um papel local no ovário, diretamente nas células foliculares (Bridges & Fortune, 2007).

Considerações finais

O uso de hormônios indutores de ovulação é indispensável para a utilização da IATF. Desta forma é necessário o conhecimento das alternativas disponíveis e sua adequação à realidade de cada propriedade. A maioria dos protocolos de indução de ovulação estão baseados no uso de GnRH e ésteres de estradiol. Devido ao elevado custo do GnRH e à possíveis restrições ao uso de estrógenos, em consequência da crescente preocupação com resíduos de esteroides, alternativas eficazes para a sincronização da ovulação em bovinos devem ser testadas.

Agradecimentos

Ao CNPq, pelas bolsas de produtividade científica concedidas a B.G. Gasperin (309138/2017-5) e T. Lucia Jr. (303559/2015-2), à FAPERGS (Edital PRONEX 12/2014 -FAPERGS/CNPq, 16/2551-0000494-3) e à CAPES pelas bolsas de demanda social concedidas a F.P. Moraes (Mestrado) e C. A. D'Avila (Doutorado).

Referências

Ambrose D, Rajamahendran R, Kastelic J, Small J. Synchronization of ovulation and conception rates



in Holstein heifers given an intravaginal progesterone-releasing device (CIDR), and estradiol cypionate, porcine LH or gonadotropin releasing hormone. *Arch Tierzucht*, v.44, p.77-79, 2001.

Ayres H, Torres-Júnior J, Penteado L, Souza A, Baruselli P. Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao Benzoato ou ao Cipionato de estradiol. *Acta Sci Vet*, v.34, p.410, 2006.

Baruselli P, Ayres H, Souza A, Martins C, Gimenes L, Torres-Júnior J. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. *In: Simp Intern Reprod Animal Apl*, v.2, p.113-132, 2006.

Baruselli PS, Carvalho NT, Jacomini JO. Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.6, p.104-110, 2009.

Bo G, Cutaia L, Baruselli P. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. *In: 1 S. Int Reprod Animal Apl*, p.56-81, 2004.

Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, v.43, p.31-40, 1995.

Bourne GR. A review of metabolism and clearance studies with ¹⁴C-cloprostenol in the cow. *Acta Vet Scand*, v.77, p.5-9, 1981.

Bridges PJ, Fortune JE. Regulation, action and transport of prostaglandins during the periovulatory period in cattle. *Mol Cell Endocrinol*, v.263, p.1-9, 2007.

Brown P, Mcneilly AS. Transcriptional regulation of pituitary gonadotrophin subunit genes. *Rev Reprod*, v.4, p.117-124, 1999.

Castro NA, Neves PMA, Cestaro JP, Melo VO, Schneider A, Pfeifer LFM. Use of prostaglandin F2 α as ovulatory stimulus for synchronizing dairy cattle. *Res Vet Sci*, v.118, p.151-154, 2018.

De Araujo Berber RC, Madureira EH, Baruselli PS. Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, v.57, p.1421-30, 2002.

De Rensis F, Valentini R, Gorrieri F, Bottarelli E, Lopez-Gatius F. Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. *Theriogenology*, v.69, p.1077-82, 2008.

Diaz T, Schmitt EJ, De La Sota RL, Thatcher MJ, Thatcher W. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J Anim Sci*, v.76, p.1929-36, 1998.

Estes KS, Padmanabhan V, Convey EM. Localization of gonadotropin releasing hormone (GnRH) within the bovine hypothalamus. *Biol Reprod*, v.17, p.706-11, 1977.

Farin CE, Moeller CL, Mayan H, Gamboni F, Sawyer HR, Niswender GD. Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. *Biol Reprod*, v.38, p.413-21, 1988.

Franca LM, Rodrigues AS, Brandão LN, Loiola MG, Chalhoub M, Ferraz PA, Bittencourt RF, Jesus ED, Ribeiro Filho AL. Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a programa de IATF. *Rev Bras Saúde Prod Anim*, v.16, 2015.

García-Ispuerto I, De Rensis F, Casas X, Caballero F, Mur-Novales R, López-Gatius F. Reproductive performance of lactating dairy cows after inducing ovulation using hCG in a five-day progesterone-based fixed-time AI protocol. *Theriogenology*, v.107, p.175-179, 2018.

Gottschall CS, Silva LD, Almeida MD. Análise econômica de dois protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em novilhas de corte. *Rev Bras Reprod Anim*, v.40, p.99-104, 2016.

Hanlon DW, Williamson NB, wichtel J, Steffert IJ, Craigie AL, Pfeiffer DU. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.47, p.963-75, 1997.

Keskin A, Yilmazbas-Mecitoglu G, Gumen A, Karakaya E, Darici R, Okut H. Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.74, p.602-607, 2010.

Lane EA, Austin EJ, Crowe MA. Oestrous synchronisation in cattle--current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: a review. *Anim Reprod Sci*, v.109, p.1-16, 2008.

Leonardi CE, Pfeifer LF, Rubin MI, Singh J, Mapletoft RJ, Pessoa GA, Bairy AM, Silva CA. Prostaglandin F2 α promotes ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology*, v.78, p.1578-82, 2012.

Liu TC, Chiang CF, Ho CT, Chan JP. 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.

Macmillan KL, Thatcher W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol Reprod*, v.45, p.883-9, 1991.



- Martinez MF, Adams GP, Bergfelt DR, Kastelic JP, Mapletoft RJ.** Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim Reprod Sci*, v.57, p.23-33, 1999.
- Moenter SM, Caraty A, Karsch FJ.** The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. *Endocrinology*, v.123, p.1375-84, 1990.
- Moses VS, Bertone AL.** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Clin North Am Equine Pract*, v.18, p.21-37, 2002.
- Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F.** Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev*, v.79, p.1193-226, 1999.
- Nogueira M, Barros C.** Timing of ovulation in Nelore cows superstimulated with P36 protocol. *Acta Sci Vet*, v.31, p.509, 2003.
- Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopes FL, Moreira F, Thatcher WW.** Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*, v.85, p.122-31, 2002.
- Pfeifer LM, Siqueira LB, Arashiro EN, Castro NA, Viana J.** Prostaglandin F or estradiol benzoate to induce ovulation in timed artificially inseminated dairy cows. *Pesq Agrop Bras*, v.51, p.738-744, 2016.
- Pfeifer LF, Leonardi CE, Castro NA, Viana JH, Siqueira LG, Castilho EM, Singh J, Krusser RH, Rubin MI.** The use of PGF2alpha as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. *Theriogenology*, v.81, p.689-95, 2014.
- Prata AB, Drum JN, Melo LF, Araujo ER, Sartori R.** Effect of different chorionic gonadotropins on final growth of the dominant follicle in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, v.111, p.52-55, 2018.
- Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC.** Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*, v.44, p.915-23, 1995.
- Randel RD, Lammoglia MA, Lewis AW, Neuendorff DA, Guthrie MJ.** Exogenous PGF(2)alpha enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology*, v.45, p.643-54, 1996.
- Richards J, Russel D, Ochsner S, Hsieh M, Doyle K, Falender A, Lo Y, Sharma S.** Novel signaling pathways that control ovarian follicular development, ovulation and luteinization. *Recent Prog Horm Res*, v.57, p.195-220, 2002.
- Robinson RS, Hammond AJ, Wathes DC, Hunter MG, Mann GE.** Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. *Reprod Domest Anim*, v.43, p.104-12, 2008.
- Schmitz W, Kramer M, Erhardt G, Gaulty M, Driancourt MA, Holtz W.** Pregnancy rate after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows subjected to a cosynch protocol with either buserelin or hCG as ovulation inducing agent. *Livest Sci*, v.206, p.141-147, 2017.
- Stevenson JS, Tiffany SM, Lucy MC.** Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci*, v.87, p.298-305, 2004.
- Taira EM, Pinto FI, Di Raimo L, De Camargo WD, Giuffrida R, Castilho C.** Uso de LH como indutor de ovulação em protocolo de IATF para Novilhas da raça Nelore. *Colloquium Agrariae*, v.6, p.43-49, 2011.
- Torres-Júnior JS, Penteado L, Sales JS, Sá Filho MF, Ayres H, Baruselli PS.** A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progesterin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci*, v.151, p.9-14, 2014.
- Willians C, Stancel G.** Estrogênios e progestogênios. In: Goodman H, Gilman TL. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 8a ed., São Paulo:Manole, p.1045-1067, 1996.
-