



Uso da ultrassonografia Doppler colorido na reprodução de pequenos ruminantes

Use of color Doppler ultrasonography in the reproduction of small ruminants

Maria Emilia Franco Oliveira^{1,2}, Isabel Oliveira Cosentino², Felipe Zandonadi Brandão^{2*}

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Pau-lista, Jaboticabal – SP, Brasil

²Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, Brasil

Resumo

A ultrassonografia (US) Doppler colorido fornece uma ferramenta não invasiva valiosa para detectar e monitorar mudanças dinâmicas na rede vascular e fluxo sanguíneo em vários órgãos e tecidos reprodutivos. Em apoio as biotécnicas da reprodução animal assistida, a US Doppler colorido tem mostrada alta eficiência no monitoramento funcional das estruturas ovarianas. A previsão de respostas ovarianas e produções embrionária em ovinos pela identificação de sinais Doppler na parede folicular já se mostrou eficiente. A aplicação da US Doppler colorido para a identificação da funcionalidade do tecido luteal é ainda maior, desde acompanhamentos fisiológicos e diagnósticos de disfunções luteais até ampla aplicação em conjunto as diferentes biotécnicas reprodutivas. Destaca-se em ovelhas e cabras, a aplicação comercial da US Doppler colorido para o diagnóstico de gestação precoce, de disfunções luteais, de determinação de respostas ovarianas em fêmeas doadoras e receptoras de embriões, para identificar efeitos luteotrófico de estratégias hormonais, e ainda para amparar as estratégias de ressincronização de estro.

Palavras-chave: perfusão sanguínea, folículo ovariano, corpo lúteo, ovelha, cabra

Abstract

Color Doppler ultrasonography (US) provides a valuable non-invasive tool for detecting and monitoring dynamic changes in the vascular network and blood flow in various reproductive organs and tissues. In support of assisted animal reproduction biotechniques, color Doppler US has shown high efficiency in the functional monitoring of ovarian structures. The prediction of ovarian responses and embryonic production in sheep by identifying Doppler signals in the follicular wall has already proved to be efficient. The application of color Doppler US for identifying the functionality of the luteal tissue is even greater, from physiological monitoring and diagnosis of luteal dysfunctions to wide application together with different reproductive biotechniques. It stands out in sheep and goats, the commercial application of color Doppler US for the diagnosis of early pregnancy, luteal dysfunctions, determination of ovarian responses in embryo donor and recipient females, to identify luteotrophic effects of hormonal strategies, and even to support estrus resynchronization strategies.

Keywords: blood perfusion, ovarian follicle, corpus luteum, sheep, goat

Introdução

A superposição das informações do sinal Doppler em uma imagem de ultrassom em tempo real e a codificação de cores de diferentes velocidades e direções de fluxo trouxe novas perspectivas de aplicação aos diferentes universos de aplicação na saúde humana e veterinária. A ultrassonografia Doppler colorido fornece uma ferramenta não invasiva valiosa para detectar e monitorar mudanças dinâmicas na rede vascular e fluxo sanguíneo em vários órgãos e tecidos reprodutivos, incluindo folículos antrais ovarianos e estruturas lúteas (Fleischer e Andreotti, 2005). Essa tecnologia tem estimulado muitos grupos e pesquisadores e, como resultado, há uma abundância de pesquisas e observações clínicas que alicerçam a ampliação de seu uso no ambiente comercial e científico. Assim, é provável que haja uma aplicabilidade ainda maior no futuro. Nessa revisão faremos um compilados de alguns estudos, dando destaque, sempre que possível, a pesquisas realizadas por nosso grupo de pesquisa.

Princípios físicos da ultrassonografia Doppler colorido

O som é o resultado da energia mecânica que viaja através da matéria na forma de ondas (Merritt,



2012), sendo que o ultrassom tem frequência não audível ao homem (1 a 15 MHz) (Nepomuceno *et al.*, 2013). A corrente elétrica emitida pelo aparelho estimula os cristais piezoelétricos existentes no transdutor, agitando-os, e assim os transformam em ondas de alta frequência (ultrassom), que são transmitidas a partir do transdutor aos tecidos do animal (revisado por Ginther, 2007; Merritt, 2012). Essas ondas sonoras interagem com os tecidos de modo a serem refletidas, absorvidas ou refratadas, e esses fenômenos resposta da interação som/tecido dependem da densidade do tecido. Ato seguinte, os ecos sonoros que retornam ao transdutor são captados e novamente transformados em correntes elétricas, que são processadas pelo equipamento de forma a gerar uma imagem compatível com a leitura dos ecos (revisado por Ginther, 2007; Peixoto *et al.*, 2010; Merritt, 2012).

O efeito Doppler, estudado por Johann Christian Doppler em 1842, pode ser definido como sendo o princípio físico no qual se verifica a alteração da frequência das ondas sonoras refletidas a partir de um objeto (corpo) refletor que se move em relação a fonte produtora da onda sonora (Carvalho *et al.*, 2008). Assim, essa modalidade ultrassonográfica é principalmente utilizada para a avaliação do sistema vascular, já que o transdutor permanece parado e capta o movimento das células vermelhas em direção a favor ou contrária ao transdutor.

Avaliação de folículos ovarianos antrais

A US Doppler colorido na avaliação folicular já foi indicada como uma ferramenta prática, em ambiente comercial e de pesquisa, para auxiliar na previsão de respostas ovarianas e produções embrionária em ovinos (Oliveira *et al.*, 2014; 2017). Foi mostrado que existe um limiar nos níveis de fluxo sanguíneo folicular que impacta negativamente a qualidade oocitária (Oliveira *et al.*, 2014). Além disso, a estimativa de velocidades específicas do fluxo sanguíneo folicular (número de pixels coloridos de alta velocidade) já no segundo dia do tratamento superovulatório mostra correlações positivas com número de CL e de embriões viáveis (Oliveira *et al.*, 2017).

Estudo da dinâmica luteal

Os primeiros estudos utilizando a ultrassonografia (US) como ferramenta de avaliação ovariana na espécie bovina datam da década de 80. Já nesses primeiros ensaios, utilizando US modo-B, é possível identificar, de modo subjetivo, mudanças na ecogenicidade e ecotextura luteal de acordo com a fase do ciclo avaliada e a presença de cavidades bem definidas no interior dos mesmos (Kito *et al.*, 1986; Pierson e Ginther, 1984). Na década seguinte foi estabelecida relação entre a morfologia luteal e sua funcionalidade, apontando a US como uma técnica adequada para avaliação luteal em bovinos (Kastelic *et al.*, 1990; Singh *et al.*, 1997), ovinos (Bartlewski *et al.*, 1999; Gonzalez-Bulnes *et al.*, 2000) e caprinos (de Castro *et al.*, 1999). Nesses estudos iniciais, características biométricas eram o principal foco de avaliação. Com o uso adicional de recursos de análise computadorizada de imagens ultrassonográficas foi possível iniciar a avaliação quantitativa da intensidade de cada pixel presente (Singh *et al.*, 2003). Assim, a determinação da ecogenicidade (valores numéricos de pixel) e ecotextura (desvio padrão do valor numérico de pixels) trouxe desde os primeiros estudos em ovinos e caprinos maior perspectiva para determinação de sua relação com a funcionalidade do tecido luteal (Simões *et al.*, 2007; Arashiro *et al.*, 2010). A precisão de uso desses parâmetros é relacionável a técnica usada, portanto, com a melhoria das tecnologias envolvidas nos equipamentos de ultrassonografia e softwares de análises de imagens a determinação de parâmetros de pixels do tecido luteal torna-se uma ferramenta diagnóstica precisa (Arashiro *et al.*, 2010).

A modalidade Doppler colorido mostrou-se, desde os primeiros estudos, promissora (Singh *et al.*, 2003) por incorporar a obtenção não invasiva de informações sobre o estado funcional dos órgãos (Miyamoto *et al.*, 2006). O corpo lúteo (CL) é formado a partir de células remanescentes do folículo ovariano rompido após a ovulação (Hennebold, 2018). Trata-se de um complexo mecanismo de modificações morfológicas e bioquímicas que levam a um intenso processo angiogênico durante a luteogênese, e resulta em uma taxa extremamente alta de fluxo sanguíneo na glândula luteal madura, enquanto no processo de luteólise há regressão dos vasos sanguíneos (Shrestha *et al.*, 2019). A rede vascular do CL fornece oxigênio, nutrientes, hormônios e outros fatores necessários ao seu crescimento e à esteroidogênese (Shrestha *et al.*, 2019). Por essas razões fisiológicas é natural esperar que a US modo Doppler colorido traz maior acurácia na determinação da funcionalidade do tecido luteal frente aos recursos ultrassonográficos anteriormente disponíveis. A US Doppler colorido foi usada em bovinos para avaliar os parâmetros vasculares do CL durante seu desenvolvimento e regressão (Acosta *et al.* 2002, 2003; Ginther *et al.* 2007). Em ovinos, essa modalidade ultrassonográfica permitiu identificar o CL um dia após a ovulação



e auxiliou na caracterização a dinâmica luteal em três distintas fases; um progressivo incremento do tecido luteal e de sua perfusão sanguínea (pixels coloridos) durante a luteogênese, seguido por uma fase de platô e finalmente um decréscimo da área do tecido luteal e de sua perfusão sanguínea, respectivamente, em 48 e 24 horas após o início da luteólise (Figueira *et al.*, 2015). Similarmente em caprinos, a funcionalidade do CL pôde ser obtida pela determinação da biometria luteal, no entanto, a medida da área de pixels coloridos detectados teve correlação mais completa (Balaro *et al.*, 2017).

Além do estudo fisiológico da dinâmica luteal, a US Doppler colorido tem sido utilizada para acompanhar respostas a tratamento de indução de CL acessório (CLa) (Vergani *et al.*, 2020; Cortês *et al.*, 2021) e ainda que tenham efeitos luteotrófico no CL original (CLO) (Rodrigues *et al.*, 2022). A área de pixels coloridos detectados no tecido luteal incrementou após a administração da gonadotrofina coriônica humana (hCG) no início da fase luteal em ovelhas (Vergani *et al.*, 2020). Em cabras, entretanto, a média da área de pixel coloridos no tecido luteal não variou após o tratamento com hCG, mas a US Doppler colorido marcou diferença entre fêmeas prenhes e vazias e a ocorrência da luteólise fisiológica (Cortês *et al.*, 2021). Em outro estudo realizado em cabras, os efeitos da hCG foram detectados tanto sobre o CLO quanto no CLa induzido (Rodrigues *et al.*, 2022). Esses autores indicaram que embora a perfusão sanguínea do CLO tenha suprimida pelo tratamento com hCG na fase luteal inicial, houve aumento do fluxo sanguíneo de alta velocidade do CLO, o que parece sinalizar a “melhor eficiência” das células lúteas e dos vasos sanguíneos na síntese e liberação de progesterona em cabras em gestação precoce. Ainda em cabras, o uso de hCG no momento da inseminação artificial não teve efeitos sobre variáveis obtidas pela US Doppler colorido (Rodrigues *et al.*, 2023).

Indicação de funcionalidade luteal

Assim como é possível acompanhar o dinâmica funcional do CL ao longo do ciclo estral ou mesmo em respostas a intervenções, a indicação da funcionalidade lútea pode ser requerida em momentos específicos desejados. Em cabras, Balaro *et al.* (2017) indicaram, como um bom ponto de corte para a assinalar a funcionalidade lútea, os seguintes valores: para número de pixels coloridos (1200 pixels; sensibilidade: 88%; especificidade: 100%) e para a avaliação subjetiva de pixels coloridos (30%; sensibilidade: 91%; especificidade: 100%). Os pontos de corte descritos podem ser adotados para avaliar a funcionalidade lútea em fêmeas receptoras de embriões, visando melhor eficiência em programas de transferência de embriões (Balaro *et al.*, 2017).

Identificar a funcionalidade luteal por meio da US Doppler colorido tem sido considerada em pesquisas como uma alternativa não invasiva, com potencial, para o diagnóstico de regressão prematura de CL (RPCL). Figueira *et al.* (2015) destacam a possibilidade de a US Doppler colorido superar a dificuldade de diagnóstico da RPCL pela US modo-B, devido a diferença temporal entre luteólise funcional e estrutural. Os autores observaram, em fêmeas não superovuladas, que a redução ou mesmo a ausência de fluxo sanguíneo luteal pode ser detectada 24 h após o início da luteólise, enquanto as alterações nos parâmetros morfológicos ocorrerão mais tarde (Figueira *et al.*, 2015). Mesmo as concentrações séricas de progesterona sendo indicação direta da funcionalidade luteal e estarem relacionadas ao número de CL saudáveis e totalmente funcionais em ovelhas superovuladas, não são preditivas do número de CL ou folículos luteinizados LUFs com regressão prematura (Oliveira *et al.*, 2018), mostrando a necessidade de identificar CL regredindo prematuramente por meio de tecnologias ultrassonográficas. A US Doppler espectral apontou tanto em bovinos (Vrisman *et al.*, 2018) como em ovinos (Rodríguez *et al.*, 2019) que o índice de pulsatilidade da artéria ovariana é o primeiro marcador para o diagnóstico de RPCL. O primeiro relato do uso de técnicas US Doppler colorido para diagnosticar RPCL em ovelhas superovuladas foi recentemente publicado, mostrando que apesar da área total de pixel Doppler colorido e média da área Doppler do tecido luteal terem sido correlacionadas as concentrações de progesterona foi sugerido apenas que a avaliação da área total e da heterogeneidade de pixels do CL individual pode aumentar a precisão da detecção do RPCL (Bevilaqua *et al.*, 2023).

Diagnóstico precoce da gestação

De certa forma ainda inserido no contexto de indicação da funcionalidade luteal, a US Doppler colorido abriu a possibilidade de antecipar o diagnóstico de prenhez em ruminantes. Estudos iniciais na espécie bovina demonstraram que a perfusão sanguínea luteal ao longo do ciclo estral pode ser medida, de forma subjetiva, por escores (1 a 4) da estimativa do percentual de área com sinais Doppler colorido em relação a área lútea total (de Tarso *et al.*, 2018; Siqueira *et al.*, 2013). Diante da subjetividade da técnica e



sua dependência da capacitação do operador para avaliação foi proposta a avaliação semiquantitativa, realizada por meio da contagem de pixels coloridos (de Tarso *et al.*, 2018; Herzog *et al.*, 2010; 2011). Essa técnica está sujeita, no entanto, a avaliação posterior da imagem em softwares de análise de imagens, e apesar de demonstrar alta reprodutibilidade, seu resultado não é em tempo real (Bollwein *et al.*, 2002).

Estudos em bovinos indicam que a perfusão sanguínea luteal aumenta na terceira semana após a ovulação em vacas prenhes devido ao reconhecimento fetal materno (Herzog *et al.*, 2011; Utt *et al.*, 2009). Diante disso, abriu-se a perspectiva de uso da técnica US Doppler colorido para a avaliação de fêmeas na estação de monta, com objetivo de diagnóstico de gestação. Em pequenos ruminantes, a avaliação da perfusão sanguínea luteal (subjetiva e semiquantitativa) foi também possível e correlacionada com a produção de progesterona (Balara *et al.*, 2017; Figueira *et al.*, 2015). Esses estudos indicaram que valores acima de 30% de área Doppler colorido em relação a área do CL correspondem a concentrações séricas de progesterona superiores a 1,0 ng/mL ($k = 0,65$; $P < 0,05$). Na sequência, Arashiro *et al.* (2018) propuseram o diagnóstico precoce da gestação em ovelhas, pela avaliação subjetiva da perfusão sanguínea luteal, seguindo-se a classificação em escores 1 (0 a 25%), 2 (25 a 50%), 3 (50 a 75%) e 4 (76 a 100%) da área de tecido luteal preenchida por sinais Doppler colorido. Nesse estudo foi indicado confirmar a gestação de ovelhas que receberam a classificação de escores 2 a 4 no dia 17 após a ovulação/inseminação artificial; os resultados mostraram repetibilidade entre avaliadores e acurácia de 85% para diagnóstico em tempo real, entretanto, falsos positivos podem estar associados a ciclos estrais longos ou perdas gestacionais precoces (Arashiro *et al.*, 2018). Seguindo a mesma escala de avaliação, Cosentino *et al.* (2018) confirmaram que a metodologia é também aplicada na espécie caprina, entretanto, indicando realizar o diagnóstico precoce de gestação no dia 21 após a ovulação/inseminação.

Avaliação da resposta ovariana ao protocolo de superovulação

Além de prever a resposta superovulação e a produção de embriões pela avaliação de folículos antrais ovarianos durante o tratamento gonadotrófico, como já mencionado, a US Doppler colorido possibilita aumentar a precisão da detecção e quantificação dos CLs (Oliveira *et al.*, 2018). A determinação da resposta superovulatória é necessária para amparar o sucesso da colheita de embriões, e sua realização por avaliação ultrassonográfica é indispensável quando a lavagem uterina é realizada por procedimento não cirúrgico (Oliveira *et al.*, 2018; Pinto *et al.*, 2018). Oliveira *et al.* (2018) indicam que a ultrassonografia modo-B e Doppler colorido são métodos práticos e não invasivos para determinar a resposta ovariana em ovelhas superovuladas, em ambiente comercial ou pesquisa reprodutiva. Similarmente, Pinto *et al.* (2018) confirmam forte correlação positiva entre a determinação do número de CL pela US Doppler colorido e por laparoscopia. Esses autores, entretanto, ressaltam a possibilidade de dificuldade em distinguir todos os CLs presentes em indivíduos com alta resposta superovulatória.

Protocolos de ressincronização de estro

O uso da avaliação da perfusão sanguínea luteal pela US Doppler colorido para diagnóstico precoce da gestação associado aos protocolos de sincronização e indução do estro permitiram o desenvolvimento de protocolos de ressincronização precoce. Protocolos de ressincronização são amplamente difundidos na espécie bovina, podendo ser realizado de diversas formas, variando desde os hormônios utilizados até o momento do início da ressincronização e do diagnóstico de gestação (Sani *et al.*, 2011; Bilby *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2013; Sá Filho *et al.*, 2014; Sinedino *et al.*, 2014). Em ovelhas, os protocolos propostos iniciam antes do final do ciclo estral sincronizado, por meio da inserção de um novo dispositivo de progesterona 12 (Cosentino *et al.*, 2019; 2021), ou 14 (Miranda *et al.*, 2018) dias após o término do primeiro protocolo de sincronização de estro. O dispositivo é mantido por, pelo menos, cinco dias, e quando retirado um novo tratamento com gonadotropina é realizado seguido de um novo acasalamento por monta natural ou inseminação artificial (Cosentino *et al.*, 2019; 2021; Miranda *et al.*, 2018). Os resultados demonstraram não haver interferência do segundo protocolo de sincronização de estro nas gestações ainda não diagnosticadas. Além disso, o uso associado da avaliação da perfusão sanguínea luteal pela US Doppler colorido permitiu a identificação precoce das fêmeas gestantes e realização do protocolo de ressincronização de estro apenas nas fêmeas não gestantes (Cosentino *et al.*, 2019; 2021). Tal associação permite, além de diminuir o tempo improdutivo de uma fêmea no rebanho e conceder novas chances para concepção, diminuir o uso de hormônios desnecessários e doses de sêmen em fêmeas já gestantes, possibilitando reduzir custo e melhorar os resultados, encurtando o período total de trabalho e a simplificação do manejo (Cosentino *et al.*, 2023). A associação do diagnóstico precoce de gestação e



protocolos de ressincronização de estro em ovelhas foi ainda avaliado para diferentes categorias, mostrando boa eficiência em múltiparas e nulíparas, entretanto, indicou-se a necessidade de mais estudos para a aplicação da técnica em fêmeas pós-parto (Cosentino *et al.*, 2021).

Na espécie caprina, estudos tem direcionado as mesmas conclusões, como não haver interferência do protocolo de ressincronização de estro nas gestações de fêmeas não diagnosticadas (Cosentino *et al.*, 2020). A estratégia de ressincronização de estro de cabras com a inserção de um novo dispositivo de progesterona no dia 16 após a ovulação oriundo do primeiro protocolo de sincronização de estro, em associação ou não com a administração eCG no momento da remoção do dispositivo, cinco dias depois, mostrou resultados satisfatórios, especialmente em relação a dinâmica folicular. Diante disso, os autores sugerem a necessidade de novos estudos para testar modificações já previstas no protocolo hormonal visando incrementar a taxa de prenhez. Portanto, em ambas as espécies, o uso do protocolo de ressincronização de estro associado ao diagnóstico precoce da não gestação por indicação da presença de tecido luteal sem perfusão sanguínea pela US Doppler colorido, permite encurtar o intervalo entre montas naturais/inseminações artificiais sucessivas, conforme proposto por Cosentino *et al.* (2023), entretanto, é notório destacar que estudos futuros podem mostrar a viabilidade de realizar três ou mais ressincronizações seguidas em um intervalo de dois a três meses.

Considerações Finais

Em ovelhas e cabras, a ultrassonografia transretal nas diferentes modalidades tem mostrado ampla aplicação com elevada praticidade e eficiência. A US Doppler colorido aliada a US modo-B já é uma realidade em ambiente comercial ou pesquisa reprodutiva, e oferece a possibilidade de detecção das estruturas ovarianas, de modo a indicar com precisão características de funcionalidade. Por meio da tecnologia de identificação não invasiva da funcionalidade luteal é possível realizar o diagnóstico de gestação precoce, de disfunções luteais, de determinação de respostas ovarianas em fêmeas doadoras e receptoras de embriões, identificar efeitos luteotrófico de estratégias hormonais, e ainda para amparar as estratégias de ressincronização de estro.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Faperj e ao CNPq pelo financiamento dos estudos.

Referências

- Acosta TJ, Hayashi, KG, Ohtani M, Miyamoto A.** Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction* v.125, p.759–767, 2003.
- Acosta TJ, Yoshizawa N, Ohtani M, Miyamoto A.** Local Changes in Blood Flow Within the Early and Midcycle Corpus Luteum after Prostaglandin F₂ α Injection in the Cow. *Biol Reprod* v.66, p.651–658, 2002.
- Arashiro EKN, Fonseca JF, Siqueira LGB, Fernandes CA, Brandão FZ, Oba E, Viana JH.** Assessment of luteal function in goats by ultrasonographic image attribute analysis. *Small ruminant research* v.94, p.176–179, 2010.
- Arashiro EKN, Ungerfeld R, Clariget RP, Pinto PHN, Balaro MFA, Bragança GM, Ribeiro LS, da Fonseca JF, Brandão FZ.** Early pregnancy diagnosis in ewes by subjective assessment of luteal vascularisation using colour Doppler ultrasonography. *Theriogenology* v.106, p.247–252, 2018.
- Balaro MFA, Santos AS, Moura LFGM, Fonseca JF, Brandão FZ.** Luteal dynamic and functionality assessment in dairy goats by luteal blood flow, luteal biometry, and hormonal assay. *Theriogenology* v.95, p.118–126, 2017.
- Bartlewski PM, Beard AP, Rawlings NC.** An ultrasonographic study of luteal function in breeds of sheep with different ovulation rates. *Theriogenology* v.52, p.115–130, 1999.
- Bevilaqua JR, Rodriguez MGK, Maciel GS, Vergani GB, Fonseca JF da, Bartlewski PM, Oliveira MEF.** Luteal Function, Biometrics, and Echotextural Attributes in Santa Inês Ewes Superovulated with Different Total Doses of Porcine Follicle-Stimulating Hormone. *Animals* v.13, p.873, 2023.
- Bilby TR, Bruno RGS, Lager KJ, Chebel RC, Moraes JGN, Fricke PM, Lopes G, Giordano JO, Santos JEP, Lima FS, Stevenson JS, Pulley SL.** Supplemental progesterone and timing of resynchronization on pregnancy outcomes in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* v.96, p.7032–7042, 2013.
- Bollwein H, Mayer R, Weber F, Stolla R.** Luteal blood flow during the estrous cycle in mares. *Theriogenology* v.57, p.2043–2051, 2002.



- Carvalho, CF, Chammass, MC, Cerri, GG.** Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia. *Ciência Rural* v.38, p.872–879, 2008.
- Côrtes LR, Souza-Fabjan JMG, Dias DS, Martins BB, Maia ALRS, Veiga MO, Arashiro EKN, Brandão FZ, Bartlewski PM, Fonseca JF.** Administration of a single dose of 300 IU of human chorionic gonadotropin seven days after the onset of estrus improves pregnancy rate in dairy goats by an unknown mechanism. *Domestic Animal Endocrinology* v.74, p.106579, 2021.
- Cosentino IO, Balaro MFA, Arashiro EKN, Santos JDR, Carvalho AB da S, Clariget RP, Ungerfeld R, Brandão FZ.** Hormonal protocols for early resynchronization of ovulation in ewes: The use of progestagens, eCG, and inclusion of early pregnancy diagnosis with color Doppler ultrasound. *Theriogenology* v.133, p.113–118, 2019.
- Cosentino IO, Balaro MFA, Leal FSC, Barbosa L de FC, Gonçalves FM, Felizardo GF, Netto MM, Brandão FZ.** Early resynchronization protocols for goats: progestogens can be used prior to an early pregnancy diagnosis without affecting corpus luteum functionality. *Reproduction in Domestic Animals*, 2020.
- Cosentino IO, Balaro MFA, Leal FSC, Carvalho AB da S, Souza PRC de, Arashiro EKN, Brandão FZ.** Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood flow for prediction of early pregnancy in goats. *Theriogenology* v.121, p.104–11, 2018.
- Cosentino IO, Balaro MFA, Menchaca A, Perez-Clariget R, Ungerfeld R, Brandão FZ.** Recent advances in treatments for resynchronization of ovulation in small ruminants: a review. *Anim. Reprod.* V.20, p.e20220111, 2023.
- Cosentino IO, Balaro MFA, Silva PM, Taira AR, Santos JDR, Ribeiro ACS, Figueiredo BRR, Costa MMCP da, Vieira BR, Brandão FZ.** Influence of eCG and reproductive management in the resynchronization of ovulation in dairy goats. *Anim Reprod* v.19, p.e20210112, 2022.
- Cosentino IO, Brandão FZ, Pinto PHN, Clariget RP, Ungerfeld R.** Fixed timed artificial insemination and early resynchronization of ovulation in different categories of ewes in grazing system: Response of multiparous, nulliparous, and lactating ewes during the breeding season. *Livestock Science* v.247, p.104461, 2021.
- de Castro T, Rubianes E, Menchaca A, Rivero A.** Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenology* v.52, p.399–411, 1999.
- de Tarso SGS, Apgar GA, Gastal MO, Gastal EI.** Relationships between follicle and corpus luteum diameter, blood flow, and progesterone production in beef cows and heifers: preliminary results. *Animal Reproduction* v.13, p.81–92, 2018.
- Figueira LM, Fonseca JF, Arashiro EKN, Souza-Fabjan J, Ribeiro A, Oba E, Viana J, Brandão FZ.** Colour Doppler Ultrasonography as a Tool to Assess Luteal Function in Santa Inês Ewes. *Reprod. Domest. Anim.* v.50, p.643–650, 2015.
- Fleischer AC, Andreotti RF.** Color Doppler sonography in obstetrics and gynecology. *Expert Rev. Med. Device* 2, 605, 2005.
- Ginther OJ.** Principles of B-Mode and Doppler ultrasonography, in: *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography, Book 4.* Equiservices Publishing, Cross Plains, p. 258, 2007.
- Gonzalez De Bulnes A, Santiago Moreno J, Gomez Brunet A, Lopez Sebastian A.** Relationship between Ultrasonographic Assessment of the Corpus Luteum and Plasma Progesterone Concentration during the Oestrous Cycle in Monovular Ewes. *Reprod Domest Anim* v.35, p.65–68, 2000.
- Hennebold JD.** Corpus luteum. *Encyclopedia of Reproduction* (Second Edition), v.2, p.99-105, 2018.
- Herzog K, Brockhan-Lüdemann M, Kaske M, Beindorff N, Paul V, Niemann H, Bollwein H.** Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology* v.73, p.691–697, 2010.
- Herzog K, Voss C, Kastelic JP, Beindorff N, Paul V, Niemann H, Bollwein H.** Luteal blood flow increases during the first three weeks of pregnancy in lactating dairy cows. *Theriogenology* v.75, p.549–554, 2011.
- Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ.** Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* v.33, p.1269–1278, 1990.
- Kito S, Okuda K, Miyazawa K, Sato K.** Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology* v.25, p.325–333, 1986.
- Merritt CRB.** Física do Ultrassom, in: *Tratado de Ultrassonografia Diagnóstica.* Mosby Elsevier, Rio de Janeiro, p. 2200, 2012.
- Miranda VO, Oliveira FC, Dias JH, Vargas Júnior SF, Goularte KL, Sá Filho MF, Sá Filho OG de,**



- Baldassarre H, Vieira AD, Lucia T, Gasperin BG.** Estrus resynchronization in ewes with unknown pregnancy status. *Theriogenology* v.106, p.103–107, 2018.
- Miyamoto A, Shirasuna K, Hayashi K-G, Kamada D, Awashima C, Kaneko E, Acosta TJ, Matsui M.** A potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: New observations using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. *J. Reprod. Dev.* v.52, p.153–160, 2006.
- Nepomuceno AC, Canola JC, Oliveira MEF, Avante ML.** Princípios físicos da ultrassonografia e aplicações na reprodução animal, in: *Ultrassonografia Na Reprodução Animal*. MedVet, São Paulo, p. 191, 2013.
- Oliveira MEF, Bartlewski PM, Jankowski N, Padilha-Nakaghi LC, Oliveira LG, Bicudo SD, Fonseca JF, Vicente WRR.** Relationship of antral follicular blood flow velocity to superovulatory responses in ewes. *Anim Reprod Sci* v.182, p.48–55, 2017.
- Oliveira MEF, Feliciano MAR, D'Amato CC, Oliveira LG, Bicudo SD, Fonseca JF, Vicente WRR, Visco E, Bartlewski PM.** Correlations between ovarian follicular blood flow and superovulatory responses in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 144, 30–37, 2014.
- Oliveira MEF, Ribeiro IF, Rodriguez MGK, Maciel GS, Fonseca JF, Brandão FZ, Bartlewski PM.** Assessing the usefulness of B-mode and colour Doppler sonography, and measurements of circulating progesterone concentrations for determining ovarian responses in superovulated ewes. *Reproduction in domestic animals* v.53, p.742–750, 2018.
- Peixoto GCX, Lira RA, Alves ND, Silva AR.** Bases físicas da formação da imagem ultrassonográfica. *Acta Veterinária Brasilica* v.4, p.15–24, 2010.
- Pereira RV, Caixeta LS, Giordano JO, Guard CL, Bicalho RC.** Reproductive performance of dairy cows resynchronized after pregnancy diagnosis at 31 (± 3 days) after artificial insemination (AI) compared with resynchronization at 31 (± 3 days) after AI with pregnancy diagnosis at 38 (± 3 days) after AI. *J. Dairy Sci.* v.96, p.7630–7639, 2013.
- Pierson RA, Ginther OJ.** Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* v.21, p.495–504, 1984.
- Pinto PHN, Bragança GM, Balaro MFA, Arashiro EKN, dos Santos GB, de Souza GN, Souza-Fabjan JMG, Fonseca JF, Brandão FZ.** Colour-Doppler ultrasound imaging as a laparoscopy substitute to count corpora lutea in superovulated sheep. *Reprod Dom Anim.* v.53, p.266–269, 2018.
- Rodrigues JND, Guimarães JD, Oliveira MEF, Dias JH, Arrais AM, de Sousa MAP, Bastos R, Ahmadi B, Bartlewski PM, Fonseca JF.** Human chorionic gonadotropin affects original (ovulatory) and induced (accessory) corpora lutea, progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrus dairy goats. *Reproductive Biology* v.22, p.100591, 2022.
- Rodrigues JND, Guimarães JD, Rangel PSC, Oliveira MEF, Brandão FZ, Bartlewski PM, Fonseca JF.** Luteal function in cyclic goats treated with human chorionic gonadotropin administered by intramuscular or intravaginal routes at the time of artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals* v.58, p.396–404, 2023.
- Rodriguez MGK, Maciel GS, Uscategui RAR, Santos VJC, Nociti RP, Da Silva PA, Feliciano MAR, Brandão FZ, Fonseca JF, Oliveira MEF.** Early luteal development in Santa Inês ewes superovulated with reduced doses of porcine follicle-stimulating hormone. *Reprod. Domest. Anim.* v.54, p. 456–463, 2019.
- Sá Filho ME, Marques MO, Giroto R, Santos FA, Sala RV, Barbuio JP, Baruselli PS.** Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle. *Theriogenology* v.81, p.284–290, 2014.
- Sani RN, Farzaneh N, Moezifar M, Seifi HA, Tabatabaei AA.** Evaluation of five resynchronization methods using different combinations of PGF2 α , GnRH, estradiol and an intravaginal progesterone device for insemination in Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* v.124, p.1–6, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.013>
- Shrestha K, Rodler D, Sinowatz F, Meidan R.** Corpus Luteum Formation. *The Ovary* (Third Edition), p.255-267, 2019.
- Simões J, Almeida JC, Baril G, Azevedo J, Fontes P, Mascarenhas R.** Assessment of luteal function by ultrasonographic appearance and measurement of corpora lutea in goats. *Anim. Reprod. Sci.* v.97, p.36–46, 2007.
- Sinedino LDP, Lima FS, Bisinotto RS, Cerri RLA, Santos JEP.** Effect of early or late resynchronization based on different methods of pregnancy diagnosis on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* v.97, p.4932–4941, 2014.
- Singh J, Adams GP, Pierson RA.** Promise of new imaging technologies for assessing ovarian function. *Animal Reproduction Science* v.78, p.371–399, 2003.



Singh J, Pierson RA, Adams GP. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *Reproduction* v.109, p.35–44, 1997.

Siqueira LGB, Areas VS, Ghetti AM, Fonseca JF, Palhao MP, Fernandes C a C, Viana JHM. Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* v.96, p.6461–6472, 2013.

Utt MD, Johnson GL, Beal WE. The evaluation of corpus luteum blood flow using color-flow Doppler ultrasound for early pregnancy diagnosis in bovine embryo recipients. *Theriogenology* v.71, p.707–715, 2009.

Vergani GB, Fonseca J, Trevizan JT, Pereira VS do A, Garcia AR, Esteves SN, Brandão FZ, Souza-Fabjan JMG, Oliveira MEF. Luteotropic effects of human chorionic gonadotropin administered 7.5 days after synchronous estrous induction in Morada Nova ewes. *Animal Reproduction Science* v.223, p.106644, 2020.

Vrisman DP, Bastos NM, Rossi GF, Rodrigues NN, Borges LPB, Taira AR, de Paz CCP, Nogueira G de P, Teixeira PPM, Monteiro FM, Oliveira MEF. Corpus luteum dynamics after ovulation induction with or without previous exposure to progesterone in prepubertal Nellore heifers. *Theriogenology* v.106, p.60–68, 2018.
