

Ana Izabel Silva Balbin Villaverde

## **Protocolos de indução de estro e ovulação em gatas domésticas**

Monografia apresentada à disciplina “Seminário em Reprodução Animal I” do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Reprodução Animal, Curso de Mestrado, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Câmpus de Botucatu.

Docentes Responsáveis:

Prof. Adj. Sony Dimas Bicudo

Profa. Adj. Maria Denise Lopes

Botucatu - SP  
2005

## Resumo

A aplicação das biotecnologias da reprodução vem aumentando nos últimos anos em gatis e em pesquisas visando o felino selvagem. Para o emprego dessas técnicas faz-se necessário a manipulação do ciclo estral e da ovulação nas gatas domésticas, principalmente devido a peculiaridades em sua fisiologia reprodutiva. Os protocolos com gonadotrofinas exógenas, que são os mais utilizados, resultam em hiperestimulação ovariana e conseqüente formação de folículos e corpos lúteos secundários. Essas alterações ovarianas levam a uma modificação hormonal importante, que se refletem na qualidade dos ovócitos, implantação embrionária e subseqüente redução nas taxas de prenhez e número de filhotes por ninhadas. Apesar das observações empíricas relatadas sobre a fertilidade futura das fêmeas submetidas a repetidos tratamentos com gonadotrofinas exógenas, pouco se sabe sobre a interação dos anticorpos anti-gonadotróficos, produzidos após estimulação exógena. Assim, embora existam vários protocolos para a estimulação do crescimento folicular e da ovulação nas gatas domésticas, ainda não foi estabelecido um regime ideal. Esta revisão tem o objetivo de expor as peculiaridades da fisiologia reprodutiva das gatas domésticas e apresentar os principais protocolos de indução do estro e da ovulação.

**Palavras-chave:** Gato doméstico, indução do estro, indução da ovulação, gonadotrofinas exógenas.

# Sumário

<b>Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>Revisão de Literatura</b> .....	<b>2</b>
1. Fisiologia reprodutiva da gata doméstica .....	3
1.1. Ciclo estral.....	4
1.1.1. Pro-estro.....	4
1.1.2. Estro .....	4
1.1.3. Interestro .....	5
1.1.4. Diestro (Pseudogestação) .....	5
1.1.5. Anestro .....	5
1.2. Endocrinologia do ciclo estral.....	6
1.2.1. Sazonalidade.....	6
1.2.2. Crescimento folicular .....	6
1.2.3. Ovulação .....	7
2. Controle do ciclo estral e ovulação.....	9
2.1. Manipulação do fotoperíodo .....	9
2.2. Indução mecânica da ovulação .....	9
2.3. Estímulo social .....	10
2.4. Gonadotrofinas exógenas .....	10
2.4.1. Indução da ovulação .....	12
2.4.2. Indução do estro e atividade ovariana.....	14
2.4.3. Hiperestimulação ovariana e baixos índices reprodutivos.....	16
2.4.4. Resposta imunológica ao uso das gonadotrofinas exógenas.....	18
<b>Considerações finais</b> .....	<b>20</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>21</b>

## Lista de Abreviaturas

CITES - *Convention of International Trade in Endangered Species*

CL(s) - Corpo lúteo

eCG - Gonadotrofina coriônica eqüina

FIV - Fertilização *in vitro*

FPOs - Folículos pré - ovulatórios

FSH - Hormônio folículo estimulante

FSHp - Hormônio folículo estimulante porcino

GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofinas

hCG - Gonadotrofina coriônica humana

hMG – Gonadotrofina menopáusica humana

IA - Inseminação artificial

IM - Intramuscular

Kg - Quilograma (s)

LH - Hormônio luteinizante

mL - Mililitro

mm - Milímetro

ng - nanograma

pg - Picograma

SC - Subcutâneo

TE - Transferência de embrião

μL - Microlitro

## Introdução

Para a preservação das espécies felinas a utilização das biotécnicas da reprodução é uma importante ferramenta, principalmente, para a criação de um banco de recursos genéticos, que visa o armazenamento de materiais biológicos e envolve a congelação de gametas e embriões. Nesse contexto, o gato doméstico torna-se um importante modelo experimental para todas as 36 espécies de felinos selvagens ameaçadas de extinção (CITES, 1973). Devido há diversos fatores como problemas comportamentais, físicos, de distância entre os reprodutores ou para um maior aproveitamento de machos com boa genética racial, as biotécnicas da reprodução vêm ocupando um papel cada vez maior nos gatis.

As gatas domésticas apresentam características em sua fisiologia reprodutiva, diferentes das demais espécies domésticas, que devem ser compreendidas antes da aplicação de biotécnicas como IA (inseminação artificial), TE (transferência de embrião), FIV (fertilização *in vitro*), entre outras. Um exemplo, dessa fisiologia particular, é o fato das gatas apresentarem ovulação induzida, que na ausência do coito, durante a aplicação da IA ou TE, faz-se necessário a utilização de um estímulo mecânico ou de gonadotrofinas exógenas para desencadeá-la.

Para técnicas como TE e FIV a indução do estro é também uma fase importante nos protocolos para estimular e sincronizar a atividade ovariana em doadoras e receptoras de embrião.

A utilização das gonadotrofinas para indução do estro e ovulação nas gatas tem gerado filhotes viáveis quando aplicadas na FIV, TE (GOODROWE *et al.*, 1988b; SWANSON & GODKE, 1994) e IA (HOWARD *et al.*, 1992). Apesar do sucesso das gonadotrofinas na indução do estro, foram observadas taxas de gestações menores e números reduzidos de filhotes por ninhada após sua utilização (GOODROWE *et al.*, 1988a; POPE *et al.*, 1993; SWANSON & GODKE, 1994). A causa dessa redução pode ser devido às falhas na fertilização e/ou qualidade embrionária comprometida

(ROTH *et al.*, 1994). Além disso, uma baixa sobrevivência embrionária pode ser resultado de uma alteração no ambiente uterino ou de uma função comprometida do CL seguido da administração das gonadotrofinas exógenas (DONOGHUE *et al.*, 1992).

As gonadotrofinas exógenas causam uma hiperestimulação ovariana e produção de folículos e CL secundários (DONOGHUE *et al.*, 1992; HOWARD *et al.* 1992), que levam a alterações hormonais importantes nas gatas domésticas (GRAHAM *et al.*, 2000).

Esta revisão tem por finalidade apresentar as principais peculiaridades da fisiologia reprodutiva das gatas e descrever os protocolos de indução do estro e ovulação abortando os efeitos colaterais dessa terapia.

## Revisão de Literatura

### 1. Fisiologia reprodutiva da gata doméstica

Para a aplicação de biotécnicas da reprodução, e principalmente no controle do ciclo estral, é importante o conhecimento da fisiologia reprodutiva da gata, incluindo as fases do ciclo e os hormônios envolvidos em cada uma delas. A gata doméstica quando comparada a outras espécies domésticas apresenta diversas peculiaridades.

A gata doméstica é classificada como poliéstrica estacional e com ovulação induzida pelo coito, apresenta ciclo estral associado ao fotoperíodo positivo (GOODROWE *et al.*, 1989; LEVYA *et al.*, 1989 ab; FELDMAN & NELSON, 1996; JOHNSTON *et al.*, 2001). A ovulação espontânea, na ausência do coito, pode ocorrer em algumas fêmeas, talvez desencadeada por estímulos visuais ou ferormônio (GUDERMUTH *et al.*, 1997).

O início da puberdade nas fêmeas felinas é bastante variável, sendo influenciado por diversos fatores como raça, época do ano e peso. De forma geral, a maioria das fêmeas apresenta a puberdade entre 4 a 12 meses de idade (JOHNSTON *et al.*, 2001), ou quando atingem pelo menos 80% do peso de adulto, geralmente ao redor de 2,3 a 3,2Kg (FELDMAN & NELSON, 1996; VERSTEGEN, 1998). As fêmeas de raças de pêlos longos ingressam mais tardiamente na puberdade quando comparadas as fêmeas de raças de pêlos curtos (JEMMETT & EVANS, 1977; GRUFFYDD-JONES, 1988).

Quando em regiões distantes da linha do Equador, as gatas sofrem grande influência do fotoperíodo, sendo favorecidas nas épocas com dias mais longos (GRUFFYDD-JONES, 1955). O período ideal de reprodução da gata está entre 1.5 a 7.0 anos, e as fêmeas fora desta faixa etária tendem a apresentar ciclos irregulares (FELDMAN & NELSON, 1996).

## 1.1. Ciclo estral

O ciclo estral nas gatas apresenta duração média de duas a três semanas, com uma ampla variação - entre 5.0 e 73 dias – (JEMMET & EVANS, 1977), especialmente devido ao desencadeamento ou não da ovulação (PAAPE *et al.*, 1975) e pode ser dividido nas seguintes fases; pro-estro, estro, interestro, diestro (pseudogestação) e anestro.

### 1.1.1. Pro-estro

Esta fase é observada apenas numa minoria das fêmeas e está associada com o aumento das concentrações séricas de estradiol secretado pelas células da granulosa dos folículos ovarianos (SHILLE *et al.*, 1979). A duração dessa fase está entre 12 a 72 horas, com média de 48 horas e se caracteriza por algumas mudanças comportamentais como; maior docilidade, vocalização, rolamento do corpo e fricção da cabeça contra objetos, lordose do posterior e atração do macho sem permitir a intromissão (FELDMAN & NELSON, 1996, JOHNSTON *et al.*, 2001)

### 1.1.2. Estro

É o estágio caracterizado pela receptividade a monta e ocorre durante o pico de atividade folicular e secreção de estradiol, com a concentração plasmática podendo alcançar 70 pg/mL (SHILLE *et al.*, 1979). A gata nessa fase apresenta acentuação dos sinais do pro-estro, exibindo lordose, desviando a cauda para a lateral, atraindo o macho e aceitando a monta (GOODROWE *et al.*, 1989; FELDMAN & NELSON, 1996; JOHNSTON *et al.*, 2001). Observa-se grande variação na duração do estro, entre 2 a 19 dias, não havendo diferença entre as fêmeas que apresentam ovulação ou não (SHILLE *et al.*, 1979; WILDT *et al.*, 1981; ROOT *et al.*, 1995). Michel (1993) sugeriu que, ao menos em parte, essas amplas variações na duração do estro sejam influenciadas por fatores ambientais, principalmente sociais e climáticos.



### 1.1.3. Interestro

Essa fase compreende o período entre um estro e o pro-estro seguinte, sendo exclusiva das espécies de ovulação induzida quando não há o desencadeamento da ovulação durante o estro (FELDMAN & NELSON, 1996). Caracteriza-se pela regressão dos folículos pré-ovulatórios e o surgimento de uma nova onda folicular, com duração média de 8 a 15 dias (SHILLE *et al.*, 1979; GOODROWE *et al.*, 1989).

### 1.1.4. Diestro (Pseudogestação)

Corresponde a fase lútea do ciclo após o estro de fêmeas com a ovulação induzida. A concentração sérica de progesterona apresenta valores de 1,5 até mais de 20 ng/mL (SCHMIDT *et al.*, 1983). O diestro dura aproximadamente 40 dias na fêmea com pseudogestação e aproximadamente 60 dias na fêmea prenhe, e termina com a luteólise, quando as concentrações plasmáticas de progesterona ficam abaixo de 1,5 ng/mL (PAAPE *et al.*, 1975; WILDT *et al.*, 1981; SCHMIDT *et al.*, 1983). Após 7 a 10 dias da luteólise pode iniciar-se uma fase de estro tanto nos animais após gestação, quanto após pseudogestação, embora a lactação possa causar anestro com duração de até 2 a 3 semanas após o desmame (WILDT *et al.*, 1981; SCHMIDT *et al.*, 1983).

### 1.1.5. Anestro

Nesse período ocorre a ausência de atividade ovariana, com folículos antrais superficiais de diâmetro médio de 0,5 mm ou menor e concentrações séricas de progesterona e estradiol em níveis basais (FELDMAN & NELSON, 1996). A duração do anestro está diretamente relacionada ao número de horas de luz por dia, assim em luminosidade decrescente ou inferior a 12 horas por dia, ocorrem longos períodos de anestro (FELDMAN & NELSON, 1996; VERSTEGEN, 1998).

## **1.2. Endocrinologia do ciclo estral**

### **1.2.1. Sazonalidade**

Em zonas de clima temperado, a estação de acasalamento das gatas se inicia de 1 a 2 meses seguindo o solstício de inverno e continua até o solstício de verão (FELDMAN & NELSON, 1996). Raças de pêlos longos parecem ser mais sensíveis ao fotoperíodo quando comparadas com as raças de pêlos curtos, com 90% e 40% dos animais mostrando anestro de inverno, respectivamente (SHILLE & SOJKA, 1995). Embora ocorra variação entre diferentes latitudes e raças, é sabido que as horas de luz por dia têm um impacto maior no desencadeamento e duração da atividade ovariana (DAWSON, 1941; SHILLE *et al.*, 1979; HURNI, 1981).

Assim como nas outras espécies com sazonalidade reprodutiva (PALMER *et al.*, 1982), nas gatas a melatonina parece ser o principal hormônio envolvido na modulação do eixo hipotálamo-hipófise-ovário (LEVYA *et al.*, 1989 ab; GRAHAM *et al.*, 2004). De forma geral, a estimulação física (luz) captada por neurônios específicos na retina é conduzida até os núcleos supraquiasmáticos do hipotálamo, a partir dos quais impulsos são conduzidos até a pineal, onde ocorre a modulação da secreção de melatonina, liberada apenas nos períodos de ausência de luz (MARTINET *et al.*, 1993; THIÉRY *et al.*, 2002).

As concentrações plasmáticas de melatonina e prolactina parecem estar relacionadas e se apresentam elevadas nas fases de anestro e interestro, e diminuídas nas de proestro e estro (VERSTEGEN, 1998). A diminuição desses hormônios está associada com o crescimento folicular terminal observado nas gatas em proestro/estro (LEVYA *et al.*, 1989a).

### **1.2.2. Crescimento folicular**

Como nas demais espécies de mamíferos, nas gatas o hormônio folículo estimulante (FSH) é primariamente responsável pelo crescimento folicular final, embora ainda pouco estudado nesta espécie (SCHMIDT, 1986; VERSTEGEN, 1986). Quando um ou mais folículos ovarianos encontram-se em crescimento final, ocorre uma secreção profusa de estradiol-17 $\beta$  que determina modificações

significativas no comportamento reprodutivo (SCHMIDT, 1986) promovendo incremento na atividade de neurônios no hipotálamo anterior, área responsável pelo comportamento sexual de estro em gatas (ROBISON & SAYER, 1987). No gato doméstico, a elevação do estradiol  $17\beta$  é importante para sensibilizar o eixo hipotálamo-hipófise para o pico de LH induzido pelo coito (BANKS & STABENFELDT, 1982). Após a ovulação, as concentrações de estradiol- $17\beta$  retornam aos níveis basais dentro de 5 dias (VERHAGE *et al.*, 1976).

Segundo Wildt *et al.* (1981), durante a gestação ocorrem continuamente períodos de crescimento e regressão de grandes folículos nos ovários das gatas, determinando picos de estradiol com algumas dessas fêmeas podendo apresentar comportamento estral. Em estudo anterior, foi observado que aproximadamente 10% das gatas gestantes apresentaram sinais típicos de estro e até mesmo copularam durante a gestação (VERHAGE *et al.*, 1976). Contudo, Tsutsui & Stabenfeldt (1993) relataram que as gatas prenhes que manifestam sinais de estro não apresentam elevação nas concentrações séricas de estradiol ou onda de LH, sugerindo que os comportamentos de estro e de cópula podem ocorrer sem a presença de crescimento folicular no ovário.

### **1.2.3. Ovulação**

Nas gatas domésticas durante o coito ocorre uma estimulação mecânica (CUEVA-RÓLON *et al.*, 1994) que modula a secreção de GnRH, determinando a liberação pulsátil de LH e subsequente ovulação (ROBINSON & SAWYER, 1987). Essa liberação de LH apresenta ampla variação individual, tanto na amplitude quanto na duração (GLOVER *et al.*, 1985), ocorrendo, de forma geral, cerca de 15 minutos após a cópula ou estímulo similar, com pico em duas horas e retorno aos níveis basais em oito horas (CONCANNON *et al.*, 1980; JOHNSON & GAY, 1981b). A ovulação ocorre entre 24 a 54 horas após a estimulação, com ruptura simultânea de todos os folículos pré-ovulatórios (FPOs) (2,5 a 3,5 mm) presentes nos ovários (CONCANNON *et al.*, 1980; WILDT *et al.*, 1980, 1981; SHILLE *et al.*, 1983).

A magnitude do pico de LH é maior quando aumenta-se o número de cópulas, e metade das fêmeas com uma única cópula secretam quantidade adequada de LH para induzir a ovulação (CONCANNON *et al.*, 1980; WILDT *et al.*, 1980; JOHNSON & GAY, 1981 ab). Em algumas fêmeas, mesmo três cópulas em um intervalo de 30 minutos podem não resultar em indução da ovulação, presumivelmente, devido ao fato de que algumas gatas permitem a cópula antes da maturação completa dos folículos (PAAPE *et al.*, 1975; TSUTSUI & STABENFELDT, 1993). Glover *et al.* (1985) observaram que a cópula única no primeiro dia de estro pode não desencadear a liberação de LH, enquanto que no segundo dia promove a liberação deste hormônio.

Banks & Stabenfeldt (1982) reportaram que a habilidade da gata em liberar o LH em resposta ao coito é dependente do tempo de exposição do estrógeno no hipotálamo e/ou glândula pituitária anterior. Desta forma, no terceiro dia do estro, uma única cópula costuma ser eficiente para induzir a ovulação (TSUTSUI & STABENFELDT, 1993). Para uma maior eficiência na indução da ovulação, recomenda-se que os animais efetuem pelo menos quatro cópulas em um período de duas horas, preferencialmente evitando o primeiro dia de aceitação do macho pela fêmea (SCHMIDT *et al.*, 1983; WILDT *et al.*, 1981; TSUTSUI & STABENFELDT, 1993).

Apesar da gata ser classificada como uma espécie de ovulação induzida por estimulação física do aparelho genital, estudos demonstraram que uma alta porcentagem das fêmeas - 35% (LAWLER *et al.*, 1993) e 67% (GUDERMUTH *et al.*, 1997; GRAHAM *et al.*, 2000) - apresentaram ovulação sem o estímulo do coito ou similar, quando mantidas em grupo. Segundo Bakker & Baum (2000), a separação entre animais de ovulação induzida e espontânea não é tão rígida, com inúmeros fatores que podem levar, ao menos parcialmente, animais de ovulação induzida a apresentarem ovulação espontânea e vice e versa.

## **2. Controle do ciclo estral e ovulação**

### **2.1. Manipulação do fotoperíodo**

Por se tratarem de animais de ciclo estral fotoperíodo positivo, o controle artificial da luminosidade do ambiente no qual as gatas são criadas pode exercer uma marcada influência sobre a reprodução. Nesse sentido, a manipulação da luminosidade, que é utilizada empiricamente por criadores comerciais de gatos como maneira de bloquear ou induzir o ciclo estral, veem sendo utilizada experimentalmente (SCOTT & LLOYD-JACOB, 1959). Esse controle do ciclo estral também apresenta grande importância como ferramenta adicional às técnicas de reprodução assistida, especialmente quando se objetiva o uso de gonadotrofinas exógenas e/ou a TE (POPE, 2000).

Quando as fêmeas são mantidas sob fotoperíodo constante, não há presença da influência sazonal no ciclo estral (SHILLE *et al.*, 1979; SCOTT & LLOYD-JACOB, 1959; DAWSON, 1941; HURNI, 1981). Aumentando o fotoperíodo para 24 horas de luz e 0 horas de escuridão estimula-se longos períodos de estro, aumento na foliculogênese e no peso do ovário, contudo esse método não é tão efetivo para a indução do estro quanto 14 horas de luz e 10 horas de escuridão (LEVYA & STABENFELDT, 1983). Segundo Shille & Sojka (1995), animais mantidos com um mínimo de 10 horas de luz artificial (equivalente a 100 watt em uma sala de 4 X 4 metros) podem ciclar durante todo ano.

### **2.2. Indução mecânica da ovulação**

A ovulação na gata normalmente ocorre por intermédio de um reflexo neuroendócrino iniciado com uma estimulação mecânica dos receptores sensoriais na pele da região perineal, da vulva, vagina e cérvix durante o coito (CUEVA-ROLÓN *et al.*, 1994). Assim, é sabido que a ovulação pode ser induzida por estimulação similar ao coito, como por movimentos rítmicos no posterior e na base da cauda, que podem ser suficientes para desencadear o processo (LOFSTEDT, 1982), ou por

estímulo da vagina. Para a estimulação intravaginal pode-se utilizar uma haste ou um *swab* de algodão por pelo menos 4 a 8 vezes com intervalos de 5 a 20 minutos e duração de apenas 2 a 5 segundos (FELDMAN & NELSON, 1996). Como na monta natural, estimulações repetidas não induzem a ovulação em todas as fêmeas, porém em algumas gatas a sondagem repetida por vários dias série pode promover a ovulação (FELDMAN & NELSON, 1996).

### **2.3. Estímulo social**

Experimentalmente, foi comprovada a influência ou modulação do “efeito macho” (ADAMS & COX, 1966; MICHEL, 1993) e “efeito fêmea” (MICHEL, 1993) sobre a ciclicidade das fêmeas felinas, sendo estes efeitos também importantes no desencadeamento da ovulação, sem precedência de cópula (GUDERMUTH *et al.*, 1997; GRAHAM *et al.*, 2000). Gubermuth *et al.* (1997) observaram em gatas jovens que a incidência de ovulação espontânea por um determinado período foi de 11% antes da introdução do macho e de 31% imediatamente após a introdução do macho, levantando a possibilidade de uma influência de ferormônios.

Mattos (2004), após manter gatas em períodos prolongados de escuridão (17 horas) e contato social (audiovisual e olfatório) com o macho, observou a permanência da atividade reprodutiva normal, demonstrando a influência do “efeito macho” sobre a ciclicidade das fêmeas.

### **2.4. Gonadotrofinas exógenas**

Em gatos domésticos, o desenvolvimento folicular pode ser estimulado através da utilização do FSH ou eCG exógenos e a maturação final dos folículos e ovulação podem ser induzidos com aplicação de GnRH ou hCG. Existem diversos protocolos com esses hormônios associados ou isolados, em diferentes doses e frequências de aplicações, sendo que alguns deles estão no quadro 1.

**Quadro 1.** Principais protocolos hormonais para indução de estro e ovulação nas gatas domésticas.

Hormônio	Protocolo	Via	Referência
FSHp	2 mg/dia, por 5 dias	IM	WILDT <i>et al.</i> , 1978a; GOODROWE <i>et al.</i> , 1986
FSHp	0,5 -1,5 mg/dia, por 5 dias e 0,25 mg No 6º dia	IM	DRESSER <i>et al.</i> , 1987
FSHp	5 mg/dia por 4 dias, após 2 mg SID por mais 5 dias	SC/ IM	SANCHEZ & SILVA, 2003
FSHp + hCG	1,5-1,5 mg/dia de FSHp por 5 dias, 0,25 mg de FSHp no 6º dia + 350-750UI de hCG no 6º dia	IM	DRESSER <i>et al.</i> , 1987
FSHp + hCG	2 mg/dia de FSH por 3 a 7 dias até início do estro e após 250UI de hCG		WILDT <i>et al.</i> , 1978b
FSHp + hCG	2 mg/dia de FSHp por 5-7 dias + 250UI de hCG no último dia do FSHp	IM	KRAEMER <i>et al.</i> , 1979
FSHp + hCG	2 mg/dia de FSHp por 5 dias + 250UI de hCG nos dias 2 e/ou 3 do estro	IM	GOODROWE <i>et al.</i> , 1988a
FSHp + hCG	2 mg de FSH no 1º dia e 1 mg/dia até 1º ou 2º dias do estro e 500UI de hCG no 1º ou 2º dia do estro	IM	TSUTSUI <i>et al.</i> , 1989
FSHp + hCG	1 a 6 mg/dia de FSHp por 4 dias em doses decrescentes + 100UI de hCG no 5º dia	IM	POPE <i>et al.</i> , 1993
FSHp + hCG	2 mg de FSH/dia por 5 dias + 250UI de hCG no 6º dia	IM	VERSTEGEN <i>et al.</i> , 1993
hMG + hCG	hMG (15UI de FSH e LH) por 5 dias e 34h após + 100UI de hCG	IM	OROSZ <i>et al.</i> , 1992
GnRH	Aplicação única de 25 µl	IM	CHAKRABORTY <i>et al.</i> , 1979
eCG + hCG	150UI de eCG + 100UI de hCG 80 a 84 horas após	IM/ IV	SWANSON & GODKE, 1994; SWANSON <i>et al.</i> , 1997 DONOGHUE <i>et al.</i> , 1992
eCG + hCG	50UI de eCG/dia por 3 dias + 150UI de hCG no 4º dia	IM	WHEELER <i>et al.</i> , 1988
eCG + hCG	150UI de eCG + 100 ou 200UI de hCG 72 ou 80 horas após	IM	GOODROWE <i>et al.</i> , 1988 <sup>a</sup>
eCG + hCG	100UI de eCG + 75-100UI de HCG 80 horas após	IM	HOWARD <i>et al.</i> , 1992

Em alguns protocolos a viabilidade dos ovócitos parece estar relacionada com o intervalo entre a administração do eCG e hCG, de maneira que se o intervalo for muito pequeno (menos que 80 horas) ou muito grande (mais que 88 horas), a qualidade dos ovócitos e taxa de clivagem *in vitro* são comprometidas (GOODROWE *et al.*, 1988a; DONOGHUE *et al.*, 1992).

#### **2.4.1. Indução da ovulação**

A primeira utilização de uma gonadotrofina parcialmente purificada para estimular a ovulação em gatas foi reportada por Colby (1970), que administrou injeções de eCG numa série de oito dias. Embora com resultado de prenhez após o cruzamento das fêmeas tratadas com esse protocolo, apenas algumas foram capazes de levar a gestação a termo, num período de 3 a 7 dias maior comparado com as fêmeas não tratadas

Em fêmeas com estro natural, injeções únicas de hCG nas doses de 50, 100, 250 ou 500 UI no primeiro dia do estro resultaram em uma taxa média de ovulação (% de folículos maduros ovulados) de 32, 25, 67 e 100%, respectivamente (WILDT & SEAGER, 1978). Em contra partida, injeções únicas com as mesmas doses no primeiro e no segundo dia do estro mudaram a taxa de ovulação para 42, 74, 85 e 96%, respectivamente. Contudo, todos os animais recebendo duas injeções de hCG com doses de 100, 250 e 500UI exibiram uma resposta ovulatória (WILDT & SEAGER, 1978).

A dose de 100UI de hCG é, freqüentemente, mais eficiente para induzir a ovulação quando administrada no terceiro dia do estro, em comparação com os dias 1 e 2 (DONOGHUE *et al.*, 1993). Tanaka *et al.* (2000) obtiveram nos gatos domésticos taxas de ovulação (% de animais ovulados) de 100% com 100UI de hCG em 2 doses com intervalos de 24 horas e de 91,7% após aplicação de 250UI de hCG em dose única, ambos nos dias 2 a 4 do estro natural.



Utilizando-se 25 µg de GnRH no segundo dia do estro a ovulação é induzida na maioria dos animais tratados (CHAKRABORTY *et al.*, 1979), promovendo a ovulação de 100% dos folículos presentes. Um regime de montas (3 vezes por dia a cada 3 horas nos 3 primeiros dias do estro) e aplicação de hCG (250UI nos dias 2 e 3 do estro) são combinados, observa-se um aumento de duas vezes no número de CL, tanto nos animais com estro natural ou induzido por FSHp, quando comparado com a utilização destes estímulos separadamente ou com o uso do GnRH mais a monta natural ou apenas do GnRH (GOODROWE & WILDT, 1987). Esse aumento na taxa de ovulação não reduz o número de folículos anovulatórios de aparência cística nas fêmeas recebendo o FSHp (WILDT *et al.*, 1978a).

A combinação do coito e hCG nas gatas em estro natural resulta em um aumento de cinco vezes no número de folículos não ovulatórios, comparado com o observado no estímulo exógeno (hCG ou monta natural) quando utilizado separadamente (GOODROWE & WILDT, 1987), sendo provavelmente um resultado do sinergismo do hCG com uma liberação induzida pela monta de FSH pela pituitária.

A ovulação nos gatos domésticos, geralmente, ocorre dentro de 26 a 29 horas após o tratamento com hCG (Sojka *et al.*, 1970). Howard *et al.* (1992), trabalhando com IA, observaram que após 25 a 33 horas da aplicação do hCG nenhuma gata tinha ovulado, enquanto que, após 31 a 50 horas todas apresentavam corpo lúteo. Tsutsui *et al.* (2000) observaram que mais de 40% das fêmeas tinham ovulado após 15 e 20 horas do hCG, sugerindo a existência de uma grande variação entre os tempos de ovulação após indução com hCG, entretanto não descartaram a possibilidade da ocorrência de ovulação espontânea, uma vez que estas fêmeas foram mantidas em colônias (Lawler *et al.*, 1993).

#### 2.4.2. Indução do estro e atividade ovariana

Extrato de pituitária bruta de FSH e LH foi utilizada para induzir o desenvolvimento folicular, comportamento de estro e ovulação no gato doméstico (FOSTER & HISAW, 1935). Posteriormente, injeções múltiplas de eCG (doses de 100 a 1000UI) foram utilizadas para induzir o crescimento folicular, sendo reportado uma hiperestimulação ovariana incluindo superovulação (60CL/gata) e formações de numerosos folículo anovulatórios de aparência cística (maior que 5mm em diâmetro) após o tratamento (COLBY, 1970; WILDT *et al.*, 1978a; CLINE *et al.*, 1980).

A administração de eCG em dose única (100UI) em gatas em anestro seguida de uma injeção de hCG (50UI) após 5 a 7 dias produziu resultados de ovulação e de prenhez comparáveis à monta natural (CLINE *et al.*, 1980). Contudo, quando injeções diárias de eCG foram utilizadas por um período de 4 a 5 dias, menos prenhez e uma diminuição na sobrevivência dos filhotes na desmama foram observados (CLINE *et al.*, 1980). Assim, pode-se concluir que os ovários das gatas são sensíveis a uma super dosagem do eCG e que quando administrado em uma alta dose ou em uma seqüência de injeções ocorrem hiperestimulação ovariana e produção de folículos císticos com alteração do perfil hormonal (COLBY, 1970; WILDT *et al.*, 1978a; CLINE *et al.*, 1980).

Segundo Donoghue *et al.* (1993), não existe evidência que o tratamento com eCG/hCG compromete a qualidade do ovócito ou subsequente habilidade de fertilização *in vitro*. Pelo contrário, o uso dessas gonadotrofinas melhorou a eficiência da FIV, aumentando o número total de embriões de alta qualidade.

Quando o FSHp é administrado apenas uma vez, poucos animais exibem estro, embora atividade folicular seja observada laparoscopicamente em quase todas as fêmeas tratadas (WILDT *et al.*, 1978a). Essa mesma gonadotrofina dada em doses diárias de 2mg por 5 a 7 dias geralmente produz resposta comportamental e desenvolvimento folicular satisfatórios e uma porcentagem relativamente alta (aproximadamente 72%) de prenhez com filhotes normais, após monta natural (WILDT *et al.*, 1978a). O tratamento com FSHp também produz uma resposta gonadal mais pronunciada com um maior número de folículos anovulatórios de

aparência cística (GOODROWE & WILDT, 1987) do que o observado no estro natural, mesmo reduzindo-se a dose de 2 mg para 1 mg por dia (WILDT *et al.*, 1978a). Goodrowe *et al.* (1988a), utilizando 2 mg/ dia de FSH por 5 dias, observaram que as taxas de fertilização e qualidade embrionária nas gatas parecem ser comprometidas por este protocolo, provavelmente, devido a alterações nas concentrações de estradiol 17 $\beta$  e progesterona.

Comparando a utilização das gonadotrofinas FSH e eCG, Takaya (1989) relatou uma taxa de recuperação embrionária superior com o uso do eCG. Segundo Pope (2000), gatas tratadas com eCG apresentam características funcionais de fase luteal mais próximas do normal, especialmente nos níveis hormonais séricos. Outra vantagem do eCG está no fato que, devido a sua maior persistência na circulação (120 horas - SWANSON *et al.*, 1997), este é aplicado em dose única (CLINE *et al.*, 1980), diferente do FSH que necessita de múltiplas injeções (WILDT *et al.*, 1978a). Desta forma, o eCG é mais prático para a utilização também em felinos selvagens, reduzindo o manejo e conseqüentemente o estresse.

Estudos do sistema neuroendócrino em ratos demonstraram que a secreção de LH está sob o controle de opióides, uma vez que as  $\beta$ -endorfinas atuam nos receptores  $\mu$  e inibem a secreção hipotalâmica de GnRH (KALRA *et al.*, 1993). Em adição, foi relatado que a administração de naloxone, um antagonista do opióide, inibe o tônus opioidérgico endógeno induzindo o estabelecimento do proestro (CONCANNON, 1993). Audi *et al.* (2001) utilizando uma única aplicação de hCG (1000UI), para estimular um rápido aumento dos receptores de LH, seguido de quatro aplicações diárias de naloxone e cálcio em gatas domésticas obtiveram um índice de 88,8% das fêmeas apresentando sinais de estro e subsequente ovulação e 75% de prenhez após cobertura natural.

### 2.4.3. Hiperestimulação ovariana e baixos índices reprodutivos

De forma geral, o felino doméstico responde bem ao tratamento gonadotrófico, no que diz respeito à indução de crescimento folicular, ovulação e comportamento estral (POPE, 2000). No entanto, apresenta baixos resultados de fecundação *in vitro* e *in vivo* (GOODROWE *et al.*, 1988a), bem como de gestação e número de filhotes (PLATZ *et al.*, 1978; HOWARD *et al.*, 1992; GOODROWE *et al.*, 1988; ROTH *et al.*, 1995; POPE, 2000).

Apesar de pouco estudado nos gatos, o transporte espermático é sabidamente prejudicado em tigres após tratamento com gonadotrofinas (WILDT *et al.*, 1987 *apud* GOODROWE *et al.*, 1988a). Nas gatas domésticas também foi observado que, após o tratamento com eCG ou hCG, múltiplos folículos ancilários (DONOGHUE *et al.*, 1992) e CL acessórios (GOODROWE *et al.*, 1988a; HOWARD *et al.*, 1992) estavam presentes de 6 a 7 dias após aspiração folicular ou IA.

O eCG foi responsabilizado por recrutar oócitos e/ou produzir embriões ambos com baixa qualidade, sendo a causa para a menor taxa de prenhez e pequeno tamanho da ninhada observada após o tratamento gonadotrófico. Contudo, Roth *et al.* (1997) rejeitaram esta hipótese após observarem que gatas tratadas com eCG e cruzadas naturalmente produziram muitos embriões de boa qualidade, sendo que pelo menos metade foram capazes de se desenvolver em blastocisto *in vitro*. Esses autores sugeriram que outros fatores, talvez o momento da inseminação ou algum componente desconhecido do processo de IA, sejam, responsáveis pela redução no sucesso de prenhez e do pequeno tamanho das ninhadas. Em concordância, Swanson *et al.* (1996a) utilizando soro anti-eCG não relataram diferença no número médio de folículos e de CLs secundários e na concentração sérica média de progesterona entre os grupos com e sem o tratamento com o soro.

Embora o hCG seja conhecido pela sua atividade luteotrófica, este demonstrou capacidade de estimular o crescimento e a maturação de folículos antrais pequenos (< que 2 mm de diâmetro) (SWANSON *et al.*, 1997). Assim, a atividade foliculogênica do hCG associada a sua persistência na circulação (96 horas – SWANSON *et al.*, 1997) sugere que este seja responsável pelo desenvolvimento de folículos ancilários

após ovulação. Contudo, o eCG quando administrado antes do hCG estimula um crescimento folicular adicional e potencializa a resposta dos folículos antrais jovens à atividade foliculogênica e luteotrófica intrínseca do hCG.

Uma relação similar, provavelmente, ocorre com os protocolos de FSH e hCG, uma vez que gatas em anestro e tratadas com múltiplas injeções de FSH seguida de hCG também desenvolvem folículos secundários vários dias após a ovulação (WILDT *et al.*, 1978a). Mais adiante, a persistência do hCG na circulação e seu prolongado efeito luteotrófico podem explicar a luteinização dos folículos secundários e subsequente formação de CLs secundários (SWANSON *et al.*, 1997).

As alterações no padrão endócrino (progesterona e estradiol  $17\beta$ ), possivelmente associadas com as estruturas ovarianas secundárias (folículos e CLs), podem levar a mudanças de cunho hormonal no ambiente do oviduto e do útero (GIDLEY –BAIRD *et al.*, 1986) e, conseqüentemente, ter impacto na sobrevivência dos embriões.

Em vacas, protocolos de superovulação usando eCG têm sido associados com o desenvolvimento de folículos ovarianos adicionais após a ovulação, que por sua vez podem ser a causa da recuperação de embriões de baixa qualidade nestes animais (BOOTH *et al.*, 1975).

Nas gatas foi observado que após tratamento com eCG e hCG as concentrações fecais de estradiol  $17\beta$  e de progesterona foram maiores quando comparadas as fêmeas com estro e monta naturais (GRAHAM *et al.*, 2000). O estradiol fecal nos animais tratados com gonadotrofinas exógenas apresentou pico mais tardiamente e permaneceu elevado por um período maior, e embora o padrão endócrino nessas gatas não tenha influenciado a qualidade embrionária ou estágio de desenvolvimento, o transporte embrionário através do oviduto foi, aparentemente, afetado (GRAHAM *et al.*, 2000). Esses achados sugerem que a elevação do estradiol, produzido pelos folículos secundários, pode retardar o transporte embrionário do oviduto para o útero. Suportando esta conclusão, existem estudos demonstrando que a administração exógena de estradiol pode retardar o transporte do embrião felino no oviduto (HERRON & SIS, 1974). Assim, a disfunção do

transporte embrionário pelo oviduto, devido a excessiva secreção de estradiol nos felinos tratados com gonadotrofinas exógenas, pode ser um fator contribuinte para um ambiente materno alterado e baixa fertilidade após IA.

A supressão da atividade ovariana endógena antes da IA e IVF/TE aumenta a taxa de prenhez em várias espécies. Em vacas, o controle hormonal do ciclo estral para inibir o desenvolvimento folicular e induzir a luteólise prematura pode aumentar as taxas de concepção após IA (MACMILLAN & BURKE, 1996).

Graham *et al.* (2004) induziram nas gatas domésticas a supressão da atividade ovariana através da administração oral de melatonina e observaram que este tratamento prévio foi apenas marginalmente efetivo em minimizar a hiperestimulação ovariana causada pela utilização do eCG/hCG. Desta forma, talvez a hiperatividade ovariana nos felinos tratados com as gonadotrofinas exógenas não seja apenas devido às diferenças no estágio do ciclo estral no momento da administração das gonadotrofinas, mas também seja relacionada a diferenças de sensibilidade individuais ao eCG e hCG.

#### **2.4.4. Resposta imunológica ao uso das gonadotrofinas exógenas**

A estimulação repetida com eCG e hCG leva a uma resposta imune humoral com produção de imunoglobulinas ligadoras de gonadotrofinas que reduzem a atividade biológica dessas proteínas (SWANSON *et al.*, 1995). Roy *et al.* (1999), trabalhando com cabras, verificaram que os anticorpos IgG produzidos pela administração do eCG têm um efeito negativo na fertilidade subsequente, e que este fenômeno se correlaciona com o retardamento do estro e uma onda de LH mais tardia.

As gatas domésticas quando estimuladas repetidamente com eCG/hCG, com um intervalo curto (45 a 50 dias), demonstraram uma redução significativa tanto no desenvolvimento folicular quanto na maturidade dos oócitos recuperados destes folículos a partir do terceiro tratamento (SWANSON *et al.*, 1995). Assim, intervalos de pelo menos 4 meses entre os sucessivos tratamentos com as gonadotrofinas

exógenas são recomendados (SWANSON *et al.*, 1996b) para reduzir a resposta imune.

A ciclicidade natural parece não ser inibida pela presença das imunoglobulinas neutralizantes eCG/hCG, uma vez que de um a dois meses depois do quarto tratamento, sinais comportamentais de estro foram detectados e múltiplos folículos observados após laparoscopia (SWANSON *et al.*, 1995). O tratamento das fêmeas, que eram refratárias ao eCG/hCG, com um protocolo de FSHp/hCG causou um efeito rebote no desenvolvimento de folículos ovarianos, mas não na maturidade dos oócitos (SWANSON *et al.*, 1995). Desta forma, embora regimes alternativos com gonadotrofinas possam minimizar esta refratariedade, uma estratégia preferível é evitar as complicações imunológicas através do uso cauteloso do eCG e hCG nos felinos.

## Considerações finais

Embora existam vários protocolos para a estimulação do crescimento folicular e da ovulação, ainda não foi estabelecido nenhum regime ideal nos gatos domésticos. Protocolos utilizando esteróides ou análogos de GnRH para suprimir a atividade ovariana endógena assim como mudanças nos tipos e momento do tratamento com as gonadotrofinas exógenas são alternativas que podem ser investigadas para melhorar a eficiência da indução hormonal nos felinos.

A despeito de Swanson *et al.* (1995) terem observado que gatas tratadas com várias aplicações de gonadotrofinas exógenas apresentaram ciclicidade normal, outros estudos, no entanto, relataram apenas por observações casuais danos à fertilidade futura das fêmeas doadoras e receptoras após tratamento hormonal, tais como duração do ciclo estral alterada, ocorrência de cistos ovarianos, cópulas sucessivas sem gestação, reabsorção embrionária, fibroadenoma mamário e piometra. Assim, se comprovados, estes danos podem inviabilizar a utilização comercial de algumas técnicas de biotecnologia, bem como a extrapolação para outra espécie de felinos.

Desta forma, diante dos vários inconvenientes relatados, são necessários novos estudos para o desenvolvimento de um protocolo ideal de sincronização do estro, crescimento folicular final e indução da ovulação em felinos, promovendo a produção de oócitos de qualidade, bom desenvolvimento embrionário e crias viáveis.



## Referências Bibliográficas

ADAMS, S.S.; COX, E.M. Establishing a cat breeding colony. **Journal of the Institute of Animal Technicians**, v.17, p.97-102, 1966.

AUDI, G.; CINONE, M.; SCIORSCI, R.L.; MINOIA, P. Induction of fertile oestrus in cats by administration of hCG and calcium-naloxone. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.57, p.335-337, 2001.

BAKKER, J.; BAUM, M.J. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v.21, p.220-262, 2000.

BANKS, D.H.; STABENFELDT, G.H. Luteinizing hormone release in the cat in response to coitus on consecutive days of estrus. **Biology of Reproduction**, v.26, p.603-611, 1982.

BOOTH, W.D.; NEWCOMB, B.; STRANGE, H.; ROWSON, L.E.A. SACHER, H.B. Plasma oestrogen and progesterone in relation to superovulation and egg recovery in the cow. **Veterinary Record**, v.97, p.366-369, 1975.

CHAKRABORTY, P.K.; WILDT, D.E.; SEAGER, S.W.J. Serum luteinizing hormone and ovulatory response to luteinizing hormone releasing hormone in the estrous and anestrous cat. **Laboratory Animal Science**, v.29, p.338-344, 1979.

CITES. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna, part of the Endangered Species Act (PL 93-205, 93<sup>rd</sup> Congress) and in 50 appendices. Code Fed. Reg., part 23. 1973.

CLINE, E.M.; JENNINGS, L.L.; SOJKA, N.J. Breeding laboratory cats during artificially induced estrus. **Laboratory Animal Science**, v.30, p.1003-1005, 1980.

COLBY, E.D. Induced estrus and timed pregnancies in cats. **Laboratory Animal Care**, v.20, 1075-1080, 1970.

CONCANNON, P.W. Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.47, 3-27, 1993.

CONCANNON, P.W.; HODGSON, B.; LEIN, D. Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulation. **Biology of Reproduction**, v.23, p.111-117, 1980.

CUEVA-RÓLON, R.; MUÑOZ-MARTÍNEZ, E.J.; DELGADO-LEZAMA, R.; RAIÁ, J.G. The cat pudendal nerve: afferent fibers responding to mechanical stimulation of the perineal skin, the vagina or the uterine cervix. **Brain Research**, v.29, p.1-6, 1994.

DAWSON, A.B. Early estrus in the cat following increased illumination. **Endocrinology**, v.28, p.907-910, 1941.

DONOGHUE, A.M.; JOHNSTON, L.A.; MUNSON, L.; BROWN, J.L.; WILDT, D.E. Influence of gonadotropin treatment interval on follicular maturation, *in vitro* fertilization, circulating steroid concentrations, and subsequent luteal function in the domestic cat. **Biology of Reproduction**, v.46, p.972-980, 1992.

DONOGHUE, A.M.; JOHNSTON, L.A.; GOODROWE, K.L. Influence of day of oestrus on egg viability and comparative efficiency of *in vitro* fertilization in domestic cats in natural or gonadotropin-induced oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.98, p.85-90, 1993.

DRESSER, B.L.; SEHLHORSET, C.S.; WACHS, K.B.; KELLER, G.L.; GELWICKS, E.J.; TURNER, J.L. Hormonal stimulation and embryo collection in the domestic cat (*Felis catus*). **Theriogenology**, v.28, p.915-927, 1987.

FELDMAN, E.C.; NELSON, R.W. **Canine and Feline Endocrinology and Reproduction**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996. 785p.

FOSTER, M.A.; HISAW, F.L. Experimental ovulation and the resulting pseudopregnancy in anoestrous cats. **Anatomical Records**, v.62, p.75-93, 1935.

GIDLEY-BAIRD, A.A.; O'NEIL, C.; SINOSICH, M.J.; PORTER, R.N.; PIKE, I.L.; SAUNDERS, D.M. Failure of implantation in human *in vitro* fertilization and embryo transfer patients: the effects of altered progesterone/estrogen ratios in mice and humans. **Fertility and Sterility**, v.45, p.69-74, 1986.

GLOVER, T.E.; WATSON, P.F.; BONNEY, R.C. Observations on variability in the LH release and fertility during oestrus in the domestic cat (*Felis catus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v.75, p.145-152, 1985.

GOODROWE, K.L.; HOWARD, J.G.; WILDT, D.E. Embryo recovery and quality in the domestic cat: natural versus induced oestrus. **Theriogenology**, v.25, p.156, 1986.

GOODROWE, K.L.; WILDT, D.E. Ovarian response to human chorionic gonadotropin or gonadotropin releasing hormone in natural and induced-estrus cats. **Theriogenology**, v.27, p.811-817, 1987.

GOODROWE, K.L.; HOWARD, J.G.; WILDT, D.E. Comparison of embryo recovery, embryo quality, oestradiol-17 $\beta$  and progesterone profiles in the domestic cats (*Felis catus*) at natural or induced oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.82, p.553-561, 1988a.

GOODROWE, K.L.; WALL, R.J.; O'BRIEN, S.J.; SCHMIDT, P.M.; WILDT, D.E. Developmental competence of domestic cat follicular oocytes after fertilization *in vitro*. **Biology of Reproduction**, v.39, 355-372, 1988b.

GOODROWE, K.L.; HOWARD, J.G.; SCHMIDT, P.M.; WILDT, D.E. Reproductive biology of domestic cat with special reference to endocrinology, sperm function and *in vitro* fertilization. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.30, p.73-90, 1989.

GRAHAM, L.H.; SWANSON, W.F.; BROWN, J.L. Chorionic gonadotropin administration in domestic cats causes an abnormal endocrine environment that disrupts oviductal embryo transport. **Theriogenology**, v.54, p.1117-1131, 2000.

GRAHAM, L.H.; SWANSON, W.F.; WILDT, D.E.; BROWN, J.L. Influence of oral melatonin on natural and gonadotropin-induced ovarian function in the cat. **Theriogenology**, v.61, p.1061-1076, 2004.

GRUFFYDD-JONES, T.J. Some aspects of reproduction in cats. **Advances in Small Animal Practice**, v.7, p.68-77, 1955.

GUBERMUTH, D.F.; NEWTON, L.; DAELS, P.; CONCANNON, P. Incidence of spontaneous ovulation in young, group-housed cats based on serum and faecal concentrations of progesterone. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.51, p.177-184, 1997.

HERRON, M.A.; SIS, R.F. Ovum transport in the cat and the effect of estrogen administration. **American Journal of Veterinary Research**, v.35, p.1277-1279, 1974.

HOWARD, J.G., BARONE, M.A., DONOGHUE, A.M., WILDT, D.E. The effect of pre-ovulatory anaesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cat. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.96, p.175-86, 1992.

HURNI, H. Daylength and breeding in the domestic cat. **Laboratory Animals**, v.15, p.229-233, 1981.

JEMMETT, J.E.; EVANS, J.M. A survey of sexual behaviour and reproduction of female cats. **Journal of Small Animal Practice**, v.18, p.31-37, 1977.

JOHNSON, L.M.; GAY, V.L. Luteinizing hormone in the cat. I. Tonic secretion. **Endocrinology**, v.109, p.240-252, 1981a.

JOHNSON, L.M.; GAY, V.L. Luteinizing hormone in the cat. II. Mating-induced secretion. **Endocrinology**, v.109, p.247-252, 1981b.

JOHNSTON, S.D.; ROOT, M.V.; OLSON, P.N.S. **Canine and Feline Theriogenology**. Philadelphia: Saunders, 2001. 592p.

KALRA, S.P.; SAHU, A.; KALARA, P.S. Ageing of the neuropeptidergic signals in rats. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.46, p.11-19, 1993.

KRAEMER, D.C.; FLOW, B.L.; SCHRIVER, M.D.; KINNEY, G.M.; PENNYCOOK, J.W. Embryo transfer in the nonhuman primate, feline and canine. **Theriogenology**, v.11, p.51-62, 1979.

LAWLER, D.F.; JOHNSTON, S.D.; HEGSTAD, R.L.; KELTNER, D.G.; OWENS, S.F. Ovulation without cervical stimulation in domestic cats. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.47, p.57-61, 1993.

LEVYA, H.; STABENFELDT, G.H. Manipulation of the estrous cycle of the cat with photoperiod and melatonin. **Biology of Reproduction**, v.28, p.122, 1983.

LEVYA, H.; MADLEY, T.; STABENFELDT, G.H. Effect of light manipulation on ovarian activity and melatonin and prolactin secretion in the domestic cat. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.39, p.125-133, 1989a.

LEVYA, H.; MADLEY, T.; STABENFELDT, G.H. Effect of melatonin on photoperiod responses, ovarian secretions of oestrogen and coital responses in the domestic cat. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.39, p.135-142, 1989b.

LOFSTEDT, R.M. The estrous cycle of the domestic cat. **Compendium of Continuous Education**, v.4, p.52, 1982.

MACMILLAN, K.L.; BURKE, C.R. Effects of estrous cycle control on reproduction efficiency. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p.307-320, 1996.

MARTINET, L.; TOUMI, F.N.; BONNEFOND, C. Photoperiodic control of reproduction of the mink: the role of melatonin. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.47, p.560, 1993.

MATTOS, M.R.F. **Resposta ovariana, qualidade embrionária e retorno à atividade reprodutiva natural em felinos domésticos (*Felis catus*) submetidos a diferentes tratamentos hormonais para indução do estro e ovulação**. 2004. 156p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

MICHEL, C. Induction of oestrus in cats by photoperiodic manipulations and social stimuli. **Laboratory Animals**, v.27, p.278-280, 1993.

OROSZ, S.; MORRIS, P.; DOODY, M.; NIEMAYER, G.; CORTELYOU LEE, J.; EATON, N.; LOTHROP, C. Stimulation of folliculogenesis in domestic cats with human FSH and LH. **Theriogenology**, v.37, p.993-1004, 1992.

PAAPE, S.R.; SHILLE, V.M.; SETO, H.; STABENFELDT, G.H. Luteal activity in the pseudopregnancy cat. **Biology of Reproduction**, v.13, p.470-474, 1975.

PALMER, E.; DRIANCOURT, M.A.; ORTAVANT, R. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.32, p.275, 1982.

PLATZ, C.C.; WILDT, D.E.; SEAGER, S.W.J. Pregnancy in the domestic cat after artificial insemination with previously frozen spermatozoa. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.52, p.279-282, 1978.

POPE, C.E.; KELLER, G.L.; DRESSER, B.L. *In vitro* fertilization in domestic and non-domestic cats including sequences of early nuclear events, development *in vitro*, cryopreservation and successful intra- and interspecies embryo transfer. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.43, p.189-201, 1993.

POPE, C.E. Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. **Theriogenology**, v.53, p.163-174, 2000.

ROBISON, B.L.; SAWYER, C.H. Hypothalamic control of ovulation and behavioral estrus in the cat. **Brain Research**, v.418, p.41-51, 1987.

ROTH, T.L.; SWANSON, W.F.; WILDT, D.E. Developmental competence of domestic cat embryos fertilized *in vivo* versus *in vitro*. **Biology of Reproduction**, v.51, p.441-451, 1994.

ROOT, M.V.; JOHNSTON, S.D.; OLSON, P.N.S. Estrous length, pregnancy rate, gestation and parturition lengths, litter size, and juvenile mortality in the domestic cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.31, p.429-433, 1995.

ROTH, T.L.; WOLFE, B.A.; LONG, J.A.; HOWARD, J.G.; WILDT, D.E. Effects of equine chorionic gonadotropin, human chorionic gonadotropin, and laparoscopic artificial insemination on embryo, endocrine, and luteal characteristics in the domestic cat. **Biology of Reproduction**, v.57, p.165-171, 1997.

ROY, F.; MAUREL, M.C.; COMBES, B.; VAIMAN, D.; CRIBIU, E.P.; LANTIER, I.; POBEL, T.; DELÉTANG, F.; COMBARNOUS, Y.; GUILLOU, F. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. **Biology of Reproduction**, v.60, p.805-813, 1999.

SÁNCHEZ, A.E.; SILVA, M.E. Evaluación de respuesta ovárica y calidad de ovocitos em gatas tratadas com hormona folículo estimulante (FSH) utilizando dos esquemas de administración. **Archivos de Medicina Veterinária**, v.35, p.119-126, 2003.

SCHMIDT, P.M. Feline breeding management. **Journal of Small Animal Practice**, v.16, p.435-451, 1986.

SCHMIDT, P.M.; CHAKRABORTY, P.K.; WILDT, D.E. Ovarian activity, circulating hormones and sexual behavior in the cat II. Relationships during pregnancy, parturition, lactation and the postpartum estrus. **Biology of Reproduction**, v.28, p.657-671, 1983.

SCOTT, P.P.; LLOYD-JACOB, M.A. Reduction in the anoestrus period of laboratory cats by increased illumination. **Nature**, v.184, p.2022, 1959.

SHILLE, V.M.; SOJKA, N.J. Feline Reproduction. In. ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (eds) **Textbook of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia: Saunders Co, 1995. p.2332-2343.

SHILLE, V.M.; LUNDSTROM, K.E.; STABENFELDT, G.M. Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol 17 $\beta$  concentrations in plasma: Relation to estrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium. **Biology of Reproduction**, v.21, p.953-963, 1979.

SHILLE, V.M.; MUNRO, C.; FAMER, S.W.; PAPKOFF, H.; STABENFELDT; G.H. Ovarian and endocrine responses in the cat after coitus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.68, p.29-39, 1983.

SOJKA, N.J., JENNINGS, L.L., HAMNER, C.E. Artificial insemination in the cat (*Felis catus*). **Laboratory Animal Care**, v.20, p.198-204, 1970.

SWANSON, W.F.; GODKE, R.A. Transcervical embryo transfer in the domestic cat. **Laboratory Animal Science**, v.44, p.288-291, 1994.

SWANSON, W.F.; HOROHOV, D.W.; GODKE, R.A. Production of exogenous gonadotrophin-neutralizing immunoglobulins in cats after repeated eCG-hCG treatment and relevance for assisted reproduction in felids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.105, p.35-41, 1995.

SWANSON, W.F.; GRAHAM, K.; HOROHOV, D.W.; THOMPSON, D.L.; GODKE, R.A. Ancillary follicle and secondary corpora lutea formation following exogenous gonadotropin treatment in the domestic cat and effect of passive transfer of gonadotropin-neutralizing antisera. **Theriogenology**, v.45, p.561-572, 1996a.



SWANSON, W.F.; ROTH, T.L.; GRAHAM, K.; HOROHOV, D.W.; GODKE, R.A. Kinetics of humoral immune response to multiple treatments with exogenous gonadotropins and relation to ovarian responsiveness in domestic cats. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, p.302-307, 1996b.

SWANSON, W.F.; WOLFE, B.A.; BROWN, J.L.; MARTIN-JIMENEZ, T.; RIVIERE, J.E.; ROTH, T.L.; WILDT, D.E. Pharmacokinetics and ovarian-stimulatory effects of equine and human chorionic gonadotropins administered singly and in combination in the domestic cat. **Biology of Reproduction**, v.57, p.295-302, 1997.

TAKAYA, A. A study on superovulation and embryo development in the domestic cat. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v.37, p.132, 1989.

TANAKA, A.; KUWABARA, S.; TAKAGI, Y.; NAKAGAWA, K., FUJIMOTO, Y.; MURAI, M.; TSUTSUI, T. Effect of intervals on semen quality in cats. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.62, p.1157-1161, 2000.

THIÉRY, J.C.; CHEMINEAU, P.; HERMANDEZ, X.; MIGAUD, M.; MALPAUX, B. Neuroendocrine interactions and seasonality. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.87-100, 2002.

TSUTSUI, T.; SATO, M.; KUROAWA, N.; HATTORI, I.; MATSUNAGA, H.; MURAO, I.; STABENFELDT, G.H. Embryo transfer in the cat during non-breeding season. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v.51, p.871-877, 1989.

TSUTSUI, T.; STABENFELDT, G.H. Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.47, p.29-35, 1993.

TSUTSUI, T., TANAKA, A., TAKAGI, Y., NAKAGAWA, K., FUJIMOTO, Y., MURAI, M., ANZAI, M., HORI, T. Unilateral intrauterine horn insemination of fresh semen in cats. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.62(12), p.1241-5, 2000.

VERHAGE, H.G.; BEAMER, N.B.; BRENNER, R.M. Plasma levels of estradiol and progesterone in the cat during polyestrus, pregnancy and pseudopregnancy. **Biology of Reproduction**, v.14, p.579-585, 1976.

VERSTEGEN, J.P.; ONCLN, K.; SILVA, L.D.M.; DONNAY, I.; METTENS, P.; ECTORS, F. Superovulation and embryo culture *in vitro* following treatment with ultra-pure follicle-stimulating hormone in cats. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.47, p.209-218, 1993.

VERSTEGEN, J.P. Physiology and endocrinology of reproduction in females cats. In: SIMPSON, G.; ENGLAND, G.; HARVEY, M. **Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology**, Cheltenham: British Small Animal Veterinary Association, 1998. p.11-16.

WHEELER, A.G.; WALKER, M.; LEAN, J. Function of hormonally-induced corpora lutea in the domestic cat. **Theriogenology**, v.29, p.971-977, 1988.

WILDT, D.E.; SEAGER, S.W.J. Ovarian response in the estrual cat receiving varying dosages of hCG. **Hormone Research**, v.9, p.144-150, 1978.

WILDT, D.E.; KINNEY, G.M.; SEAGER, S.W.J. Gonadotropin induced reproductive cyclicity in the domestic cat. **Laboratory Animal Science**, v.28, p. 301-307, 1978a.

WILDT, D.E.; GUTHRIE, S.C.; SEAGER, S.W.J. Ovarian and behavioral cyclicity of the laboratory maintained cat. **Hormone Behavior**, v.10, p.251-257, 1978b.

WILDT, D.E.; SEAGER, S.W.J.; CHAKRABORTY, P.K. Effect of copulatory stimuli on incidence of ovulation and on serum luteinizing hormone in the cat. **Endocrinology**, v.107, p.1212-1217, 1980.

WILDT, D.E.; CHAN, S.Y.W.; SEAGER, S.W.J.; CHAKRABORTY, P.K. Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I. Relationships during the coitus-

induced luteal phase and the estrous period without mating. **Biology of Reproduction**, v.25, p.15-28, 1981.