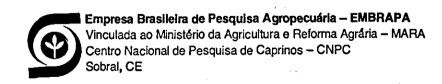
CNPC 1990 cnica FL-07614

Número 10

07614

ISSN 0100-8269 Setembro, 1990

HORMÔNIOS NO DIAGNÓSTICO **DE PROBLEMAS REPRODUTIVOS**



1990

Hormônios no diagnóstico de 1990



Número 10

Setembro, 1990

HORMÓNIOS NO DIAGNÓSTICO DE PROBLEMAS REPRODUTIVOS

Ângela Maria Xavier Elov



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA
Vinculada ao Ministério da Agricultura e Reforma Agrária – MARA
Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos – CNPC
Sobral, CE

Copyright © EMBRAPA – 1990 Exemplares desta publicação podem ser solicitados ao CNPC

Estrada Sobral/Groafras, km 4 Telefone: (085) 611.1077 Telex: (085) 1417 Caixa Postal D-10 62100 Sobral, CE

Tiragem: 200 exemplares

Comitê de Publicações:
Ederlon Ribeiro de Oliveira - Presidente
Ana Fátima Costa Pinto
Aurino Alves Simplício
Francisco Beni de Sousa
João Ambrósio de Araújo Filho
Luiz da Silva Vieira

Eloy, Ângela Maria Xavier

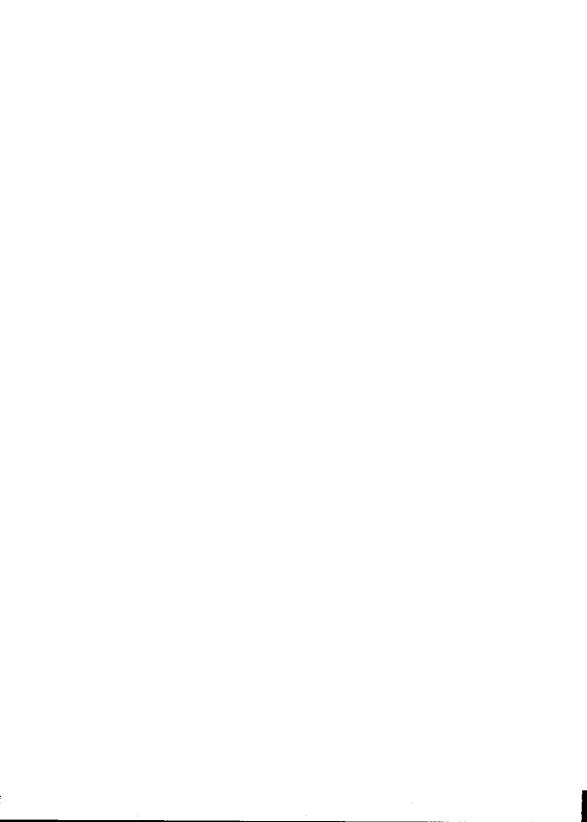
Hormônios no diagnóstico de problemas reprodutivos. Sobral, EMBRAPA-CNPC, 1990.

17p. (EMBRAPA-CNPC. Circular Técnica, 10).

1. Animal - Hormônio. 2. Animal - Reprodução. I. EM-PRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, Sobral, CE. II. Título. III. Série.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	5
2.	ANÁLISE HORMONAL	5
	2.1. Coleta, manuseio e armazenamento das amostras	5
3.	DIAGNÓSTICOS ATRAVÉS DOS HORMÔNIOS ESTERÓI-	
	DES	7
	3.1. Estradiol	7
	3.1.1. Monitoração do ciclo estral	7
	3.2. Sulfato de estrona	8
	3.2.1. Diagnóstico de prenhez	8
	3.2.2. Turmor das células de Sértoli	8
	3.2.3. Criptorquidismo	8
	3.3. Progesterona	8
	3.3.1. Monitoração do ciclo estral e diagnóstico da atividade	
	ovariana	8
	3.3.2. Diagnóstico de prenhez	9
	3.3.3. Cistos ovarianos	10
	3.4. Testosterona	10
	3.4.1. Puberdade	10
	3.4.2. Criptorquidismo	12
	3.4.3. Turmor das células da granulosa	12
	3.4.4. Função da hipófise e gônadas	12
4.	COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES	13
5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14



1. INTRODUÇÃO

A endocrinologia, ciência que estuda as glândulas endócrinas, suas funções, suas alterações e, por conseguinte os hormônios e seus receptores, com o advento de modernos métodos imunológicos de análises hormonais, está se expandindo na prática veterinária, contribuindo, desta forma, para o diagnóstico de problemas reprodutivos na fêmea e no macho. Esta expansão implica na melhoria do desempenho reprodutivo dos rebanhos, mediante o descarte de animais improdutivos, especialmente por permitir diagnósticos precoces e precisos de alterações ao nível de hipotálamo, hipófise e gônadas.

São disponíveis diversos métodos de análise hormonal como o ELISA (enzimoimunoensaio-absorvente), o EIA (enzimoimunoensaio), o FIA (imunoensaio fluorescente), o RIA (radioimunoensaio) e o PBA (ensaio de ligação de proteínas).

Com o advento do RIA, muitos procedimentos de ensaios hormonais foram desenvolvidos, dando inestimável contribuição para o estudo de eventos fisiológicos reprodutivos, tanto na medicina veterinária como na humana. A técnica do RIA, bem aceita em todo o mundo, possui, como uma de suas limitações, a utilização de material radioativo e, como consequência, a produção de resíduo, ou seja, o lixo radioativo.

A técnica de ELISA apresenta-se como uma alternativa simples e de execução prática, não causando, aparentemente, nenhum risco à saúde humana e, em particular, ao meio ambiente. ELISA para progesterona já se encontra disponível no Brasil, tanto para ensaios no sangue como no leite, as espécies bovina, eqüina e suína, em forma de kits.

Também a técnica de EIA, utilizada para quantificação de progesterona no plasma sanguíneo em cabras, revelou valores similares àqueles descritos na literatura para o RIA e o PBA (Braun et al. 1988).

O propósito deste trabalho é fornecer maiores esclarecimentos sobre o aspecto prático das análises hormonais em medicina veterinária.

2. ANÁLISE HORMONAL

2.1. Coleta, manuseio e armazenamento das amostras

Os procedimentos para coleta, manuseio e armazenamento das amostras devem seguir as recomendações do laboratório que irá realizar as análises.

Na realização de ensaios hormonais, pode se utilizar como amostra o sangue, leite ou tecido, embora este último seja pouco usado em decorrência da necessidade de uma manipulação mais apurada.

As amostras de sangue devem ser coletadas em frasco heparinizado (heparina a 1%) após punção da veia jugular ou de outro local, dependendo

da espécie. Logo após a coleta, o sangue deve ser refrigerado a 4°C, enquanto aguarda ser transportado para o laboratório, onde é centrifugado a 3.000 rpm durante 10 minutos, e o plasma então congelado e estocado a -20°C (Thibier et al. 1982). No caso do soro, obviamente, o frasco não conterá anticoagulante. De acordo com a Diagnostic Products Corporation (1987), os anticoagulantes heparina e EDTA não alteram as concentrações de progesterona quando comparados com o sangue usado sem anticoagulante (soro).

É importante que a separação do plasma e/ou soro sanguíneo seja feita o mais rápido possível. De acordo com Vahdat et al. (1981), a concentração de progesterona em amostras sanguíneas antes da separação do plasma ou soro começa a diminuir quase que imediatamente após a coleta e, segundo Mukasa-Mugerwa et al. (1989), acarreta alterações significativas nos valores desse hormônio. Short (1958), citado por Van Der Molen & Groen (1968), admitiu que isto ocorre devido à progesterona ser convertida para 20α – dihydroxyprogesterona ou para 20β – dihydroxyprogesterona. Outro fator que deve ser evitado, por ocasião da manipulação das amostras sanguíneas, é o ato de descongelar e congelar, ou seja, utilizar uma amostra e depois congelá-la para posterior ensaio (Diagnostic Products Corporation 1987). Caso haja necessidade de utilizar o soro ou plasma para outras finalidades, devese distribuir o material em frascos separados antes do congelamento.

Nas dosagens de progesterona no leite, recomenda-se o uso de conservantes como azida sódia (uma pastilha — Natrium Azide Merk-Art 6687) (Alvarez et al. 1989) ou bicarbonato de potássio (Thibier et al. 1981). A estreptomicina também poderá ser usada (Nachreiner 1980). As amostras de leite poderão ser congeladas ou então refrigeradas a 4°C até a realização do ensaio (Montigny De et al. 1982).

Os critérios utilizados para coleta de amostras visando à análise hormonal depende do tipo de hormônio que se deseja ensaiar e da espécie em estudo.

Coletas de sangue para análise de progesterona, em animais supostamente em anestro, devem ser seriadas. Em vacas, porcas, ovelhas, cabras e éguas as coletas podem ser realizadas semanalmente e, mensalmente, em cadelas.

Já para ensaios de estradiol e hormônio luteinizante (LH), o esquema de coleta deve ser mais amiúde, com intervalo de no máximo 30 minutos. Isto é necessário, em virtude da secreção desses hormônios ser pulsátil e apresentar variação brusca na amplitude e freqüência dos pulsos. Os piques de estradiol, em ovelhas, são seguidos em questão de minutos por piques de LH (Cahill et al. 1981). Por ocasião da prenhez ou durante o período de anestro, as coleta podem ser diárias.

A testosterona, assim como o estradiol e o LH, também se manifesta através de piques. Portanto, as coletas devem acontecer durante um certo pe-

ríodo, de no mínimo 12 horas, e a intervalo não superior a 30 minutos. Um aumento na concentração de LH geralmente é seguido por um pulso de testosterona dentro de trinta minutos, o qual atinge um pique máximo dentro de 60 minutos (Muduuli et al. 1979, Sanford et al. 1974, Katangole et al. 1974 e Schanbacher & Ford 1976).

Segundo Heresign (1978), o intervalo ideal entre as sucessivas coletas de sangue é normalmente de 15 minutos para análise de LH de 15 minutos para análise de LH.

Durante o ciclo estral, a concentração do hormônio folículo estimulante (FSH) varia gradativamente (Hackett & Hafs 1969) e, por este motivo, os ensaios deste hormônio não requerem coletas intervaladas por minutos.

De acordo com Muduuli et al. (1979), a variação na concentração de FSH durante o período de 24 horas foi mínima em bodes da raça Pygmy.

3. DIAGNÓSTICOS ATRAVÉS DOS HORMÔNIOS ESTERÓIDES

3.1. Estradiol

3.1.1. Monitoração do ciclo estral

Na maioria das espécies, o estradiol 17β é considerado o mais potente estrógeno natural produzido pelos ovários (Baird 1972), enquanto o estrona e o estriol são secretados em menor quantidade e considerados como produtos do estradiol (Gomes 1978).

A secreção dos estrógenos dá-se, na maior parte dos animais, principalmente, nas células da teca do folículo e é oriundo da metabolização dos andrógenos (Baird 1972).

Os ensaios para estrógenos, em especial o estradiol, servem para monitorar a fase estrogênica do ciclo estral e permitem determinar o momento da ovulação através das inter-relações existentes entre os níveis de estradiol e os de LH.

A concentração plasmática de estradiol na cabra permanece em níveis basais durante o metaestro e o diestro. Aproximadamente no início do estro, o pique de estradiol oscila de 23,72 a 36,21 pg/ml com duração de 27 horas (Simplício 1985).

Em ovelhas, os estrógenos são elevados durante o estro (90 a 95 pg/ml) e mostram uma grande flutuação no meio do ciclo, variando de 4,0 a 30,0 pg/ml (Wagner 1980).

Em éguas, o pique de estradiol é pronunciado aproximadamente 48 horas antes da ocorrência do pulso de LH, o qual acontece justo antes da ovulação. A concentração de estradiol, por ocasião do estro nesta espécie, varia de 120 a 140 pg/ml (Wagner 1980).

3.2. Sulfato de Estrona

3.2.1. Diagnóstico de prenhez

O sulfato de estrona (E₁S) é de origem fetoplacentária e sua concentração no sangue tem sido usada para auxiliar no diagnóstico de prenhez e monitoração da condição fetal (Nachreiner 1986). Elevados níveis no plasma sangüíneo e no leite têm sido registrados a partir dos 45 e 120 dias de prenhez, na cabra e na vaca, respectivamente. Na égua, este hormônio é encontrado em altas concentrações no soro sangüíneo e na urina a partir dos 100 dias de prenhez, enquanto que, na porca, o sulfato de estrona encontra-se elevado no soro sangüíneo dos 26 aos 32 dias, ocorrendo uma brusca queda nas concentrações logo após este período (Nachreiner 1986).

O teste de prenhez com base na determinação de sulfato de estrona, tanto no leite como no plasma, em caprinos, não dá resultados falso-positivos com hidrometra ou com corpo lúteo persistente (Williams 1986).

3.2.2. Tumor das células de Sértoli

Cães portadores de tumor nas células de Sértoli, geralmente apresentam concentração de sulfato de estrona superior a 10 pg/ml, sendo que, em animais clinicamente sadios, os valores descritos situam-se entre 2,0 a 6,2 pg/ml (Nachreiner 1986).

3.2.3. Criptorquidismo

Considerando que o sulfato de estrona é um dos estrógenos sintetizados e secretados pelos testículos dos garanhões e se encontra em níveis elevados na corrente sangüínea, a análise de seu perfil é usada no diagnóstico de criptorquidismo (Nachreiner 1986).

Ganjan e Kenney (1975) observaram que os animais, cujos testículos encontravam-se na cavidade abdominal, apresentam concentrações de estrógenos totais no plasma sangüíneo superior a 10 pg/ml.

3.3. Progesterona

3.3.1. Monitoração do ciclo estral e diagnóstico da atividade ovariana

Os ensaios para progesterona permitem avaliar a funcionalidade ou não dos ovários e auxiliam na monitoração do ciclo estral.

A progesterona é sintetizada e secretada principalmente pelo corpo lúteo, e, em pequena quantidade, pelas células da granulosa do folículo antes da ovulação; pelas adrenais e em algumas espécies domésticas pela placenta (Baird 1972).

Níveis elevados ou baixos deste hormônio, associado aos dados clínicos do animal, identificam alterações ovarianas que se refletem no sistema reprodutivo como um todo.

Os níveis de progesterona no plasma periférico, durante o ciclo estral da cabra, variam de 0,2 ng/ml no dia do estro a 12,7 ng/ml durante a fase lútea, diminuindo rapidamente aos níveis basais durante os últimos três dias do ciclo (Simplício 1985).

No soro sangüíneo, as concentrações de progesterona na cabra variaram desde níveis indetectáveis (menores do que 0,01 ng/ml) até o máximo de 12,5 ng/ml, durante o diestro; no leite, estes valores oscilaram entre 0,00 e 4,81 ng/ml durante o ciclo estral (Oliveira 1985).

Quando os valores de progesterona no sangue periférico situam-se persistentemente abaixo de 1,0 ng/ml, em geral, são considerados como indicativo de ausência de corpo lúteo funcional (Jain et al. 1980). Portanto, altas concentrações de progesterona no plasma sangüíneo são observadas durante a fase luteínica do ciclo estral e na prenhez, e baixas concentrações por ocasião do pró-estro, estro e durante o anestro. Quando as baixas concentrações persistem, conclui-se que o ovário está inativo. Por exemplo, durante o período pós-parto.

De acordo com Elmore (1986), os níveis de progesterona também auxiliam na determinação do momento apropriado para realização da inseminação artificial, sem a utilização de outros meios para detecção do estro, bem como no diagnóstico de morte embrionária precoce.

3.3.2. Diagnóstico de prenhez

Em muitas espécies, valores indetectáveis de progesterona indicam ausência de prenhez. Contudo, a presença de progesterona no soro sangüíneo não ocorre tão somente na prenhez, mas na fase lútea do ciclo estral e em algumas patologias reprodutivas.

A ocorrência de níveis elevados de progesterona durante o estro e a fase lútea do ciclo estral poderá reduzir a margem de segurança dos resultados positivos (Holdsworth & Davies 1979). Por outro lado, estes resultados poderão indicar, além de prenhez, uma hidrometra, pseudoprenhez, corpo lúteo persistente e cisto luteínico.

Ensaios de progesterona no período compreendido entre 21 e 24 dias após a cobertura ou inseminação artificial, têm sido usados satisfatoriamente tanto no soro sangüíneo como no leite para diagnóstico de não prenhez em cabras (Holdsworth & Davies 1979 e Williams 1986).

A determinação de prenhez e não prenhez de amostras coletadas em cabras aos 21 dias, após a cobertura, foi muito mais fácil e precisa quando a

progesterona foi ensaiada na gordura do leite do que no leite. Isto deve-se ao fato de que na gordura a concentração de progesterona apresenta valores extremos com relação à fase lútea (400 ng/ml) e folicular (20 ng/ml) (Montigny De et al. 1982).

Os fatores que interferem na precisão do diagnóstico precoce de prenhez na cabra, através da determinação de progesterona no leite, são a estreita faixa de concentração deste hormônio que separa animais prenhes de não prenhes e a variação dos valores de progesterona entre rebanhos (Thibier et al. 1982).

Shemesh et al. (1973) trabalhando com diagnóstico de prenhez em vacas dos 19 aos 22 dias e em ovelhas dos 16 aos 21 dias e 32 aos 35 dias após inseminação, estabeleceram que quando o valor de progesterona excedia 2,5 ng/ml em vacas e 1,5 ng/ml em ovelhas, estes animais eram considerados prenhes. A precisão foi de 100% para animais não prenhes e 85,0% para prenhes. Pieterse et al. (1990) observaram que as amostras consideradas positivas (prenhez) sempre apresentaram mais de 1 ng/ml, embora 20% das negativas (não prenhez) também contivessem mais do que 1 ng/ml. Portanto, deve ser discutida e analisada a influência tanto da morte embrionária precoce como da acumulação de líquido intra-uterino sobre a precisão desse tipo de teste.

3.3.3. Cistos ovarianos

Os cistos podem ser considerados como manifestação clínica de alterações endócrinas multiglandulares envolvendo hipotálamo, hipófise, ovários e adrenais (Grunert & Gregory 1984).

Em vacas, os cistos ovarianos constituem os cistos foliculares ou degeneração cística do folículo de De Graff, cistos luteínicos ou luteinizados e corpo lúteo cístico. Os cistos foliculares e luteínicos são anovulatórios, enquanto que o corpo lúteo cístico é ovulatório (Roberts 1979).

Animais com cistos luternicos geralmente apresentam elevada concentração de progesterona no líquido crstico e soro sangurneo, enquanto que os portadores de cistos foliculares exibem baixos níveis séricos (Youngquist 1986). Em vacas portadoras de cistos parcialmente luteinizados, as concentrações séricas de progesterona são quase nulas, encontrando-se o hormônio quase que exclusivamente no líquido crstico (Grunert & Gregory 1984).

3.4. Testosterona

3.4.1. Puberdade

A puberdade evidencia o início da atividade testicular em consequência dos estímulos das gonadotrofinas sobre as células intersticiais dos testículos,

desencadeando o início da síntese e secreção de testosterona e consequente atividade espermatogênica.

Mehta et al. (1987), trabalhando com cabritos de 50 a 170 dias de idade, observaram uma variação nos níveis de testosterona plasmática entre 0,074 e 7,570 ng/ml.

Em caprinos jovens da raça Moxotó, foram observados níveis crescentes de testosterona plasmática entre a $10^{\frac{5}{4}}$ e $18^{\frac{5}{4}}$ semana de idade, enquanto que na $22^{\frac{5}{4}}$ houve um ligeiro decréscimo que se acentuou na $28^{\frac{5}{4}}$ semana (Eloy & Simplício 1990) (Fig. 1).

Rawlings et al. (1972) observaram uma alta relação entre testosterona testicular e plasmática com o número de espermatozóides dos 8 aos 10 meses de idade em bovinos da raça Holstein, sugerindo-se que este hormônio esteja envolvido mais diretamente na iniciação do que na manutenção da espermatogênese.

Em carneiros, o tamanho dos testículos está correlacionado com as concentrações de FSH, LH e testosterona no sangue e esses hormônios parecem agir simultaneamente nos testículos aparentemente no início da espermatogênese (Courot & Ortavant 1981).

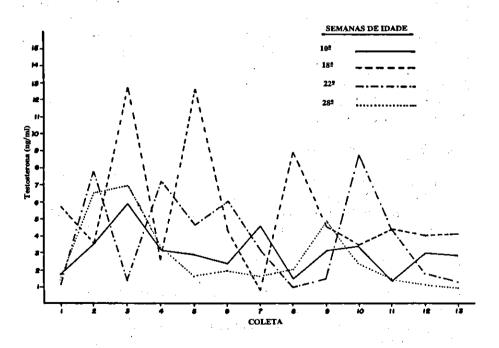


FIG. 1. Média dos níveis de testosterona, por semana, de seis caprinos da raça Moxotó (Eloy & Simplício, 1990).

De acordo com Johnstone (1948) a separação do pênis do prepúcio tem sido apontado como sendo consequência da ação dos hormônios testiculares.

O desenvolvimento da atividade sexual nos machos está associado com o aumento da função testicular e separação das aderências do prepúcio (Elwishy & Elsawaf 1971).

Portanto, segundo Baird (1972) a secreção de testosterona pelos testículos mantém o desejo sexual no macho e é responsável pela iniciação da libido à puberdade e pelo início da estação sexual em algumas espécies.

3.4.2. Criptorquidismo

A determinação da concentração de testosterona no sangue, após injeção de GnRH ou hCG, poderá esclarecer se o animal é criptorquida ou não, como também permite distinguir um animal criptorquida de um castrado.

Cox et al. (1973) demonstraram que a administração de 12,000 U.I. de hCG, intravenosamente, em cavalos clinicamente normais, causaram um significativo aumento na concentração de testosterona dentro de 15 minutos e que os níveis permaneceram acima do nível basal por um período de uma a duas horas, o mesmo não acontecendo com os criptorquidas, cuja reação testicular ao estímulo hormonal foi menor.

Em caprinos, o criptorquidismo é hereditário e pode ocorrer em animais intersexo, conforme descrito na raça Angorá por Smith (1978). Até a presente data, pouco tem sido feito no sentido de usar análises hormonais para auxiliar no diagnóstico do problema. No entanto, provavelmente, os hormônios estão envolvidos, havendo necessidade de esclarecer-se qual deles está diretamente relacionado com o criptorquidismo nessa espécie.

3.4.3. Tumor das células da granulosa

Ensaios de testosterona, em soro de égua, têm sido usados para detectar produção anormal de andrógenos pelas células da granulosa. Concentrações maiores do que 100 pg/ml são comuns em éguas portadoras de tumor neste tipo de tecido (Nachreiner 1986).

3.4.4. Função da hipófise e gônadas

O GnRH (fator de liberação das gonadotrofinas), sintetizado e estocado no hipotálamo, tem a ação sobre a liberação das gonadotrofinas FSH e LH pela hipófise (Hammond 1985), que por sua vez vão agir sobre os testículos estimulando o crescimento dos túbulos seminíferos e início da espermatogênese, e na síntese e secreção de testosterona pelas células de Leydig, respectivamente (Baird 1972). O hCG (gonadotrofina coriônica equina) produzido

pela placenta da mulher, desde o período de implantação até o parto, apresenta uma potente atividade semelhante ao LH, com pouco ou nenhum efeito do FSH (Carruthers 1986).

Segundo Nachreiner (1986), o conhecimento dos níveis de testosterona, após aplicação de GnRH ou hCG, poderá ser usado na avaliação da secreção fisiológica das genadotrofinas e para avaliar a função testicular, fornecendo, consequentemente, suporte para se esclarecer a existência ou não de distúrbios ao nível de hipófise e/ou testículos.

Portanto, quando após aplicação de GnRH dá-se aumento dos níveis de testosterona no sangue, é possível concluir que a hipófise e os testículos estão funcionando satisfatoriamente, caso contrário, evidencia-se a existência de algum problema. No entanto, não se pode afirmar qual dos dois órgãos está comprometido. Para uma conclusão diagnóstica, faz-se aplicação intravenosa de hCG. Se, após a aplicação desta gonadotrofina, os níveis sangüíneos de testosterona aumentarem, o problema situa-se ao nível de hipófise (Nachreiner 1986).

4. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Sabe-se que a população mundial cresce numa escala geométrica, enquanto que a produção de alimentos obedece a uma escala aritmética. Este fato faz com que a demanda por alimentos seja bem maior e premente, exigindo dos órgãos competentes e, por continuidade, dos estudiosos, solução no sentido de implementar e incentivar alternativas que visem ao aumento de alimentos de origem animal, a exemplo, carne e leite.

Através das análises hormonais, é possível controlar os eventos reprodutivos, possibilitando a implantação de normas de manejo mais eficientes, estabelecer linhagens mais prolíferas e diagnosticar problemas de subfertilidade que são considerados de maior peso num sistema de criação. Portanto, os hormônios têm auxiliado amplamente o grande avanço que a medicina veterinária e a zootecnia têm alcançado nos últimos anos.

As espécies caprina e ovina ainda precisam ser melhor exploradas quanto à sua atividade hormonal. Pelo exposto neste trabalho, Observa-se que a literatura não é muito rica no que diz respeito a trabalhos diagnósticos nestas espécies, existindo, desta forma, lacunas quanto à solução de problemas de ordem reprodutiva e de manejo. Intensificar trabalhos de diagnósticos de prenhez precoce através da realização de ensaios simples, seleção precoce de reprodutores através de perfis hormonais e descarte de animais subférteis ou mesmo estéreis, são pontos básicos que devem ser explorados nestas espécies.

Como no Brasil ainda não se dispõe de laboratório especializado em manipulação de hormônios visando a sua purificação, não se tem facilmente à disposição reagentes básicos para a realização de ensaios. Os kits de RIA.

material importado muito utilizado no Brasil, embora sejam práticos, têm custo custo elevado. Outra alternativa é o uso de kits de EIA para progesterona que está a pouco tempo em uso no país. Também são práticos, sem no entanto apresentar a precisão do RIA, e podem ser usados em diagnósticos de prenhez. Portanto, tendo em vista os problemas acima mencionados, necessário se faz o desenvolvimento de imunoensaios simples, aqui no Brasil, visando uma utilização mais ampla das análises hormonais em Medicina Veterinária.

Finalmente, é preciso que haja conscientização dos problemas existentes e da importância dos hormônios como subsídio para todo programa que tenha como objetivo o aumento da eficiência reprodutiva e consequentemente da produtividade animal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, R.H.; MASSAT, J.P.; MEIRELES, C.F. Diagnóstico precoce de gestação em bovinos pela dosagem de progesterona no leite utilizando um teste imunoenzimático (ELISA) a campo. R. Bras. Reprod. Anim., 13(1):25-32, 1989.
- BAIRD, D.T. Reproductive Hormones. In: AUSTIN, C.R. & SHORT, R.V. Hormones in reproduction. London, Cambridge University Press, 1972. p.1-28.
- BRAUN, W.F.; SOLORZANO, N.M.; BIERSHWAL, C.J. Characterization of the caprine estrous cycle using enzime immunoassay for the determination of whole blood progesterone concentration. Theriogenology, 29(5):1155-62, 1988.
- CAHILL, L.P.; SAUMANDE, J.; RAVAULT, J.P.; BLANC, M.; THIMO-NIER, J.; MARIANA, J.C. MAULEÓN, P.J. Hormonal and follicular relationship in ewes of high and low ovulation rates. J. Reprod. Fertil., 62:141-50, 1981.
- CARRUTHERS, T.D. Principles of hormone therapy in theriogenology. In: MORROW, D.A. Current terapy in theriogenology. 2.ed. Michigan, Saunders, 1986. p.3-13.
- COUROT, M. & ORTAVANT, R. Endocrine control of spermatogenesis in the ram. In: SYMPOSIUM OF THE REPRODUCTIVE ENDOCRINO-LOGY OF DOMESTIC RUMINANTS, Leura, NSW, 1988. Proceedings. Cambridge, UK, Journals of Reproductive and Fertility, 1981. p.47-60.
- COX, J.E.; ROWE, R.H.; SMITH, J.A.; WILLIAMS, J.H. Testosterone in normal, cryptorchid, and castrated male horses. Equine Vet. J., 3:85, 1973.

- DIAGNOSTIC PRODUCTS CORPORATION. Coat-a-count progesterona. Los Angeles, 1987. 13p.
- ELMORE, R.G. Rapid progesterone assays: the latest in kit technology. Vet. Med., 81:659-62, 1986.
- ELOY, A.M.X. & SIMPLÍCIO, A.A. Níveis de testosterona em reprodutores caprinos da raça Moxotó no Nordeste do Brasil. Sobral, CE, EMBRAPA-CNPC, 1990. Prelo.
- ELWISHY, A.B. & ELSAWAF, S.A. Development of sexual activity in male Damascus goats, Indian J. Anim. Sci., 41(5):350-6, 1971.
- GANJAM, V.K. & KENNEY, R.M. Androgens and estrogens in normal and cryptorchid stallions. J. Reprod. Fertil., (Suppl.):23-67, 1975.
- GOMES, W.R. The Estrous Cycle. In: SALISBURY, G.W. & LODGE, J.R. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. 2.ed. San Francisco, W.H. Freeman, 1978, p.52-90.
- GRUNERT, E. & GREGORY, R.C. Diagnóstico terapêutico da infertilidade na vaca. Porto Alegre, Sulina, 1984. p.58-78.
- HACKETT, A.J. & HAFS, D. Pituitary and hypothalamic endocrine changes during the bovine estrous cycle. J. Anim. Sci., 28(4):531-6, 1969.
- HAMMOND, C.B. & ORY, S.J. Diagnostic and therapeutic uses of gonadotropin-releasing hormone. Arch. Int. Med., 145:1690-6, 1985.
- HERESIGN, W. Physiology of reproduction. The managment and diseases of sheep. London, Commonwealth Agricultural Bureaux, 1978. p.66-8.
- HOLDSWORTH, R.J. & DAVIES, J. Measurement of progesterone in goat's milk an early pregnancy test. Vet. Rec., 105(23):535, 1979.
- JAIN, G.C.; ARORA, R.C.; RAHWA, G.S.; BATRA, S.K.; PANDEY, R.S. Plasma progesterone levels following breeding in goats. J. Nuclear Agric. Biol., 9:5-7, 1980.
- JOHNSTONE, J.L. The growth and development of the penis in sheep. Aust. Vet. J., 24:86, 1948.
- KATONGOLE, C.B.; NAFTOLIN, F.; SHORT, R.V. Seasonal variations in blood luteinizing hormone and testosterone levels in rams. J. Endocrinol., 60(1):101-6, 1974.
 - MEHTA, S.N.; GEORGIE, G.C.; DIXIT, V.P.; GALHOTRA, M.M.; KNAUJIA, A.S. Plasma testosterone and gonadotrophin levels up to puberty in Black Bengal male kids. Indian J. Anim. Sci., 57(6):517-21, 1987.

- MONTIGNY DE, G.; MILLERIOUX, P.; JEANGUYOT, N.; HUMBLOT, P.; THIBIER, M. Milk fat progesterone concentrations in goats and early pregnancy diagnosis. Theriogenology, 17(4):423-31, 1982.
- MUDUULI, D.S.; SANFORD, L.M.; PALMER, W.M.; HOWLAND, B.E. Secretory patterns and circadian and seasonal changes in luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, prolactin and testosterone in the male pygmy goat. J. Anim. Sci., 49(2):543-53, 1979.
- MUKASA-MUGERWA, E.; BEKELE, T.; KASALI, O.B. The effect of handling methods of sugbsequent plasma progesterone levels in sheep. Vet. Res. Commun., 13(1):75-9, 1989.
- NACHREINER, R.F. Endocrine diagnosis in reproductive disorders. In: MORROW, D.A. Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals. Phyladelphia, Saunders, 1980. p.19-21.
- NACHREINER, R.F. Laboratory Endocrine Diagnostic Procedures in Theriogenology. In: MORROW, D.A. Current therapy in theriogenology. 2.ed. Michigan, Saunders, 1986. p.17-20.
- OLIVEIRA, C.A. Níveis de progesterona no soro sangüíneo e no leite integral durante o ciclo estral e início da prenhez, em cabras (Capra hircus LINNAEUS, 1758). São Paulo, Universidade de São Paulo, 1985. 59p. Tese Mestrado.
- PIETERSE, M.; SZENCI, O.; WILLEMSE, A.H.; BAJCSY, C.S.A.; DIE-LEMAN, S.J. TAVERNE, M.A.M. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. **Theriogenology.**, 33(3):697-707, 1990.
- RAWLINGS, N.C.; HAFS, H.D. SWANSON, L.V. Testicular and blood plasma androgens in holstein bulls from birth through puberty. J. Anim. Sci., 34(3):435-40, 1972.
- ROBERTS, S.J. Obstetricia veterinaria y patologia de la reproduction. Buenos Aires, Hemisfério Sur, 1979. p.562-602.
- SANFORD, L.M.; WINTER, J.S.D.; PALMER, W.M. HOWLAND, B.E. The profile of LH and testosterone secretion in the ram. Endocrinology, 96:627, 1974.
- SCHANBACHER, B.D. & FORD, J.J. Seasonal profiles of plasma luteinizing hormone, testosterone and estradiol in the ram. Endocrinology, 99(3):752-7, 1976.
- SHEMESH, M.; AYALON, N.; LINDNER, R. Early pregnancy diagnosis based upon plasma progesterone levels in the cow and ewe. J. Anim.

- Sci., 36(4):726-9, 1973.
- SHORT, R.V. Progesterone in blood. The chemical determination of progesterone in peripheral blood. J. Endocrinol., 16:415-25, 1958.
- SIMPLÍCIO, A.A. Phisiology and endocrinology of the strous cycle in goats. Logan, Utah State University, 1985. 8p. (Animal Dairy and Veterinary Sciences Department Seminar, 680). Mimeografado.
- SMITH, M.C. Some clinical aspects of caprine reproduction. Cornell Vet., 68(7):200-11, 1978. Suplemento.
- THIBIER, M.; POTHELET, D.; JEAWGUYOT, N.; MONTYGNY DE, G. Estrous behavior, progesterone in peripheral plasma and milk in dairy goats at onset of breeding season. J. Dairy Sci., 64:513-9, 1981.
- THIBIER, M.; JEANGUYOT, N.; MONTYGNY DE, G. Accuracy at early pregnancy diagnosis in goats based on plasma and milk progesterone concentrations. Int. Goat Sheep Res., 2(1):1-6, 1982.
- VAHDAT, F.; HURTGEN, J.P.; WHITMORE, H.L.; SEQUIN, B.E.; JOHNSTON, S.D. Decline in assayable progesterone in bovine plasma: effect of time, temperature, anticoagulant and presence of blood cells. Am. J. Vet. Res., 42(3):521-2, 1981.
- VAN DER MOLEN, H.J. & GROEN, D. Interconversion of progesterone and 20β dihydroxiprogesterone and of androstenedione and testosterone in vitro by blood and erythrocytes. Acta Endocrinol., 58:419-44, 1968.
- WAGNER, W.C. Principles of hormone therapy. In: MORROW, D.A. Current therapy in theriogenology. Philadelphia, Saunders, 1980. p.3-19.
- WILLIAMS, C.S.F. Pregnancy Diagnosis. In: MORROW, D.A. Current therapy in theriogenology. 2.ed. Michigan, Saunders, 1986. p.587-8.
- YOUNGQUIST, R.S. Cystic follicular degeneration in the cow. In: MOR-ROW, D.A. Current therapy theriogenology. 2.ed. Michigan, Saunders, 1986. p.243-6.

