

Pelotas, RS / Outubro, 2024

Ação da gonadotrofina coriônica humana (hCG) sobre a função luteal e características do corpo lúteo em fêmeas bovinas

Fabiane Pereira de Moraes ⁽¹⁾, Ligia Margareth Cantarelli Pegoraro ⁽²⁾, Arnaldo Diniz Vieira ⁽³⁾, Rafael Gianella Mondadori ⁽³⁾ e Bernardo Garziera Gasperin ⁽³⁾

⁽¹⁾Bolsista de pós-doutorado, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. ⁽²⁾Pesquisadora, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. ⁽³⁾Professores associados, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Resumo – A gonadotrofina coriônica humana (hCG) é um hormônio glicoproteico com ação semelhante ao hormônio luteinizante (LH) e com efeito luteotrófico, que pode ser utilizada como indutor de ovulação em protocolos de inseminação artificial por tempo fixo (IATF) e transferência de embriões (TETF). Entretanto, seu uso apresenta variações em relação à dose e resultados, sendo que, devido ao seu alto custo, a viabilidade econômica da utilização de hCG necessita ser melhor avaliada. Este estudo teve como objetivo determinar a curva de concentração sérica de β -hCG ao longo do tempo; avaliar o efeito de 1.000 UI de hCG sobre a função luteal e as características do corpo lúteo (perfusão sanguínea, diâmetro, área e circunferência), durante o processo de luteinização. No Experimento 1, a concentração sérica de β -hCG foi mensurada 0 (D0), 24 (D1), 96 (D4) e 168 horas (D7) após tratamento com hCG por via intramuscular, sendo observado o pico de concentração 24 horas após aplicação, não sendo detectadas concentrações no D7 (inferiores a 0,2 mUI/mL). No Experimento 2, ao se comparar os indutores de ovulação, GnRH e hCG, observou-se maior diâmetro ($P=0,01$), área ($P=0,04$) e circunferência ($P = 0,02$) do corpo lúteo no grupo hCG, sem efeito sobre a concentração de progesterona. No Experimento 3, a administração de hCG não afetou as concentrações intrafoliculares de estradiol e progesterona 24 horas após a sua administração por via intramuscular ($P > 0,05$). Em conclusão, a curva de concentração sérica de β -hCG foi semelhante ao encontrado por outros estudos, com doses superiores; o uso da hCG como indutor de ovulação, quando comparado ao GnRH, resultou em corpos lúteos maiores, porém esse efeito não foi observado na concentração de progesterona. Ainda, o processo de luteinização não diferiu entre os indutores GnRH e hCG.

Termos para indexação: ovulação, gonadotrofina coriônica humana, luteotrófico, progesterona.

Embrapa Clima Temperado
BR-392, Km 78, Caixa Postal 403
CEP 96010-971, Pelotas, RS
Fone: (53) 3275-8100
www.embrapa.br/clima-temperado
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

Ana Cristina Richter Krolow

Secretária-executiva

Rosângela Costa Alves

Membros

Newton Alex Mayer, Rosângela

Costa Alves, Bárbara Chevallier

Cosenza, Cláudia Antunez

Arrieche e Sonia Desimon

Edição executiva

Bárbara Chevallier Cosenza

Revisão de texto

Bárbara Chevallier Cosenza

Normalização bibliográfica

Cláudia Antunez Arrieche

(CRB-10/1594)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Diagramação

Nathália Santos Fick

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados à Embrapa.

Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on luteal function and characteristics of the corpus luteum in bovine females

Abstract – Human chorionic gonadotropin (hCG) is a glycoprotein hormone with similar action to LH and luteotrophic effect, which can be used as an ovulation inducer in TAI and TETF protocols. However, its use presents variations according to dose and results. The economic viability of hCG also needs to be better evaluated due to its high cost. This study aimed to determine the curve of serum β -hCG concentration over time; evaluate the effect of 1,000 IU of hCG on luteal function, the characteristics of the corpus luteum (blood perfusion, diameter, area and circumference), during the luteinization process. In Experiment 1, the serum concentration of β -hCG was measured 0 (D0), 24 (D1), 96 (D4) and 168 hours (D7) after the treatment with hCG intramuscularly, and the peak concentration was observed 24 hours after administration; no concentrations were detected on D7 (less than 0.2 mIU/mL). In Experiment 2, when comparing ovulation inducers, GnRH and hCG, larger diameter ($P=0.01$), area ($P=0.04$) and circumference ($P = 0.02$) of the corpus luteum were observed in the hCG group, with no effect on progesterone concentration. In Experiment 3, hCG did not affect the intrafollicular concentrations of estradiol and progesterone 24 hours after intramuscular administration ($P > 0.05$). In conclusion, the serum β -hCG concentration curve was similar to the one found in other studies, with higher doses; the use of hCG as an ovulation inducer, when compared to GnRH, resulted in larger corpora lutea, but this effect was not observed in the progesterone concentration. Furthermore, the luteinization process did not differ between GnRH and hCG inducers.

Index terms: ovulation, human chorionic gonadotropin, luteotrophic, progesterone.

Introdução

Há um grande interesse econômico em aumentar a eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos. Nesse contexto, é essencial o uso de biotecnologias, como a IATF (inseminação artificial em tempo fixo) e TETF (transferência de embriões em tempo fixo), que possibilitam a manipulação hormonal do ciclo estral e a IA ou TE em momentos pré-determinados. Além disso, a busca por um entendimento mais profundo da fisiologia reprodutiva e da ação

hormonal é uma alternativa para aprimorar os protocolos hormonais existentes e as taxas de prenhez por eles obtidas.

Dentre os hormônios indutores de ovulação disponíveis comercialmente, destaca-se a gonadotrofina coriônica humana (hCG), uma glicoproteína com atividade semelhante ao hormônio luteinizante (LH) e ação luteotrófica. A hCG atua independentemente da hipófise, ligando-se aos receptores do LH (LHCGR) na parede folicular. A sequência de extensão do peptídeo carboxi-terminal (CTP) da subunidade β da hCG confere a esse hormônio uma meia-vida mais longa em relação ao LH (Smitz; Platteau, 2020). Concentrações plasmáticas elevadas se mantiveram por até 30 horas, após o tratamento com 3.000 UI de hCG em novilhas (Schmitt et al., 1996). O efeito luteotrófico da hCG resulta em aumento do tamanho das células lúteas, com incremento no número de células lúteas grandes e redução das pequenas, além de aumento da superfície, volume e diâmetro do corpo lúteo (CL), elevando sua capacidade esteroideogênica (De Rensis et al., 2010; Cunha; Martins, 2022). Seu uso foi testado no suporte ao desenvolvimento folicular final, como indutor de ovulação e para indução de corpos lúteos acessórios no início do diestro, visando maiores concentrações de progesterona (P4) e melhores taxas de prenhez (Burns et al., 2008, Nascimento et al., 2013, Cunha et al., 2021, Rossignolo et al., 2023). No entanto, estudos utilizam doses variadas e os resultados são inconsistentes e contraditórios. Devido ao custo elevado da hCG, é necessário avaliar sua viabilidade econômica, identificando uma dose eficaz e com melhor relação custo-benefício.

Um estudo recente comparou os indutores de ovulação hCG (3.000 UI) e GnRH em vacas leiteiras que receberam embrião proveniente de produção *in vitro*. Observou-se que vacas tratadas com hCG tiveram maior taxa de prenhez (55%), quando comparadas aos animais que receberam GnRH (26,7%) (Garcia-Ispierto et al., 2021). Em outro estudo (Garcia-Ispierto et al., 2018), também foram comparadas duas doses de hCG (1.000 UI e 3.000 UI) ao GnRH, em que foi observado maior tamanho de CL em animais tratados com 3.000 UI de hCG e maior taxa de prenhez cumulativa após duas IATFs, em relação aos grupos GnRH e 1.000 UI de hCG. Quando utilizados 1.500 UI de hCG em diferentes momentos, no dia da IA (dia 0), 7 dias após a IA (dia 7), 14 dias após a IA (dia 14) ou nos dias 0, 7 e 14, não foi observada diferença entre os grupos tratados com hCG e o grupo controle (solução fisiológica), em relação à concentração de P4 e taxa de prenhez (Agarwal et al. 2021). Por outro lado, o tratamento com

hCG (3.000 UI) melhorou as taxas de ovulação ao longo do ano em vacas leiteiras em anestro e as taxas de prenhez em vacas leiteiras em anestro, sob condições de estresse térmico, em comparação ao tratamento com GnRH (Garcia-Ispuerto et al., 2019). Na tentativa de substituir o GnRH por hCG (1500 UI) como indutor de ovulação final nos protocolos Presynch e Ovsynch, foram encontrados melhores resultados para taxa de prenhez quando utilizado o hormônio GnRH, sendo desaconselhado pelos autores a substituição (Marthold et al., 2016).

Estudos indicam que a dose de hCG e os resultados sobre o desempenho reprodutivo variam amplamente, justificando uma investigação mais aprofundada do hCG como indutor de ovulação e agente luteotrófico em protocolos de IATF e TETF. Avaliar uma dose economicamente viável, capaz de induzir ovulação síncrona, conhecer a concentração plasmática de β -hCG ao longo do tempo, e identificar os efeitos sobre a função luteal e taxa de prenhez, permitiria concluir sobre a viabilidade do uso de hCG nas biotécnicas reprodutivas. Assim, os objetivos deste estudo foram: 1) determinar a curva de concentração sérica de β -hCG após a aplicação de 1.000 UI do hormônio por via intramuscular; 2) avaliar o efeito de 1.000 UI de hCG sobre a função luteal (produção de progesterona), diâmetro, área e circunferência do corpo lúteo; 3) mensurar o efeito de 1.000 UI de hCG sobre as concentrações intrafolliculares dos hormônios esteroides, estradiol e progesterona durante a luteinização (24 horas após a indução da ovulação).

Material e métodos

Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Projeto nº 41037) e da Universidade Federal de Pelotas (código 31587-2020).

Experimento 1: Curva de concentração de β -hCG ao longo do tempo

Este experimento teve como objetivo avaliar a curva de concentração sérica de β -hCG ao longo do tempo após indução da ovulação com 1.000 UI de hCG. Para isso, foram utilizadas fêmeas bovinas das raças Jersey e Holandês (n=7), não gestantes e não lactantes, com escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 4 (1-5). Os animais tiveram o seu ciclo estral controlado a partir de um protocolo hormonal baseado na introdução de um dispositivo intravaginal (DIV) contendo progesterona (P4) no D0, que permaneceu durante 7 dias, juntamente com a

aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol. No D7, os DIVs foram removidos e se procedeu a aplicação IM de 400 UI de gonadotrofina coriônica humana e de 500 μ g de prostaglandina F2 α (PGF). No D10, foi realizada a mensuração do diâmetro folicular por ultrassonografia modo B; os animais com folículos de diâmetro superior a 11 mm (n=5) receberam uma administração de 1.000 UI de hCG por via IM e foram submetidos à coleta de sangue de vasos coccígeos 0 (D0), 24 (D1), 96 (D4) e 168 horas (D7) após a aplicação do hormônio por via IM. As dosagens séricas de β -hCG foram realizadas pelo método de quimiluminescência, utilizando um kit comercial, com sensibilidade de < 0,6 mIU/mL.

Experimento 2: Efeito da hCG sobre a função luteal e características estruturais do CL

Objetivou avaliar o efeito da hCG isoladamente, como indutor de ovulação, sobre a função luteal (síntese de progesterona), características morfológicas (diâmetro, área e circunferência) e sobre a perfusão sanguínea do CL. Vacas das raças Jersey e Holandês (n=23), cíclicas, não gestantes e não lactantes, com ECC entre 2,5 e 4,5 (1-5), foram submetidas a um protocolo hormonal com uso de um DIV contendo 1 g de progesterona, associado à administração intramuscular de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) e 10 μ g de acetato de buserelina no dia zero (D0). Os DIVs foram removidos no D8, com simultânea aplicação de 500 μ g de PGF. No D10, os animais foram avaliados por ultrassonografia transretal para mensuração do diâmetro do folículo dominante. Todas as vacas que possuíam folículo com diâmetro superior a 10 mm foram alocadas em dois grupos, de acordo com o diâmetro folicular (igualmente equilibrado entre os dois grupos): grupo hCG (n=9), que recebeu 1.000 UI de hCG por via IM; grupo GnRH (n=9), que recebeu a administração IM de 10 μ g de acetato de buserelina.

Todos os animais passaram por avaliação ultrassonográfica para identificação da presença de CL no ovário onde estava localizado o folículo dominante nos dias 5 e 12 (D5 e D12), quando também foram gravados vídeos de curta duração para mensuração objetiva do diâmetro, área e circunferência dos CLs. A área lútea foi medida usando uma imagem estática em modo B e a função de rastreamento. Para corpos lúteos com cavidade no seu interior, a área lútea foi obtida subtraindo-se a área da cavidade da área total do CL. A circunferência do CL foi calculada por meio de compassos internos do equipamento de ultrassom. Em D5 e D12, após administração dos indutores de ovulação, também foi realizada a coleta de sangue a partir dos vasos coccígeos; as

amostras de soro obtidas foram encaminhadas para a dosagem de progesterona por quimiluminescência (kit comercial com sensibilidade de 0,21 ng/mL), com coeficientes de variação intraensaio e inter-ensaio inferiores a 10%.

Experimento 3: Efeito da hCG sobre as concentrações dos hormônios esteroides (estradiol e progesterona) intrafoliculares

Para mensurar a ação da hCG sobre as concentrações intrafoliculares de estradiol e progesterona 24 horas após a sua aplicação, vacas da raça Jersey (n=14), cíclicas, não gestantes e não lactantes, com ECC entre 3 e 4,5 (1-5) foram submetidas a um protocolo hormonal de controle do ciclo estral, com a administração de um DIV contendo 1g de P4 concomitante com a administração IM de 2 mg de BE. No D8, os DIVs foram removidos e foi realizada a aplicação IM de 500 µg de PGF. No D10, os animais tiveram o diâmetro do folículo dominante avaliado por ultrassonografia. As vacas com folículo superior a 10 mm de diâmetro foram distribuídas de forma equilibrada entre os grupos: hCG (n=7), que recebeu 1.000 UI de hCG por via IM; ou GnRH (n=6), em que as fêmeas receberam, por via IM, 10 µg de acetato de buserelina.

No D11, 24 horas após administração do indutor de ovulação, os animais foram avaliados novamente por ultrassonografia para verificar a presença do folículo pré-ovulatório anteriormente examinado, e as fêmeas que ainda não tinham ovulado (grupo hCG 6/7 e grupo GnRH 3/6) passaram por aspiração do maior folículo presente nos ovários, após higienização da região do períneo e vulva e anestesia epidural com lidocaína. O fluido folicular foi armazenado em microtubos, congelados a -20 °C, posteriormente destinado a um laboratório comercial para a dosagem de estradiol e progesterona.

Análise estatística

Dados contínuos foram analisados quanto à distribuição e normalizados, quando necessário. Análises pareadas foram realizadas com o teste T de Student, incluindo a vaca no modelo. Dados de diâmetro folicular, concentrações de estradiol e progesterona no fluido folicular foram comparadas por

análise de variância, utilizando nível de significância de 5%.

Resultados e discussão

Experimento 1

A maior concentração sérica de β-hCG (Figura 1) foi observada 24 horas após a administração de hCG por via intramuscular. Observou-se redução da β-hCG sérica até o quarto dia (96 horas), sendo que no dia sete após a hCG a concentração em todos os animais era inferior a 0,2 mUI/mL (limite inferior do ensaio).

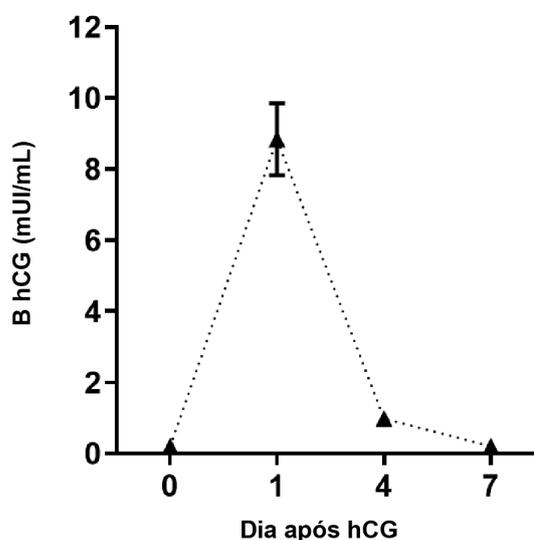


Figura 1. Concentração sérica de β-hCG (mUI/mL) 0 (dia 0), 24 (dia 1), 96 (dia 4) e 168 horas (dia 7) após a aplicação de 1.000 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG) por via intramuscular.

Experimento 2

Em relação às características do CL (Figura 2), foi observado maior diâmetro ($P=0,01$), área ($P=0,04$) e circunferência ($P = 0,02$) do corpo lúteo em animais tratados com hCG, quando comparados ao grupo GnRH.

A concentração sérica de progesterona (Figura 2) não foi afetada pela administração de hCG de forma isolada, não havendo diferença significativa entre os grupos GnRH e hCG ($P > 0,05$).

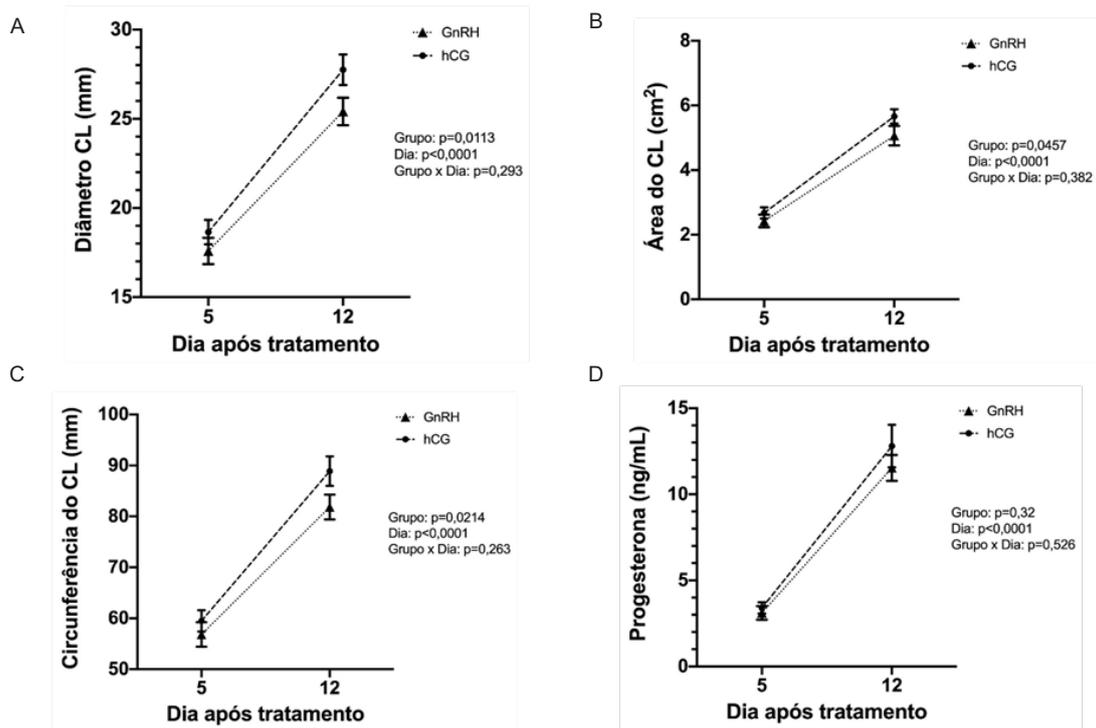


Figura 2. Diâmetro (A), área (B), circunferência (C) do corpo lúteo (CL) (mm) e concentração de progesterona sérica (D) nos dias 5 e 12 após os tratamentos os grupos avaliados.

Nota: GnRH (n=9), grupo que recebeu como indutor de ovulação 10 µg de acetato de buserelina (análogo ao GnRH); e hCG (n=9), grupo no qual administrou-se 1.000 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG) como indutor de ovulação. GnRH: hormônio liberador de gonadotrofinas.

Experimento 3

A administração de hCG não afetou as concentrações intrafoliculares (Figura 3) de estradiol e progesterona 24 horas após a sua administração. Os grupos GnRH e hCG não diferiram significativamente quanto à concentração desses hormônios esteroides ($P > 0,05$).

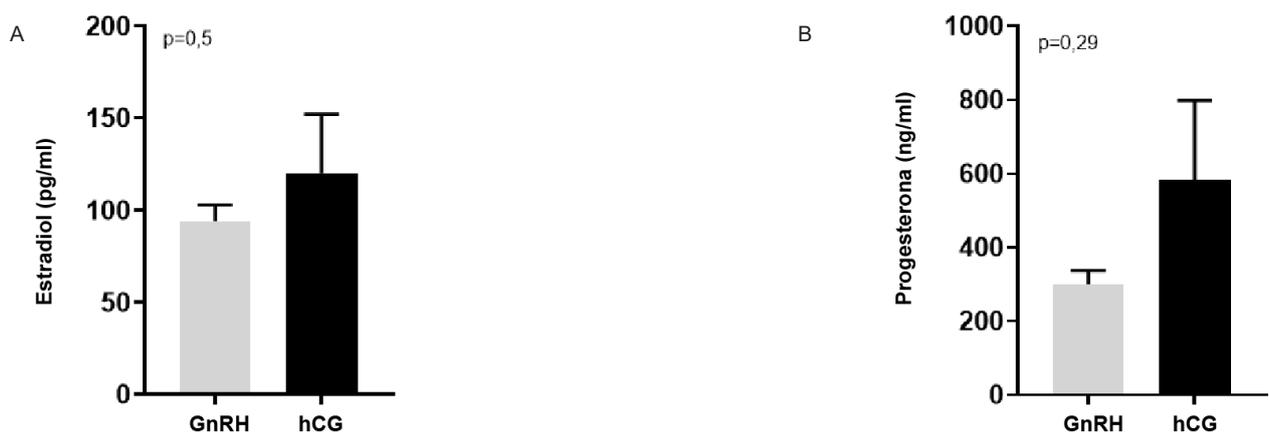


Figura 3. Concentração intrafolicular de estradiol (A) e progesterona (B) 24 horas após a administração dos tratamentos nos grupos avaliados.

Nota: GnRH (n=3), grupo que recebeu como indutor de ovulação 10 µg de acetato de buserelina (análogo ao GnRH); hCG (n=6), grupo no qual administrou-se 1.000 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG) como indutor de ovulação. GnRH: hormônio liberador de gonadotrofinas.

Neste estudo, foram dosadas as concentrações de β -hCG ao longo do tempo após a indução da ovulação com 1.000 UI de hCG. Observou-se um pico de concentração 24 horas após o tratamento, sendo que, uma semana após a administração, as concentrações de β -hCG retornaram a níveis semelhantes à hora zero (0 hora). Schmitt et al. (1996) relataram um pico na concentração de hCG próximo às 10 horas após o tratamento com 3.000 UI de hCG em novilhas (1.000 UI por via intravenosa e 2.000 UI por via intramuscular); essas concentrações diminuíram, mas apresentaram nova elevação por volta das 30 horas após a administração; além disso, as concentrações de hCG permaneceram superiores à hora 0 e em relação ao grupo controle até 66 horas após o tratamento. Ainda, Nascimento et al. (2013) dosaram o perfil de hCG circulante, em vacas leiteiras, entre 0 e 168 horas após a administração de 3.300 UI de hCG, em que foram observadas maiores concentrações entre 4 e 12 horas após o tratamento, seguidas pela redução a partir de 24 horas, atingindo concentrações que não diferiram da hora zero, às 72 horas após o tratamento. As concentrações máximas de hCG observadas no presente estudo foram inferiores às reportadas na literatura, o que pode ser atribuído às diferentes doses utilizadas e aos momentos de avaliação.

Em um segundo momento, foi avaliado o efeito da hCG na síntese de progesterona e nas características do corpo lúteo. Observou-se que o tratamento com hCG como indutor de ovulação não alterou as concentrações séricas de P4, mas resultou em corpos lúteos com maior diâmetro, área e circunferência, em comparação ao GnRH, possivelmente refletindo o efeito luteotrófico. Esse efeito da hCG sobre o tamanho do corpo lúteo (área lútea primária, diâmetro e área lútea total) já foi descrito anteriormente, quando administrado cinco dias após a ovulação (Garcia-Ispuerto et al., 2018). Em outro estudo, Maillo et al. (2014) demonstraram que o tratamento com hCG 24 horas após o início do estro não teve efeito sobre a área do CL, porém uma única injeção intramuscular de 3.000 UI de hCG, 48 horas após o estro ou 72 horas após o início do estro, aumentou a área do CL do dia 6 ao 12 e do dia 9 ao 12, respectivamente. Consistente com os efeitos no corpo lúteo, a administração de hCG no dia 2 aumentou significativamente a concentração circulante de P4, em comparação com o controle, do dia 6 ao 11, diferindo do que se observou neste estudo.

Em relação às concentrações intrafoliculares de estradiol e progesterona 24 horas após os tratamentos, avaliadas no terceiro experimento, não foram

observadas diferenças entre os grupos. No entanto, apenas uma das fêmeas do grupo hCG ovulou até 24 horas após o tratamento, enquanto no grupo GnRH três das seis vacas ovularam até 24 horas após a aplicação do indutor, o que poderia sugerir que as ovulações induzidas por hCG ocorrem mais tardiamente em relação ao GnRH. Liu et al. (2019) compararam o momento da ovulação utilizando os indutores GnRH (250 μ g de gonadorelina) ou hCG (3.000 UI), no início do diestro (5,5 a 6,5 dias após a ovulação) e meio do diestro (9 a 10 dias após a ovulação) em vacas leiteiras em lactação. Esses autores demonstraram que a ovulação dos animais que receberam GnRH ocorre $30,0 \pm 1,0$ e $28,8 \pm 0,4$ horas, nos grupos meio e início do diestro, respectivamente. Já as vacas que receberam hCG ovularam $35,8 \pm 4,6$ e $32,8 \pm 2,2$ horas, para metade e início do diestro, respectivamente. Ainda que os autores afirmem que as ovulações induzidas por hCG são mais tardias, não houve diferença estatística entre os indutores, quando comparados na mesma fase do ciclo estral.

Embora os achados descritos nesta publicação não confirmem a hipótese de que a hCG seria capaz de melhorar a capacidade esteroidogênica do corpo lúteo, cabe ressaltar que se utilizou uma dose inferior (1.000 UI) àquela da maioria dos estudos descritos na literatura, até mesmo inferior à recomendada pelo fabricante. Estudos futuros devem ser conduzidos para testar uma dose economicamente viável para aplicação prática em protocolos hormonais de TETF, ou ainda em categorias específicas, que necessitam de suporte para garantir maiores concentrações de progesterona e que sejam compatíveis com o reconhecimento e manutenção da gestação.

Conclusões

Com base nos achados deste estudo, utilizando vacas cíclicas e 1.000 UI de hCG como indutor de ovulação, é possível concluir que as concentrações séricas de β -hCG atingem um pico de concentração dentro de 24 horas, sendo que no sétimo dia não diferiram da hora 0 (horário do tratamento). A administração de hCG, quando utilizada como indutor de ovulação de forma isolada, refletiu em maior diâmetro, área e circunferência do CL, sem incremento na síntese de progesterona. Ainda, o processo de luteinização não diferiu entre vacas que tiveram a ovulação induzida com hCG ou GnRH. Novas pesquisas devem ser conduzidas para investigar a ação da hCG, na dose utilizada, em vacas com deficiência em gonadotrofinas e em relação à taxa de prenhez.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (Fapergs; edital RITEs 06/2021, 22/2551-0000391-5) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (310932/2021-1; 305650/2022-0; 175263/2023-0), pelo apoio financeiro.

Referências

- AGARWAL, S.; GUPTA, H. P.; PRASAD, S.; VERMA, P. K.; KHANAM, A.; KHAN, F. A. Effect of various hCG treatment protocols on luteal characteristics, plasma progesterone concentration, and pregnancy in normal cyclic Indian crossbred dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, p. 1-7, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S11250-021-02665-8/figures/7>. Acesso em: 2 out. 2024.
- BURNS, M. G.; BUTTREY, B. S.; DOBBINS, C. A.; MARTEL, C. A.; OLSON, K. C.; LAMB, G. C.; STEVENSON, J. S. Evaluation of human chorionic gonadotropin as a replacement for gonadotropin-releasing hormone in ovulation-synchronization protocols before fixed timed artificial insemination in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2539–2548, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2527/JAS.2008-1122>. Acesso em: 2 out. 2024.
- CUNHA, T. O.; MARTINEZ, W.; WALLESER, E.; MARTINS, J. P. N. Effects of GnRH and hCG administration during early luteal phase on estrous cycle length, expression of estrus and fertility in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 173, p. 23–31, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.theriogenology.2021.06.010>. Acesso em: 2 out. 2024.
- CUNHA, T. O.; MARTINS, J. P. N. Graduate student literature review: effects of human chorionic gonadotropin on follicular and luteal dynamics and fertility in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 105, p. 8401–8410, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/JDS.2022-21991>. Acesso em: 2 out. 2024.
- DE RENSIS, F.; LÓPEZ-GATIUS, F.; GARCÍA-ISPIERTO, I.; TECHAKUMPU, M. Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. **Theriogenology**, v. 73, p. 1001-1008, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.theriogenology.2009.11.027>. Acesso em: 2 out. 2024.
- GARCIA-ISPIERTO, I.; DE RENSIS, F.; CASAS, X.; CABALLERO, F.; MUR-NOVALES, R.; LÓPEZ-GATIUS, F. Reproductive performance of lactating dairy cows after inducing ovulation using hCG in a five-day progesterone-based fixed-time AI protocol. **Theriogenology**, v. 107, p. 175–179, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.theriogenology.2017.11.012>. Acesso em: 2 out. 2024.
- GARCIA-ISPIERTO, I.; DE RENSIS, F.; CASAS, X.; CABALLERO, F.; SERRANO-PÉREZ, B.; LÓPEZ-GATIUS, F. Inducing ovulation with hCG in a five-day progesterone-based fixed-time AI protocol improves the fertility of anestrous dairy cows under heat stress conditions. **Theriogenology**, v. 124, p. 65–68, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.theriogenology.2018.10.015>. Acesso em: 2 out. 2024.
- GARCIA-ISPIERTO, I.; LLOBERA-BALCELLS, M.; LÓPEZ-GATIUS, F. Inducing ovulation with human chorionic gonadotropin improves the pregnancy rate in lactating dairy cows receiving an in vitro-produced embryo. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 56, p. 1145–1147, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/RDA.13971>. Acesso em: 2 out. 2024.
- LIU, T. C.; HO, C. T.; LI, K. P.; CHANG, C. C.; CHAN, J. P. W. Human chorionic gonadotropin (hCG)-induced ovulation occurs later but with equal occurrence in lactating dairy cows: comparing hCG and gonadotropin-releasing hormone protocols. **Journal of Reproduction and Development**, v. 65, p. 507–514, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1262/JRD.2019-037>. Acesso em: 2 out. 2024.
- MAILLO, V.; DUFFY, P.; O'HARA, L. DE; FRUTOS, C.; KELLY, A. K.; LONERGAN, P.; RIZOS, D. Effect of hCG administration during corpus luteum establishment on subsequent corpus luteum development and circulating progesterone concentrations in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 26, p. 367–374, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/RD12353>. Acesso em: 2 out. 2024.
- MARTHOLD, D.; DETTERER, J.; KOENIG, VON BORSTEL U.; GAULY, M.; HOLTZ, W. Fixed-time insemination in pasture-based medium-sized dairy operations of Northern Germany and an attempt to replace GnRH by hCG. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 51, p. 85–90, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/RDA.12649>. Acesso em: 2 out. 2024.
- NASCIMENTO, A. B.; BENDER, R. W.; SOUZA, A. H.; AYRES, H.; ARAUJO, R. R.; GUENTHER, J. N.; SARTORI, R.; WILTBANK, M. C. Effect of treatment with human chorionic gonadotropin on day 5 after timed artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 2873-2882, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/JDS.2012-5895>. Acesso em: 2 out. 2024.
- ROSSIGNOLO, E. A. de A.; SILVA, N. C. da; STOLF, R. L.; CAVALIERI, F. L. B.; COLOMBO, A. H. B.; ANDREAZZI, M. A.; SENEDA, M. M.; MOROTTI, F. Evaluation of hCG as gonadotropic support to timed embryo transfer protocol in beef cattle. **Theriogenology**, v. 195, p. 24–30, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.theriogenology.2022.10.004>. Acesso em: 2 out. 2024.

SCHMITT, E. J.; DIAZ, T.; BARROS, C. M.; DE LA SOTA, R. L.; DROST, M.; FREDRIKSSON, E. W.; STAPLES, C. R.; THORNER, R.; THATCHER, W. W. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 1074-1083, 1996. DOI: 10.2527/1996.7451074x.

SMITZ, J.; PLATTEAU, P. Influence of human chorionic gonadotrophin during ovarian stimulation: an overview. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 18, article number 80, 2020. DOI: 10.1186/s12958-020-00639-3.