



Avaliações ultrassonográficas da função lútea em pequenos ruminantes

Ultrasound evaluations of luteal function in small ruminants

Maria Emilia Franco Oliveira^{1,2*}, Joedson Dantas Gonçalves¹, Jeferson Ferreira da Fonseca²

¹Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Via de acesso Prof. Dr. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil

²Embrapa Caprinos e Ovinos, Estrada Sobral/Groaíras, km 04, CP 145, CEP 62010-970 Sobral, CE, Brazil

Resumo

A função lútea exerce papel determinante no sucesso reprodutivo de pequenos ruminantes e, por consequência, na eficácia das biotécnicas aplicadas à reprodução. A ultrassonografia, especialmente com o advento da modalidade Doppler colorido, tem se consolidado como ferramenta indispensável para a avaliação da atividade luteal, permitindo monitoramento não invasivo, em tempo real, e com alta acurácia. Este trabalho aborda as aplicações da ultrassonografia modo B e Doppler na caracterização do corpo lúteo (CL), destacando parâmetros biométricos, ecotexturais e hemodinâmicos que se correlacionam diretamente com a funcionalidade endócrina, representada pela produção de progesterona (P4). A técnica permite identificar precocemente disfunções como a regressão prematura do corpo lúteo (RPCL), bem como acompanhar os efeitos de tratamentos hormonais luteotróficos, como a administração de hCG. A análise objetiva de imagens por softwares específicos amplia a precisão das avaliações, tornando a ultrassonografia uma ferramenta de apoio essencial à tomada de decisão em programas de inseminação artificial, superovulação e transferência de embriões. Conclui-se que a integração da ultrassonografia na rotina reprodutiva é estratégica para otimizar a seleção de doadoras, antecipar intervenções e elevar as taxas de prenhez em caprinos e ovinos.

Palavras-chave: Ultrassom, modo-B, Doppler colorido, corpo lúteo, ovinos, caprinos.

Abstract

Luteal function plays a decisive role in the reproductive success of small ruminants and, consequently, in the effectiveness of biotechniques applied to reproduction. Ultrasonography, especially with the advent of color Doppler, has become an indispensable tool for evaluating luteal activity, allowing non-invasive, real-time monitoring with high accuracy. This work addresses the applications of B-mode and Doppler ultrasonography in the characterization of the corpus luteum (CL), highlighting biometric, echotextural, and hemodynamic parameters that directly correlate with endocrine functionality, represented by the production of progesterone (P4). The technique allows early identification of dysfunctions such as premature regression of the corpus luteum (RPCL) and monitoring the effects of luteotrophic hormonal treatments, such as the administration of hCG. Objective image analysis using specific software increases the accuracy of assessments, making ultrasound an essential tool for decision-making in artificial insemination, superovulation, and embryo transfer programs. It is concluded that the integration of ultrasound into the reproductive routine is strategic for optimizing donor selection, anticipating interventions, and increasing pregnancy rates in goats and sheep.

Keywords: Ultrasound, B-mode, color Doppler, corpus luteum, sheep, goats.

Introdução

A função lútea desempenha papel central na regulação do ciclo estral e na manutenção da gestação, sendo determinante para o sucesso reprodutivo e para a eficiência das biotécnicas aplicadas à reprodução de pequenos ruminantes (Oliveira et al., 2023). Nesse cenário, a ultrassonografia desponta como ferramenta indispensável para o estudo e monitoramento da função ovariana, especialmente da atividade do corpo lúteo (CL), permitindo avaliações precisas, não invasivas e em tempo real (Oliveira et al., 2023; Bevilacqua et al., 2023).

As aplicações da ultrassonografia na avaliação e/ou diagnóstico da função lútea abrangem desde estudos fisiológicos sobre a dinâmica luteal até o monitoramento de respostas a tratamentos hormonais e

diagnóstico de disfunções luteais. Inicialmente restrita à observação morfológica por meio da ultrassonografia modo-B, a técnica evoluiu de modo a incorporar recursos de análise computadorizada e outras modalidades ultrassonográficas como o Doppler colorido e Doppler espectral, ampliando significativamente sua aplicabilidade. Hoje, é possível correlacionar características biométricas e ecotexturais do CL obtidas por ultrassonografia modo-B, como área, ecogenicidade e heterogeneidade de pixels, à sua funcionalidade endócrina, representada principalmente pela produção de P4 (Bevilaqua et al., 2023; Figueira et al., 2020; Oliveira et al., 2018; Cosentino et al., 2018).

A avaliação Doppler colorida, por sua vez, tem se mostrado altamente sensível para avaliação da vascularização sanguínea luteal, sendo considerada uma das formas mais sensíveis e precoces de diagnóstico de gestação (Arashiro et al., 2018; Cosentino et al., 2018) e disfunções, como a regressão luteal prematura (RPCL) em pequenos ruminantes (Oliveira et al., 2023; Rocha et al., 2022; Bevilaqua et al., 2023). Estudos demonstram que a avaliação subjetiva da vascularização por Doppler colorido pode prever a gestação a partir do 17º dia pós-cobertura, superando a acurácia da avaliação morfológica do útero pela ultrassonografia modo-B em fases iniciais da gestação (Arashiro et al., 2018; Cosentino et al., 2018). Essa precocidade diagnóstica favorece decisões reprodutivas estratégicas, como a ressincronização de fêmeas não gestantes, otimizando o manejo e os intervalos entre serviços. Essa abordagem permite decisões reprodutivas mais precoces e eficazes, como a ressincronização de fêmeas não gestantes em menor intervalo, com ganhos significativos no manejo reprodutivo (Arashiro et al., 2018).

Em caprinos e ovinos, a RPCL é grande causa de preocupação, pois pode reduzir o número médio de embriões transferíveis em fêmeas doadoras (Oliveira et al., 2014; Dias et al., 2022), atingindo cerca de 25% de ovelhas superovuladas (Rocha et al., 2021). Além disso, concentrações inadequadas de P4 na fase luteal inicial estão associadas a 30–40% das perdas embrionárias em ovelhas (D'Alessandro e Martemucci, 2016), muitas vezes em decorrência de corpos lúteos (CL) de má qualidade. Nestes contextos, a ultrassonografia torna-se fundamental para monitorar os processos de luteogênese e luteólise, tanto em fases iniciais quanto avançadas do ciclo.

Estratégias hormonais têm sido exploradas para otimizar a função lútea e mais uma vez a ultrassonografia é uma tecnologia que permite acompanhar e estudar melhor suas respostas. O uso de hormônios luteotróficos, como a gonadotrofina coriônica humana (hCG), tem mostrado resultados promissores na indução de corpos lúteos acessórios (CLA), no aumento da área luteal e de sua vascularização, elevando os níveis de progesterona (P4) (Rodrigues et al., 2022; 2023). Esses efeitos resultam em maior suporte à gestação e aumento das taxas de prenhez, especialmente em condições desafiadoras, como o anestro sazonal ou o uso de protocolos superovulatórios (Vergani et al., 2020; Côrtes et al., 2021; Fonseca et al., 2022; Dias et al., 2022; Morais et al., 2020). A ultrassonografia Doppler tem sido amplamente empregada para avaliar a eficácia desses tratamentos, assim como na já mencionada identificação precoce de RPCL (Oliveira et al., 2023; Rocha et al., 2022).

Adicionalmente, a ultrassonografia vem sendo utilizada como critério diagnóstico para seleção de doadoras em programas de produção *in vivo* de embriões. A identificação de CLs funcionais por Doppler contribui para prever o sucesso gestacional e orientar a tomada de decisão quanto à sincronização e transferência (Dias et al., 2022; Oliveira et al., 2022). Estudos recentes reforçam que a adequação da duração e da composição dos protocolos hormonais influencia diretamente a luteogênese e os desfechos reprodutivos, evidenciando a importância do monitoramento ultrassonográfico contínuo (Figueira et al., 2020; Oliveira et al., 2022; Fonseca et al., 2022).

Portanto, a ultrassonografia, especialmente com o advento da modalidade Doppler, representa um marco na avaliação da função lútea em ovinos e caprinos. Sua aplicação proporciona diagnósticos precoces e precisos, maior controle sobre as intervenções hormonais e avanços significativos na eficiência das biotécnicas reprodutivas aplicadas a essas espécies.

Luteogênese

A luteogênese é um processo de formação do CL que ocorre durante a fase inicial do diestro, após a ovulação, ocorrendo por meio da luteinização das células remanescentes do folículo recém ovulado, dando origem ao tecido luteal, esse, capaz de secretar P4, hormônio responsável por preparar o ambiente uterino para a chegada da gestação (Shrestha et al., 2019). O processo de luteogênese envolve modificações morfológicas e bioquímicas altamente reguladas, com intensa angiogênese e remodelação tecidual. Durante e após o processo de ovulação, as células foliculares (teca e granulosa) sofrem um processo de luteinização, principalmente devido aos picos de LH, e assim dividindo as células luteais em pequenas e grandes, sendo as pequenas oriundas das células da teca e as grandes oriundas das células da granulosa (Farin et al., 1988). A estrutura luteal também é formada pelo recrutamento de células endoteliais, do sistema imune e por

fibroblastos na cavidade que anteriormente era ocupado pelo folículo ovulatório (Diaz et al., 2002). As células luteais pequenas, se multiplicam, mas não aumentam de tamanho, e correspondem a 20 a 30% do volume do CL. Já as células luteais grandes, não se multiplicam, mas aumentam de tamanho, e correspondem a 70% do volume do tecido luteal (Niswender et al., 2000; Forde et al., 2011). Quando o CL atinge seu diâmetro máximo, ocorre a fase estacionária, com manutenção das dimensões luteais e máxima secreção de P4 (Parraguez et al., 2013). Quando há falhas nesse processo, ocorre a luteólise prematura, um processo de regressão do CL.

Associado a isso, há a reorganização da vascularização da região, ocorrendo a formação de uma estrutura chamada corpo hemorrágico, que posteriormente é transformada em CL por desenvolvimento e diferenciação celular (Diaz et al., 2002). Do ponto de vista funcional, a luteogênese ocorre de forma sincronizada à angiogênese, o que assegura a nutrição e oxigenação das células luteais, uma vez que o tecido luteal altamente irrigado é essencial para a síntese e liberação de P4, o hormônio chave na manutenção da gestação (Shrestha et al., 2019). O sucesso dessa transição folículo-lútea é fundamental, pois concentrações subótimas de P4 nas fases iniciais do ciclo podem comprometer a preparação do endométrio para a implantação embrionária, resultando em falhas reprodutivas como pela perda embrionária precoce ou insuficiência lútea (Rodrigues et al., 2022; Oliveira et al., 2023).

A ultrassonografia, especialmente com o uso do modo-B e do Doppler colorido, tem sido amplamente utilizada para o acompanhamento da luteogênese. A ultrassonografia modo-B tradicional tem sido amplamente utilizada para caracterizar o crescimento luteal por meio de avaliação de sua morfologia e de parâmetros biométricos, como diâmetro, área e estimativa do volume do CL. No entanto, essa técnica apresenta certas limitações, especialmente na detecção de alterações funcionais precoces ou em casos de RPCL (Rocha et al., 2022).

A introdução da ultrassonografia Doppler colorido ampliou consideravelmente o potencial diagnóstico da funcionalidade luteal. Essa tecnologia permite a avaliação de características da vascularização sanguínea do CL, parâmetro diretamente relacionado à sua capacidade de secretar P4, possibilitando inferências sobre a atividade funcional do tecido (Bevilaqua et al., 2023; Oliveira et al., 2023). Estudos demonstram que, já nos primeiros dias após a ovulação, o aumento progressivo da área do CL e da intensidade do sinal Doppler (fluxo sanguíneo) correlaciona-se com o aumento das concentrações plasmáticas de P4 (Rodrigues et al., 2022; Oliveira et al., 2023). Tais parâmetros tornam-se especialmente úteis em programas de reprodução assistida, como a superovulação e a transferência de embriões, nos quais a avaliação precoce da função luteal permite a seleção de doadoras com maior potencial reprodutivo.

O uso do Doppler colorido também se mostrou eficaz para avaliar os efeitos de tratamentos hormonais. A administração de hCG na fase luteal inicial induz a formação de CLa e pode promover hipertrofia do CL original (CLo), com aumento da área vascularizada e consequente elevação das concentrações de P4 (Vergani et al., 2020; Côrtes et al., 2021; Fonseca et al., 2022). Estudos recentes demonstraram que o aumento da vascularização sanguínea luteal após administração de hCG correlaciona-se positivamente com melhores taxas de prenhez, evidenciando o papel luteotrófico do hormônio (Dias et al., 2022; Côrtes et al., 2021; Rodrigues et al., 2023).

Como retromencionado, durante a luteogênese há aumento progressivo da área vascularizada, com um platô na fase de manutenção e queda durante a luteólise, sendo que as alterações hemodinâmicas precedem as morfológicas. Assim, a ultrassonografia Doppler colorido oferece maior capacidade de diagnóstico precoce de disfunções luteais (Bevilaqua et al., 2023; Oliveira et al., 2023; Fonseca et al., 2022). Além disso, a análise ecotextural, obtida por softwares que quantificam a heterogeneidade dos pixels na imagem ultrassonográfica, tem se mostrado promissora na identificação da luteinização incompleta ou da RPCL recém-formados (Bevilaqua et al., 2023).

Em suma, a ultrassonografia surge não apenas como um método diagnóstico, mas também como uma ferramenta de apoio à tomada de decisão em protocolos reprodutivos. Seu uso permite intervenções estratégicas, como o suporte farmacológico com hormônios luteotróficos (ex. hCG) ou a exclusão de doadoras com CLs não funcionais, aumentando as taxas de sucesso das biotécnicas aplicadas (Rodrigues et al., 2023). A ultrassonografia Doppler colorido, por sua vez, consolida-se como ferramenta não invasiva e de alta acurácia para o acompanhamento da luteogênese, diagnóstico funcional do CL e monitoramento de intervenções hormonais em programas reprodutivos de ovinos e caprinos.

Luteólise

A luteólise é um processo de regressão funcional e estrutural do CL, que ocorre basicamente quando não há o reconhecimento materno-fetal, consequentemente ocorrendo a regressão do CL, o que irá gerar a ocorrência de um novo ciclo estral. Durante o processo de luteólise, há diminuição da funcionalidade

da estrutura, com redução na capacidade secretora de P4 e mudanças na vascularização (Shrestha et al., 2019). Esse processo é denominado em duas fases distintas, sendo a fase de regressão luteal, caracterizada pela diminuição na secreção de P4, e a fase de regressão estrutural, onde ocorre a redução das biometrias da estrutura (Trevisol et al., 2013). Convencionalmente, esses processos ocorrem pela liberação de PGF2 α pelo endométrio uterino ou pela sua aplicação exógena. A PGF2 α induz vasoconstricção, diminuindo o aporte sanguíneo luteal e promove a da supressão do fator de crescimento endotelial vascular (Miyamoto e Shirasuna, 2009), conseqüentemente, ocorrendo a regressão do CL.

A luteólise pode ser eficientemente monitorada por meio da ultrassonografia, especialmente com o uso das modalidades modo-B e Doppler colorido. A regressão luteal é um dos principais fatores associados à falha gestacional precoce em pequenos ruminantes e sua detecção precoce é essencial para o sucesso das biotécnicas reprodutivas (Rodrigues et al., 2022; Fonseca et al., 2022). Na ultrassonografia modo-B, a luteólise pode ser identificada pela redução progressiva da área luteal, pelo aumento da heterogeneidade ecotextural e pela alteração da ecogenicidade, que se torna mais elevada à medida que o tecido luteal perde sua função endócrina (Bevilaqua et al., 2023; Figueira et al., 2020). A análise computadorizada de ecotextura complementa a avaliação subjetiva, permitindo mensurações objetivas da densidade de pixels e da uniformidade do parênquima luteal (Oliveira et al., 2023).

A ultrassonografia Doppler colorido, por sua vez, é particularmente sensível para detectar alterações na vascularização luteal, sendo possível observar redução significativa da vascularização sanguínea durante a luteólise. Parâmetros como área com sinal Doppler colorido, índice de vascularização (DA/CLA) e área de fluxo de alta velocidade (HVDA) diminuem progressivamente com a perda da função luteal (Rodrigues et al., 2023; Bevilaqua et al., 2023). Essas alterações precedem as mudanças morfológicas visíveis ao modo-B, o que confere ao Doppler um papel crucial na detecção precoce da regressão luteal (Oliveira et al., 2023; Rocha et al., 2022).

Além disso, as concentrações circulantes de P4 acompanham a diminuição dos parâmetros ultrassonográficos, sendo fortemente correlacionados à área luteal e à vascularização (Rodrigues et al., 2022; 2023). Essa associação permite validar os achados de imagem com dados endócrinos, reforçando o uso da ultrassonografia como ferramenta diagnóstica integrada.

Portanto, a ultrassonografia, em especial na modalidade Doppler, é um recurso preciso e sensível para a identificação da luteólise em cabras e ovelhas, viabilizando o monitoramento funcional do CL em tempo real e subsidiando decisões reprodutivas mais eficazes em protocolos de inseminação, superovulação e transferência de embriões.

Utilização de fármacos para ação luteotrófica

Dentre os fármacos mais utilizados em protocolos hormonais para a reprodução de fêmeas, a gonadotrofina coriônica humana (hCG) vem sendo amplamente utilizada em cabras e ovelhas por conta de sua ação luteotrófica. O hCG é similar em estrutura ao hormônio luteinizante (LH), com uma meia-vida em torno de 39 h, e com ligação aos mesmos receptores de LH (Cole, 2009). A utilização desse fármaco na fase luteal inicial, aumenta as concentrações de P4 em ovelhas (Vergani et al., 2020) e cabras (Rodrigues et al., 2022), devido a sua função de melhorar capacidade esteroidogênica, além disso, aumenta a expressão de fatores proangiogênicos (Wulff et al., 2000), o que incrementa a vascularização da estrutura. O aumento da vascularização luteal, é essencial para a distribuição de esteroides para a corrente sanguínea, pois permite o fornecimento do substrato colesterol, esse, necessário para a síntese de P4 (Acosta e Miyamoto, 2004). Rodrigues et al. (2022) estudando a administração de 300 UI de hCG sete dias após o início do estro em cabras leiteiras, com aumento de área e vascularização luteal, melhorando os níveis de P4.

Outra ação do hCG, é a formação de CLa (Fonseca et al., 2018; Vergani et al., 2020; Rodrigues et al., 2022; Gonçalves et al., 2024). Essa indução a formação de CLa, se dá pela de hCG durante o período em que os folículos antrais em crescimento têm quantidades suficientes de LH, podendo assim formas CLa por meio da estimulação da ruptura de folículos pela luteogênese ou pela luteinização de grandes folículos (Driancourt et al., 2001). Vergani et al. (2020) ao administrar 300 UI de hCG 7,5 após a remoção da esponja, observaram eficiente indução da formação de CLa e na melhoria da biometria do tecido lúteo, bem como dos níveis de P4 em ovelhas Morada Nova em anestro. Gonçalves et al. (2024) também observaram aumento na biometria do tecido lúteo e eficácia na formação de CLa em ovelhas Morada Nova durante a estação de reprodução com aplicação de 300 UI de hCG 7,5 dias após o protocolo hormonal. Em ovelhas superovuladas (Dias et al., 2022) relataram que a administração de 300 UI de hCG durante a fase lútea inicial tem um efeito positivo na manutenção da função lútea.

Características ultrassonográficas de avaliação do tecido luteal

Avaliação biométrica: diâmetro, área e volume do CL

A avaliação da biometria luteal, são considerados bons indicadores de avaliação de CL em desenvolvimento. Além disso, através da US é possível a contagem de CL em dias seriados, para confirmar de houve regressão de CL, ou incrementos de CLa quando aplicado drogas luteotróficas. Para as mensurações e quantificações é selecionado um plano ultrassonográfico de corte que apresente as estruturas em suas maiores dimensões. A partir dos vídeos ultrassonográficos coletados, frames são escolhidos e convertidos em TIFF, e posteriormente as estruturas são analisadas no software Image J® (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) e podem ser visualizados na figura 1. O diâmetro foi calculado pela média de duas medidas perpendiculares. Imagens em modo-B podem ser utilizadas para medir o diâmetro (mm ou cm) e área (mm² ou cm²) do CL. Além disso, pode ser obtido o volume luteal estimado, utilizando a fórmula do volume da esfera ($\frac{4}{3} \times \pi r^3$), com r = radio e $\pi = 3.1416$. (Vergani et al., 2020; Gonçalves et al., 2024). Para CL cavitários, a cavidade não é incluída nas medidas avaliadas.

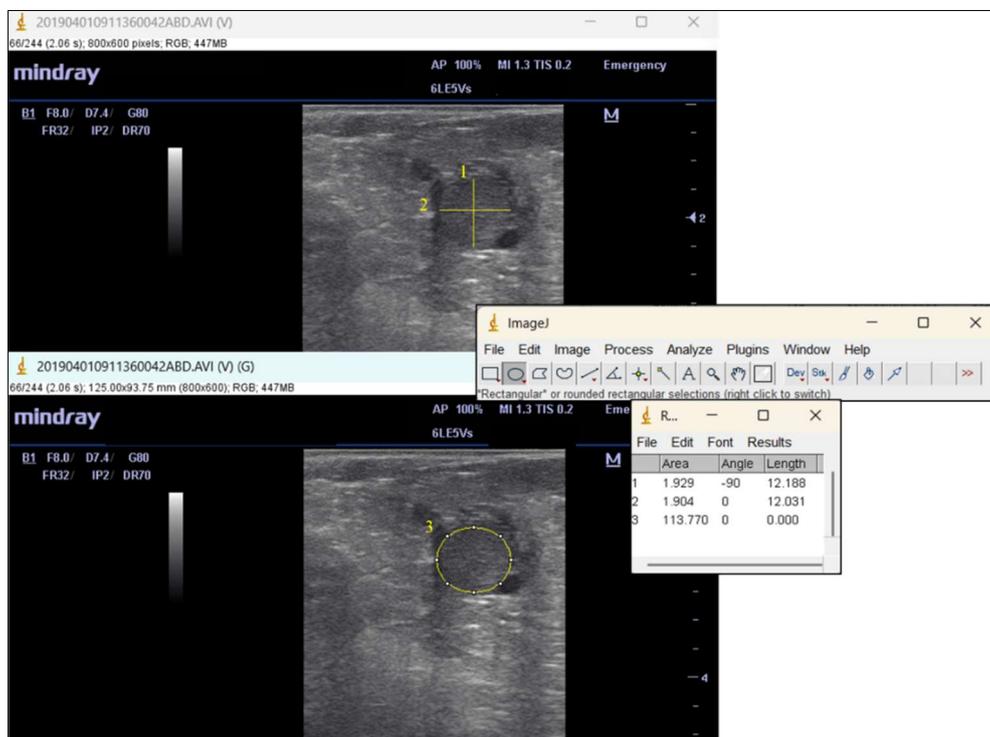


Figura 1. Avaliações biométricas do corpo lúteo (CL) por ultrassonografia modo-B. A linha representada pelo número 1, corresponde ao comprimento da estrutura, e a linha enumerada em 2, corresponde a largura, a médias dos dois valores, corresponde ao diâmetro luteal. O círculo enumerado de número 3, corresponde a medida de área luteal.

Avaliação ecotextural: ecogenicidade e heterogeneidade

A avaliação de ecogenicidade e heterogeneidade são importantes para avaliar o padrão na qual essas estruturas se encontram no momento da avaliação. Essas variáveis têm sido consideradas bons indicadores da função luteal em diferentes espécies (Davies et al., 2006; Simões et al., 2007; Siqueira et al., 2009; Bevilaqua et al., 2023). A ecogenicidade representa basicamente a densidade celular das estruturas (Davies et al., 2006), já a heterogeneidade, representa a ecotextura de um tecido (Siqueira et al., 2009). Diferenças entre valores de ecogenicidade e heterogeneidade entre ovelhas prenhes e não prenhes foram observados por Gonçalves et al. (2024), em que ovelhas prenhes possuem maiores valores ecogênicos que fêmeas não prenhes. Essa diferença esta relacionada a fato de que fêmeas prenhes possuem o CL mais funcional, com alta reorganização tecidual para suprimir as necessidades fisiológicas relacionadas a estrutura (Vrisman et al., 2018). Além disso, Vrisman et al., (2018) afirmaram que maior heterogeneidade do tecido luteal também pode ser observada no início da fase lútea, correspondente a diferenciação celular

para a formação do CL.

Para as avaliações ecogênicas do tecido luteal, frames são escolhidos e convertidos em TIFF a partir de vídeos ultrassonográficos coletados em modo-B. Posteriormente esses frames são imputados no software Image Pro Plus 7.0TM (Media Cybernetics Inc., EUA), na qual são contabilizados os valores numéricos de pixels em escala de cinza de 0 (preto absoluto) a 255 (branco absoluto), sendo a ecogenicidade (valor médio do pixel) e heterogeneidade do pixel (desvio padrão do valor médio do pixel), adquiridos de um círculo feito na maior área possível de cada CL (Figura 2) (Vergani et al., 2020; Gonçalves et al., 2024). Para CL cavitários, a cavidade não é considerada para a análise.



Figura 2. Avaliações ecogênicas do corpo lúteo (CL) por ultrassonografia modo-B. Os valores destacados pelo retângulo amarelo, representam a média de densidade, que equivale a média ecogenicidade da estrutura avaliada. Os valores destacados pelo retângulo azul, representam o desvio padrão da densidade, que equivale a média heterogeneidade da estrutura avaliada.

Avaliação em modo Doppler colorido da vascularização luteal

A utilização da ultrassonografia Doppler colorido vem se tornando indispensável na avaliação de CL para avaliar as respostas de cabras e ovelhas submetidas a protocolos hormonais e na viabilidade de CL em diagnóstico de gestação. Além disso, é considerada um método eficaz para estudar a vascularização e associações com a funcionalidade tecidual em pequenos ruminantes (Oliveira et al., 2014, 2017, 2018). Recetemente, estudos tem utilizado para avaliar a função de CLa utilizando Doppler colorido em cabras (Cosentino et al., 2018; Rodrigues et al., 2022) e ovelhas (Vergani et al., 2020; Gonçalves et al., 2024). Bem como, na utilização de repostas ovarianas de ovelhas submetidas a protocolos superovulatórios para a transferência não cirúrgica de embriões (Dias et al., 2023). A avaliação luteal em modo Doppler colorido se faz necessária em pequenos ruminantes, pois é relatado correlação entre vascularização lútea e concentrações de P4 ao longo do ciclo estral (Figueira et al., 2015). Ainda, Figueira et al. (2015) relata a possibilidade de detecção do início da luteólise, utilizando análises em Doppler colorido.

Para as avaliações relacionadas a vascularização luteal, imagens de modo Doppler são utilizadas para determinar a área de sinais de Doppler colorido em todo o tecido lúteo. O frame que melhor representa o CL no modo Doppler é escolhido e salvo no formato TIFF. Posteriormente, a região de interesse do CL a ser avaliada, é recortada no software FireWorks® (Adobe Systems Incorporated, San Jose, CA, USA) (Figura 3). Essa região de interesse será analisada no software Image J® (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA), na qual é determinado o número de pixels totais, número de pixels coloridos e posteriormente serão imputados em planilha de Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA). Logo após, a porcentagem da vascularização lútea pode ser calculada pela fórmula: (número de pixels de Doppler colorido luteal/número total de pixels luteal X 100) (Vergani et al., 2020; Gonçalves et al., 2024). Já o volume de Doppler colorido luteal pode ser estimado utilizando a fórmula: (média da porcentagem de vascularização lútea x volume luteal somado /100) (Vergani et al., 2020;

Gonçalves et al., 2024).

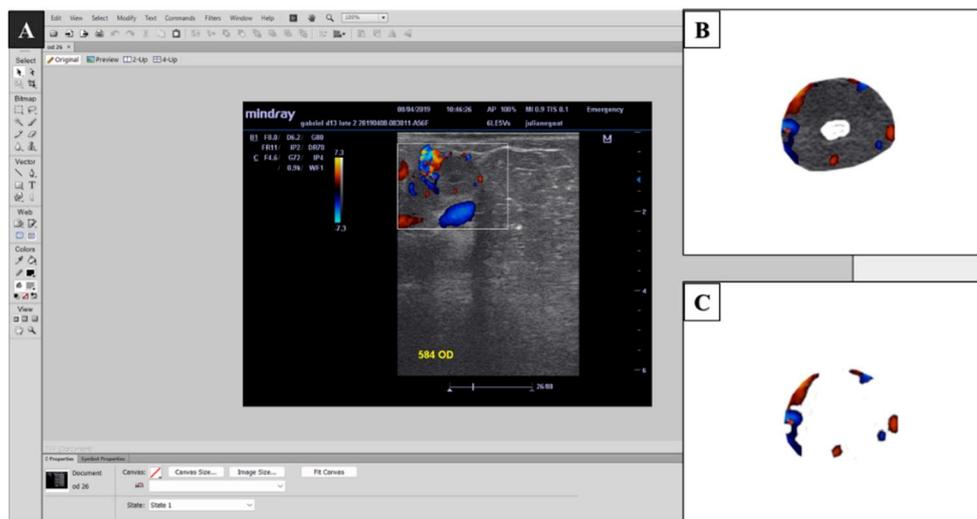


Figura 3. Preparação das regiões de interesse para a contabilização de pixels totais e coloridos. (A) Frame selecionado de corpo lúteo cavitário com a presença de sinais Doppler colorido. (B) Imagem de corpo lúteo cavitário extraída, com a presença de pixels totais. (C) Imagem de apenas pixels coloridos de corpo lúteo cavitário.

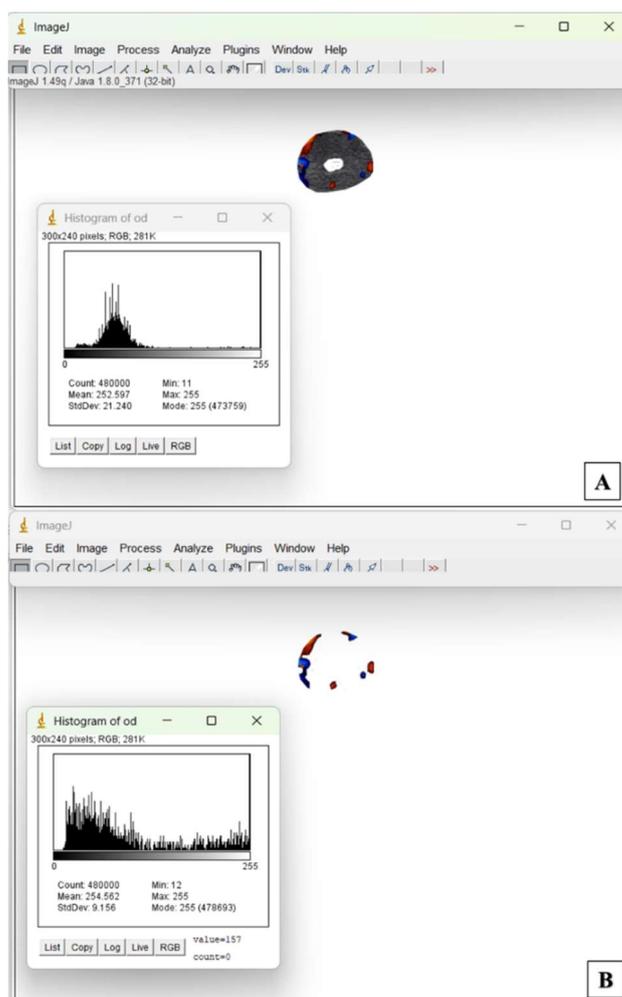


Figura 4. Contagem de pixels de corpo lúteo com sinais Doppler colorido. (A) Contagem total de pixels de corpo lúteo cavitário. (B) Contagem de pixels coloridos de corpo lúteo cavitário.

Avaliação em modo Doppler espectral

As avaliações em modo Doppler espectral normalmente são realizadas na artéria ovariana para se obter índices velocimétricos do fluxo sanguíneo arterial, como os índices de pulsatilidade (PI) e resistividade (RI). Estes índices podem sinalizar a maior atividade ovariana (Carvalho et al., 2008), já que baixos índices de PI e RI tem correlação com maior fluxo sanguíneo. Apesar disso, pouco se sabe sobre a avaliação da função luteal utilizando os índices velocímetros. Ao avaliar as características do fluxo sanguíneo da artéria ovariana, é possível indicar as demandas sanguíneas do ovário como um todo, e não apenas do CL. É esperado, no entanto, que a atividade luteal influencie a demanda nutricional do ovário, principalmente em estágios de maior atividade do CL. Por outro lado, a atividade folicular pode estar simultaneamente acontecendo e exigir alterações do fluxo sanguíneo do órgão. Gonçalves et. (2024) avaliaram a hemodinâmica da artéria ovariana em ovelhas Morada Nova e observaram maior índice de pulsatilidade em fêmeas prenhes que naquelas não prenhes. Já para o índice de resistividade, não foi observado diferença entre estes grupos de fêmeas. Esses resultados não eram esperados, pois acreditava-se que ovário com presença de CL em fêmeas prenhes demandasse maior fluxo sanguíneo para o ovário, entretanto, ressaltam que os índices da artéria ovariana são reflexo das demandas de todo o órgão. O desenvolvimento folicular é um evento que também necessita de demandas nutricionais e de fluxo sanguíneo específico, embora a área de vascularização na parede folicular seja bem menos expressiva do que a do tecido luteal. Contudo, raros são os trabalhos que buscam essa associação, e se faz necessário estudos de forma detalhada sobre a avaliação da funcionalidade CL por meio da ultrassonografia Doppler espectral. Contudo, raros são os trabalhos que buscam essa associação, e se faz necessário estudos de forma detalhada sobre a avaliação da funcionalidade CL por meio da ultrassonografia Doppler espectral, especialmente em pequenos ruminantes em que não é possível fixar o órgão no momento da avaliação.

Considerações Finais

O uso da ultrassonografia, em especial com a aplicação da modalidade Doppler colorido, transformou a avaliação da função luteal em pequenos ruminantes. Ao permitir uma leitura detalhada e precoce da morfologia, ecotextura e vascularização do corpo lúteo, essa tecnologia viabiliza diagnósticos mais precisos, a detecção antecipada de disfunções como a regressão luteal prematura, e o monitoramento efetivo das respostas a tratamentos hormonais. Tais avanços têm impacto direto na melhoria das taxas de gestação e na seleção de doadoras em programas de produção *in vivo* de embriões.

A capacidade de integrar informações estruturais e funcionais do CL, aliada à possibilidade de mensuração objetiva por meio de softwares de análise de imagem, torna a ultrassonografia uma ferramenta robusta e confiável para uso em protocolos reprodutivos. Dessa forma, sua aplicação não apenas aperfeiçoa a eficiência das biotécnicas reprodutivas, mas também contribui para a sustentabilidade e o bem-estar animal nos sistemas produtivos.

Portanto, investir em tecnologia ultrassonográfica e no treinamento de profissionais para seu uso qualificado representa uma estratégia essencial para avançar na eficiência reprodutiva de caprinos e ovinos, consolidando esta ferramenta como um pilar das modernas biotécnicas aplicadas à reprodução animal.

Agradecimentos: MEFO, JDG e JFF são bolsistas CNPq.

Referências

- Acosta TJ, Myamamoto A.** Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation in regression. *Anim Reprod Sci* v.82, p.127–140, 2004.
- Arashiro EKN, Ungerfeld R, Clariget RP, Pinto PHN, Balaro MFA, Bragança GM, Ribeiro LS, Fonseca JFD, Brandão FZ.** Early pregnancy diagnosis in ewes by subjective assessment of luteal vascularisation using colour Doppler ultrasonography. *Theriogenology* v.106, p.247-252, 2018.
- Bevilaqua JR, Rodriguez MGK, Maciel GS, Vergani GB, Fonseca JF, Bartlewski PM, Oliveira MEF.** Luteal function, biometrics, and echotextural attributes in Santa Inês ewes superovulated with different total doses of porcine follicle-stimulating hormone. *Animals* v.13, p.873, 2023.
- Carvalho FC, Chammass MC, Cerri GG.** Physical principles of Doppler ultrasonography. *Ciência Rural* v.38, p.872–879, 2008
- Cole LA.** New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reprod Biol Endocrinol* v.26, p.7-8, 2009.



- Cosentino IO, Balaro MFA, Leal FSC, da Silva CAB, de Souza PRC, Arashiro EKN, Brandão FZ.** Accuracy of assessment of luteal morphology and luteal blood flow for prediction of early pregnancy in goats. *Theriogenology* v.121, p.104–111, 2018.
- Côrtes LR, Souza-Fabjan JMG, Dias DS, Martins BB, Maia ALRS, Veiga MO, Arashiro EKN, Brandão FZ, Oliveira MEF, Bartlewski PM, Fonseca JF.** Administration of a single dose of 300 IU of human chorionic gonadotropin seven days after the onset of estrus improves pregnancy rate in dairy goats by an unknown mechanism. *Domest Anim Endocrinol* v.74, p.106579, 2021.
- D’Alessandro AG, Martemucci G.** Superovulatory response to gonadotrophin FSH/LH treatment and effect of progestin supplement to recipients on survival of transferred vitrified embryos in goats. *Theriogenology* v.85, p.296–301, 2016.
- Davies KL, Bartlewski PM, Pierson RA, Rawlings NC.** Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: A comparison between breeds of sheep with different ovulation rates. *Anim Reprod Sci* v. 96, p.165–175, 2006.
- Dias JH, Gonçalves JD, Arrais AM, Batista RITP, Souza-Fabjan JMG, Bastos R, Siqueira LGB, Oliveira MEF, Fonseca JF.** Single dose of 300 IU hCG in the early luteal phase in superovulated ewes: effects on corpora lutea, progesterone profile, and embryo recovery. *Anim Reprod Sci* v.247, p.107101, 2022.
- Dias JH, Gonçalves JD, Arrais AM, Souza-Fabjan JMG, Bastos R, Batista RITP, Siqueira LGB, Oliveira MEF, Fonseca JF.** Effects of different doses of estradiol benzoate used in a cervical relaxation protocol on the success of non-surgical embryo recovery and luteal function in superovulated ewes. *Domest Anim Endocrinol* v.82, p.106751, 2023.
- Diaz, FJ, Anderson LE, Wu YL, Rabot A, Tsai SJ, Wiltbank MC.** Regulation of progesterone and prostaglandin F2 α production in the CL. *Mol Cell Endocrinol* v.191, p.65–68, 2002.
- Driancourt M.** Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* v.55, p.1211–39, 2001.
- Farin CE, Moeller CL, Mayan H, Gamboni F, Sawyer HR, Niswender GD.** Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine Corpus luteum. *Biol Reprod* v.38, p.413–421, 1988.
- Forde N, Beltman ME, Lonergan P, Diskin M, Roche JF, Crowe MA.** Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Anim Reprod Sci*, v.124, p.163–169, 2011.
- Figueira LM, Fonseca JF, Arashiro EKN, Souza-Fabjan JMG, Ribeiro ACS, Oba E, Viana JHM, Brandão FZ.** Colour Doppler ultrasonography as a tool to assess luteal function in Santa Inês ewes. *Reprod Domest Anim* v.50, p.643–650, 2015. <https://doi.org/10.1111/rda.12543>.
- Gonçalves JD, Vergani GB, Rodrigues JND, Dias JH, Pereira VSDA, Garcia AR, Esteves SN, Fonseca JFD, Oliveira MEF.** Luteal tissue characteristics of Morada Nova ewes with hCG application 7.5 days after the end of estrus synchronization protocol in the breeding season. *Anim Reprod Sci* v.261, p.107396, 2024.
- Miyamoto A, Shirasuna K.** Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. *Animal Reproduction* v.6, p.47–59, 2009.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW.** Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev* v.80, p.1–28, 2000.
- Oliveira MEF, Feliciano MAR, D’Amato CC, Oliveira LG, Bicudo SD, Fonseca JF, Vicente WRR, Visco E, Bartlewski PM.** Correlations between ovarian follicular blood flow and superovulatory responses in ewes. *Anim Reprod Sci* v.144, p.30–37, 2014.
- Oliveira MEF, Bartlewski PM, Jankowski N, Padilha-Nakaghi LC, Oliveira LG, Bicudo SD, Fonseca JF, Vicente WRR.** Relationship of antral follicular blood flow velocity to superovulatory responses in ewes. *Anim Reprod Sci* v.182, p.48–55, 2017.
- Oliveira MEF, Ribeiro IF, Rodriguez MGK, Maciel GS, Fonseca JF, Brandão FZ, Bartlewski PM.** Assessing the usefulness of B-mode and colour Doppler sonography, and measurements of circulating progesterone concentrations for determining ovarian responses in superovulated ewes. *Reprod Domest Anim* v.53, p.742–750, 2018.
- Oliveira MEF, Caldas TDB, Rodrigues JND, Vergani GB, Rangel PSC, Esteves LV, Souza-Fabjan JMG, Brandão FZ, Fonseca JF.** Intravaginal progesterone device reinsertion during the early luteal phase affects luteal function and embryo yield in superovulated ewes. *Anim Reprod Sci* v.254, p.107273, 2023
- Parraguez VH, Urquieta B, Pérez L, Castellaro G, De los Reyes M, Torres-Rovira L, Aguado-Martínez A, Astiz S, González-Bulnes A.** Fertility in a high-altitude environment is compromised by luteal dysfunction: the relative roles of hypoxia and oxidative stress. *Reprod Biol Endocrinol* v.11, p.24, 2013.



Rocha MS, Maia ALRS, Rangel PSC, Tavares LM, Oliveira MEF, Fonseca JF, Oliveira CA, Souza-Fabjan JMG, Rocha MS, Maia ALRS, Rangel PSC, Tavares LM, Oliveira MEF, Fonseca JF, Oliveira CA, Souza-Fabjan JMG. Occurrence of early regression of corpora lutea in Dorper ewes subjected to a conventional superovulatory regimen. *Reprod Fertil Dev* v.33, p.146-146, 2021.

Rodrigues JND, Guimarães JD, Oliveira MEF, Dias JH, Arrais AM, de Sousa MAP, Bastos R, Ahmadi B, Bartlewski PM, Fonseca JF. Human chorionic gonadotropin affects original (ovulatory) and induced (accessory) corpora lutea, progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous dairy goats. *Reprod Biol* v.22, p 100591, 2022.

Shrestha K, Rodler D, Sinowitz F, Meidan R. Corpus Luteum Formation. *The Ovary (Third Edition)*, p.255-267, 2019.

Simões J, Almeida JC, Baril G, Azevedo J, Fontes P, Mascarenhas R. Assessment of luteal function by ultrasonographic appearance and measurement of corpora lutea in goats. *Anim Reprod Sci* v.97, p.36-46, 2007.

Siqueira LGB, Torres CAA, Amorim LS, Souza ED, Camargo LSA, Fernandes CAC, Viana JHM. Interrelationships among morphology, echotexture, and function of the bovine corpus luteum during the estrous cycle. *Anim. Reprod Sci* v.115, p.18-28, 2009.

Travisol E, Ackermann CL, Destro FC, Amaral JB. Luteólise em bovinos: revisão. *Revista Brasileira Reprodução Animal* v.37, p.29-36, 2013.

Vergani GB, Fonseca JF, Trevizan JT, Pereira VSA, Garcia AR, Esteves SN, Brandão FZ, Souza-Fabjan JMG, Oliveira MEF. Luteotropic effects of human chorionic gonadotropin administered 7.5 days after synchronous estrous induction in Morada Nova ewes. *Anim Reprod Sci* v.223, p.106644, 2020.

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

Wulff C, Wilson H, Largue P, Duncan WC, Armstrong DG, Fraser HM. Angiogenesis in the human corpus luteum: localization and changes in angiopoietins, tie-2, and vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid. *J Clin Endocrinol Metab* v.85, p.4302-4309, 2000.

Clique ou toque aqui para inserir o texto.
