

CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CORTISOL E TEMPERATURA RETAL NO MOMENTO DA ASPIRAÇÃO FOLICULAR EM VACAS E SUAS CORRELAÇÕES COM O SUBSEQÜENTE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO *in vitro* E PREENHEZ

Ocilon Gomes de Sá Filho¹
Carolina Castilho Dias²
Edson Ramos Siqueira Filho²
Jungiro Iwamura²
Eunice Oba³

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar as concentrações séricas de cortisol e a temperatura retal no momento da aspiração folicular em vacas doadoras de oócitos para FIV e estabelecer correlações entre cortisol sérico, temperatura retal, quantidade de oócitos recuperados, taxa de clivagem, taxa de blastocisto e taxa de prenhez. Foram utilizadas 30 doadoras da raça Red Angus mantidas em piquetes de *Brachiaria decumbens* com água e sal mineral *ad libitum*. Quatro dias antes da sessão de aspiração folicular (D-4), todos os foliculos maiores que 6 mm presentes nos ovários foram aspirados, visando induzir um novo recrutamento folicular. No D0, as vacas tiveram suas temperaturas retais aferidas e sangue colhido para dosagem de cortisol. Foram recuperados 577 oócitos, dos quais 527 foram considerados viáveis e maturados *in vitro*. A taxa de clivagem foi 84,63% (446/527) e 189 embriões chegaram pelo menos ao estágio de mórula, os quais foram inovulados em receptoras previamente sincronizadas, produzindo 93 prenhez. Os dados foram analisados por regressão logística. As vacas com maiores concentrações séricas de cortisol no momento da aspiração folicular tenderam a apresentar menor proporção de oócitos viáveis recuperados ($P < 0,10$) e apresentaram menor proporção de prenhez/oócitos colhidos e prenhez/embriões inovulados ($P < 0,05$). A temperatura retal não afetou os parâmetros analisados. Esses dados sugerem que a elevação das concentrações séricas de cortisol pode influenciar negativamente na quantidade de prenhez produzidas por doadora em programas de FIV, apesar de não ter sido observado efeitos negativos no desenvolvimento embrionário *in vitro*.

Palavras-chave: vacas, cortisol, temperatura retal, embrião, concepção.

SERUM CORTISOL CONCENTRATION AND RECTAL TEMPERATURE AT TIME OF OVUM PICK UP IN COWS AND THEIR RELATIONSHIP WITH SUBSEQUENT *in vitro* EMBRYO DEVELOPMENT AND PREGNANCY

ABSTRACT

The aim of this trial was to evaluate serum cortisol concentrations and rectal temperature at time of ovum pick up (OPU) in IVF oocyte donors and establish correlations between serum cortisol, rectal temperature, amount of recovered oocytes, cleavage rate, blastocyst rate and pregnancy rate. Red Angus donor cows (n = 30) kept on *Brachiaria decumbens* pasture with water and mineral *ad libitum* were used on this trial. Four days before OPU (D-4), cows had all their >6 mm follicles aspirated aiming to induce a new follicular recruitment. On D0, cows were checked for rectal temperature and blood samples were collected for cortisol analysis. A total of 577 oocytes were recovered and 91.3%

¹Doutorando pelo Programa de Pós-graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP-Botucatu. E-mail: ocilon@hotmail.com.

²Mestrando pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu. E-mail: carolinacastilhodias@hotmail.com

³Professora titular do Depto. Reprodução animal e Radiologia Veterinária da FMVZ/UNESP-Botucatu. E-mail: euniceoba@fmvz.unesp.br

(527/577) were considered viable and matured *in vitro*. Cleavage rate was 84.63% (446/527) and 189 embryos reached at least the morula stage, which were transferred to recipient heifers previously synchronized, producing 93 pregnancies. Data were analyzed by logistic regression. Cows with higher serum cortisol concentrations at time of OPU tended to have lower proportion of viable oocyte recovered ($P<0.1$) and had lower proportion of pregnancies/recovered oocytes and pregnancies/transferred embryos ($P<0.05$). Rectal temperature did not affect analysed parameters. This data suggest that increasing on serum cortisol concentrations may affect negatively the amount of pregnancies produced by donor in IVF programs, although no negative effects on *in vitro* embryo development were detected.

Key words: cow, cortisol, rectal temperature, embryo, conception.

CONCENTRACIONES SÉRICAS DE CORTISOL Y TEMPERATURA RECTAL AL MOMENTO DE LA ASPIRACIÓN FOLICULAR EN VACAS Y SUS CORRELACIONES CON EL DESARROLLO EMBRIONARIO *in vitro* Y LA PREÑEZ

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar las concentraciones séricas de cortisol y la temperatura rectal al momento de la aspiración folicular en vacas donadoras de oocitos para FIV y establecer correlaciones entre el cortisol sérico, la temperatura rectal, la cantidad de oocitos recuperados, tasa de clivagen, tasa de blastocisto y la tasa de preñez. Fueron utilizadas 30 donadoras de la raza *Red Angus* mantenidas en piquetes de *Brachiaria decumbens* con agua y sal mineral *ad libitum*. Cuatro días antes del momento de la aspiración folicular (D-4), los animales tuvieron sus folículos mayores que 6mm presentes en el ovario aspirados, induciendo un nuevo reclutamiento folicular. En el D0, a las vacas se les tomó sus temperaturas rectales y la sangre colectada para la dosificación del cortisol. Fueron recuperados 577 oocitos, de los cuales 527 fueron considerados viables y madurados *in vitro*. La tasa de clivagen fue 84,63% (446/527) y 189 embriones llegaron por lo menos a la fase de mórula, los cuales fueron inculados en receptoras previamente sincronizadas, produciendo 93 gestaciones. Los datos fueron analizados por regresión logística. Las vacas con mayores concentraciones séricas del cortisol en el momento de la aspiración folicular tendieron a presentar una menor proporción de oocitos viables recuperados ($P<0,10$) y menor proporción de gestaciones/oocitos colectados y gestaciones/embriones inculados ($P<0,05$). La temperatura rectal no afectó los parámetros analizados. Estos datos han sugerido que la elevación de las concentraciones séricas del cortisol suele influenciar negativamente en la cantidad de gestaciones producidas por la donadora en programas de FIV, a pesar de no haber sido observados efectos negativos en el desarrollo embrionario *in vitro*.

Palabras-clave: vacas, cortisol, temperatura rectal, embrión, concepción.

INTRODUÇÃO

Estresse é definido como um conjunto de alteração fisiológicas que ocorrem no organismo quando este é submetido a um desafio agudo ou crônico, refletindo freqüentemente em falhas na expressão do potencial genético do organismo. Em animais domésticos, temperaturas extremas (DONEY et al., 1973), transporte (EHNERT e MOBERG, 1991; SMART et al., 1994), excesso de manejo (DOBSON et al., 2001) e cirurgias (MARTIN et al., 1981) são causas freqüentes de estresse.

Elementos estressantes estimulam a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, causando uma marcante elevação nas concentrações séricas de cortisol (MARTIN et al., 1981; EHNERT e MOBERG, 1991; KOMESAROFFET et al., 1998) e alteram os padrões de produção e secreção de arginina vasopressina (AVP), glicose, insulina, LH e estradiol (DOBSON e SMITH, 2000). Assim, o fenômeno do estresse está sempre relacionado com redução na fertilidade dos animais domésticos (WELSH e JOHNSON, 1981).

Produzir descendentes férteis é o objetivo mais importante de uma espécie. Entretanto, sob condições desfavoráveis, os animais inativam suas atividades reprodutivas, dando prioridade às funções vitais. Interações entre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e hipotálamo-hipófise-ovário foram

revistas recentemente (DOBSON e SMITH, 2000; LEE, 1994). Acredita-se que o efeito de maior impacto do estresse sobre a reprodução seja o distúrbio da função hipotalâmica. Os padrões normais de pulsatilidade de GnRH e, conseqüentemente, frequência e amplitude dos pulsos de LH, são reduzidas pela exposição a fontes agudas de estresse, como transporte ou administração de altas doses de insulina. Isso resulta em função ovariana anormal (baixa taxa de crescimento folicular após o desvio) e redução ou ausência do pico de LH (DOBSON et al., 2001). Assim, o estresse causa disfunção em todos os elementos do eixo hipotálamo-hipófise-ovário.

A administração crônica de ACTH também resultou em efeitos similares aos observados no estresse agudo (DOBSON et al., 2000; DOBSON e SMITH, 2000). A pulsatilidade de LH foi reduzida, a secreção de estradiol foi menor que o normal, o pico de LH foi atrasado e de menor intensidade e a ovulação ocorreu tardiamente. As menores concentrações de estradiol podem reduzir a intensidade do comportamento de estro. Efeitos similares também foram encontrados durante a exposição a fontes crônicas de estresse como mastite a agentes Gram-negativos 15 a 28 dias pós-parto (HUSZENICZA et al., 1998). Comparadas a animais sadios, essas vacas apresentaram atraso na retomada à ciclicidade (48 ± 17 vs. 31 ± 12 dias). Existem também evidências de que elevadas concentrações de cortisol reduzem a concentração de receptores de LH nas células da granulosa cultivadas *in vitro* (KAWATE et al., 1993).

Em programas de transferência de embriões (TE), a obtenção de altas taxas de prenhez é o maior objetivo. Apesar de o estresse ser um fator de grande impacto nos resultados de TE, poucos estudos têm sido realizados para avaliar esses efeitos. Doadoras transportadas por 15 a 60 minutos duas vezes ao dia, durante 4 dias, apresentaram menor quantidade de ovulações em resposta à superovulação ($15,4 \pm 1,7$ vs. $20,4 \pm 2,1$; EDWARDS et al., 1987). Em relação a receptoras, observaram-se que animais induzidos a caminhar 7 Km em terreno acidentado dois dias após o estro apresentaram menores taxas de prenhez em relação ao grupo controle (LOWMAN et al., 1994).

A maioria dos trabalhos relacionando transferência de embriões e estresse estuda estresse calórico. Embriões coletados de vacas doadoras expostas a altas temperaturas logo após a inseminação apresentaram baixa qualidade e viabilidade, indicando que é preferível a coleta em estações de clima mais ameno (outono e inverno) e congelar os embriões para utilizá-los mais tarde (EALY et al., 1993). Esses mesmos autores concluíram também que os dois primeiros dias após a fertilização é o período de maior sensibilidade do embrião a altas temperaturas. Assim, a TE constitui-se numa estratégia bastante viável para melhorar os índices de prenhez em rebanhos leiteiros de alta produção durante o verão (DROST et al., 1999). No caso do estresse térmico, os efeitos negativos sobre a reprodução parecem estar mais fortemente relacionados ao efeito direto da alta temperatura sobre o organismo do que efeitos do cortisol.

Em programas de fertilização *in vitro*, os efeitos negativos de altas concentrações de cortisol sobre pico de LH e ovulação não se constitui um problema. Da mesma forma, possíveis efeitos do estresse térmico são amenizados, já que o período de sensibilidade do embrião ocorre em ambiente controlado. Entretanto, fatores que prejudicam a competência do oócito e/ou reduzem a quantidade de folículos recrutados por onda folicular têm potencial de reduzir os resultados de programas OPU/FIV. Não há trabalhos na literatura avaliando se o estresse e/ou altas concentrações séricas de cortisol prejudicam a taxa de recuperação de oócitos à aspiração folicular, bem como se existem efeitos sobre a capacidade dos oócitos em gerarem embriões e prenhez. A hipótese desse trabalho é que vacas com maiores concentrações séricas de cortisol no momento da aspiração folicular apresentam menores taxas de clivagem, de embriões e de prenhez, apesar de apresentarem taxa de recuperação similar a vacas com menores concentrações de cortisol. O objetivo desse trabalho foi avaliar as concentrações séricas de cortisol no momento da aspiração folicular em doadoras de oócitos para FIV e estabelecer correlações entre cortisol sérico, quantidade de oócitos recuperados, taxa de clivagem, taxa de blastocisto e taxa de prenhez.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizadas 30 doadoras da raça Red Angus pertencentes à Chalet Agropecuária Ltda. (Fazenda São Simão, Botucatu-SP), as quais foram mantidas em piquetes de *Brachiaria decumbens*

com água e sal mineral *ad libitum*. Quatro dias antes da sessão de aspiração folicular (D-4), os animais foram submetidos a exame ultra-sonográfico de útero e ovários e todos folículos maiores que 6 mm presentes no ovário foram aspirados via transvaginal (aparelho Aloka SSD-500, Tokyo, Japan; transdutor convexo 7,5MHz) visando induzir um novo recrutamento folicular.

Aspiração folicular

No D0, os oócitos aspirados foram acondicionados em tubo cônico contendo meio TCM-199 (Life technologies, USA) suplementado com 10.000UI/L de heparina sódica (sigma H-3149) até o momento da classificação em lupa estereoscópica. A classificação dos oócitos foi realizada por um técnico experiente, tendo como parâmetros a coloração e aspecto do complexo cúmulus-oócito, a quantidade e o grau de compactação das células do cúmulus. A escala da classificação por qualidade considerou G1>G2>G3.

Maturação, fertilização *in vitro*, e inovulação dos embriões

Os oócitos foram cultivados em meio TCM-199, sendo a fertilização realizada 24h após a aspiração, utilizando-se sêmen do mesmo touro (raça Red Angus) para todas as vacas previamente submetido a gradiente de percol. Seis dias após a fertilização, os embriões foram classificados quanto à qualidade (normas da IETS), sendo transferidos apenas embriões graus 1 e 2. As receptoras utilizadas foram novilhas mestiças (*Bos taurus* x *Bos indicus*) previamente sincronizadas com uma injeção de prostaglandina nove dias antes da TE. A inovulação foi realizada por um técnico experiente pelo método não cirúrgico. O diagnóstico de gestação foi realizado pela ultra-sonografia transretal 23 dias após a TE (aparelho Aloka SSD-500, Tokyo, Japan; transdutor linear 5,0 MHz).

Colheita de sangue e temperatura retal

As vacas tiveram suas temperaturas retais aferidas e sangue colhido em tubos à vácuo sem anticoagulante (Becton Dickinson Co., Franklin Lakes, NJ, USA) da veia coccígea imediatamente antes do início da aspiração folicular.

Dosagem das concentrações séricas de cortisol

A dosagem de cortisol foi realizada por radioimunoensaio com kits comerciais (Coat-a-count, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA). A sensibilidade do ensaio foi de 1ng/mL e o erro intraensaio foi 7,34%.

Análise estatística

Os dados foram analisados por regressão logística (PROC LOGISTIC – SAS). As variáveis independentes consideradas foram temperatura retal (°C) e concentração sérica de cortisol (ng/mL) e as variáveis dependentes foram: porcentagem de oócitos viáveis e inviáveis recuperados; taxa de clivagem (quantidade de estruturas clivadas/quantidade de oócitos recuperados); quantidade de embriões PIV/quantidade de oócitos recuperados; quantidade de embriões PIV/quantidade de estruturas clivadas; quantidade de prenhez produzidas/quantidade de oócitos recuperados; quantidade de prenhez produzidas/quantidade de estruturas clivadas; quantidade de prenhez produzidas/quantidade de embriões PIV inovulados. Consideraram-se efeitos significativos quando $P < 0,05$ e tendência a significância quando $P < 0,10$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 30 doadoras produziram 471 oócitos viáveis (média de 15,70/animal), 106 oócitos não viáveis (média de 3,53/animal), 446 estruturas clivadas (média de 14,87/animal), 189 embriões (média de 6,30/animal) e 93 prenhez (média de 3,1/animal). A temperatura retal média dos animais foi $38,37 \pm 0,52$ °C e a concentração média de cortisol foi $2,75 \pm 1,32$ ng/mL.

Avaliação dos efeitos da temperatura retal

Não foram verificados efeitos da temperatura retal aferida no momento da aspiração folicular sobre as variáveis dependentes observadas. Também não se verificaram efeitos interativos entre temperatura retal e concentrações plasmáticas de cortisol.

Avaliação dos efeitos do cortisol sérico

A concentração sérica de cortisol aferida no momento da aspiração folicular tendeu a influenciar a porcentagem de oócitos viáveis recuperados ($P < 0,1$; Figura 1).

Foram verificados efeitos da concentração sérica de cortisol sobre a proporção de prenhez produzidas/oócitos recuperados (Figura 2; $P < 0,05$) e de prenhez produzidas/embriões involuados (Figura 3; $P < 0,05$), de forma que as vacas com maiores concentrações séricas de cortisol no momento da aspiração folicular apresentaram redução desses parâmetros.

Os glicocorticóides potencialmente afetam as funções gonadais em um ou mais dos seguintes elementos do eixo hipotálamo-hipófise-gônada: 1) hipotálamo (redução da síntese/secreção de GnRH); 2) hipófise anterior (inibição da síntese e secreção de gonadotrofinas); 3) testículo/ovário (modulação da esteroidogênese e gametogênese diretamente). Acredita-se que o efeito deletério principal dos glicocorticóides ocorra em nível de hipotálamo e da hipófise anterior, criando um estado de hipogonadismo hipogonadotrófico. Esta hipótese é suportada por um grande número de estudos, incluindo observações de que a administração de glicocorticóides sintéticos pode reduzir significativamente a secreção de GnRH pelo hipotálamo (FONDA et al., 1984; DUBEY e PLANT, 1985; ROSEN et al., 1988) e pode inibir a secreção hipofisária de FSH e LH ao estímulo com GnRH (LI e WAGNER, 1983; LI, 1987; ROSEN et al., 1988; BRANN et al., 1990; LI, 1993). Entretanto, em outros estudos, identificaram-se receptores para glicocorticóides em células testiculares e ovarianas (EVAIN et al., 1976; SCHREIBER et al., 1982; LEVY et al., 1989; SCHULTZ et al., 1993) e mostrou-se claramente que os glicocorticóides exercem ações diretas sobre a esteroidogênese gonadal, tanto *in vivo* quanto *in vitro* (EVAIN et al., 1976; HSUEH e ERICKSON, 1978; WELSH et al., 1982; BEN-RAFFAL et al., 1988; HALES e PAYNE, 1989; LI, 1991; MICHAEL et al., 1993). Um outro mecanismo pelo qual o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal pode influenciar a função reprodutiva é pelos efeitos diretos dos glicocorticóides sobre tecidos alvo dos esteróides sexuais (RABIN et al., 1990).

Os oócitos dos mamíferos são mantidos em estágio de paralisação da meiose até próximo do momento da ovulação, sendo que apenas após o pico pré-ovulatório de LH ocorre a retomada da meiose, tornando-os capazes de serem fertilizados. Os efeitos diretos dos glicocorticóides têm sido estudados amplamente em várias espécies de peixes (PATINO e THOMAS, 1990). Apesar de poucos estudos terem sido realizados com mamíferos e de não ter sido relatada ainda a presença de receptores para glicocorticóides em oócitos mamíferos, foi demonstrado em mulheres submetidas a aspiração folicular para fertilização *in vitro*, que a concentração de cortisol mensurada no fluido folicular é duas vezes maior nos folículos contendo oócitos morfolologicamente maduros em relação àqueles contendo oócitos morfolologicamente imaturos (FATEH, 1989), sugerindo correlação positiva entre cortisol local e maturação oocitária em humanos. Em relação a indivíduos do sexo masculino, não há evidências diretas envolvendo glicocorticóides e desenvolvimento de gametas. Entretanto, resultados de alguns estudos demonstraram presença de mRNA para receptores de glicocorticóides em espermatócitos e espermátides dos túbulos seminíferos em ratos (LEVY et al., 1987; LEVY et al., 1989). Também em ratos, a análise por Western Blot também evidenciou presença de receptores de glicocorticóides em espermatozoides presentes no epidídimo (FATEH et al., 1990).

Em um estudo realizado com suínos (YANG et al., 1999) demonstrou-se que os glicocorticóides inibem a retomada da meiose, influenciando, portanto, negativamente a maturação nuclear, porém não se verificou efeito sobre a maturação oocitária. Esse efeito foi atribuído à inibição de proteases endógenas importante para o início da maturação. O mesmo foi observado em oócitos bovinos (JAGIELLO et al., 1978), murinos (FLEMING et al., 1983), de peixes (GUERRIER et al., 1977) e de anfíbios (CLARK e KANATNAI, 1975). Essas observações sugerem que os glicocorticóides *in vivo* podem agir diretamente no ovário modulando a maturação oocitária.

Neste experimento, não foram verificados efeitos do cortisol sérico das doadoras nos

parâmetros de maturação oocitária. Entretanto, os animais com menores concentrações séricas de cortisol no momento da aspiração folicular produziram maior quantidade de prenhez por oócito recuperado e maior quantidade de prenhez por embrião transferido em relação aos animais com maiores concentrações séricas de cortisol. Não foram encontrados na literatura dados correlacionando as variáveis investigadas neste estudo. Entretanto, os resultados obtidos sugerem que pode haver um efeito residual do cortisol sérico da doadora sobre os oócitos, o qual pode estender-se até a fase embrionária. Mesmo havendo um desenvolvimento *in vitro* morfológicamente normal, fatores intrínsecos celulares podem estar alterados, resultando em menor capacidade do embrião em se desenvolver normalmente e sobreviver.

TABELA 1. Resumo dos resultados obtidos (doadora, temperatura retal, concentrações séricas de cortisol, quantidade de oócitos viáveis recuperados, quantidade de oócitos não-viáveis recuperados, quantidade de estruturas clivadas, quantidade de blastocistos iniciais (Bi) produzidos *in vitro*, quantidade de blastocistos (Bl) produzidos *in vitro*, quantidade de blastocistos expandidos (Bx) produzidos *in vitro* e quantidade de prenhez produzidas.

Doadora	Temperatura retal (°C)	Cortisol (ng/mL)	Oócitos viáveis	Oócitos não-viáveis	Estruturas clivadas	Bi	Bl	Bx	Prenhez
H1144	39,1	1,26	17	1	14	2	5	2	5
951	38,2	1,35	6	2	7	2	3	2	7
K1507	37,6	1,38	22	1	20	0	3	6	5
K1032	38,4	1,39	19	2	20	2	1	1	3
419	38,1	1,41	17	4	17	0	4	8	8
R01	38,0	1,55	18	6	18	2	1	0	0
58	38,3	1,56	27	8	21	3	7	3	9
R47	38,4	1,56	12	0	9	0	3	1	0
12	38,5	1,67	17	10	15	2	2	0	1
1036	38,1	1,92	12	2	13	2	0	0	1
1544	38,6	2,02	17	0	13	1	1	4	3
503	38,5	2,08	6	0	6	1	2	0	3
A120	37,9	2,11	10	0	10	2	3	0	2
MA084	38,6	2,49	21	6	19	2	1	2	1
251	39,5	2,53	50	10	45	5	10	4	11
J1261	37,9	2,56	18	2	17	2	1	1	1
J341	38,3	2,7	23	6	20	1	4	2	4
1108	38,0	2,82	14	10	15	7	4	1	5
R02	38,3	2,99	13	1	12	2	0	6	3
208	37,0	3,01	6	2	7	1	1	1	2
367	39,4	3,14	1	1	2	0	1	1	1
104M	38,6	3,33	10	0	9	2	0	0	2
R787	38,5	3,34	16	3	17	2	3	0	2
69	38,0	3,53	15	1	16	2	2	3	3
MG039	39,4	3,85	14	1	11	1	2	4	3
17	38,2	3,92	3	5	5	0	2	0	0
2104	38,3	4,15	7	6	9	1	1	2	0
1346	38,5	4,74	10	3	10	3	0	0	1
1025	38,6	5,58	14	9	15	2	2	1	3
B234	38,4	6,68	36	4	34	1	7	5	4

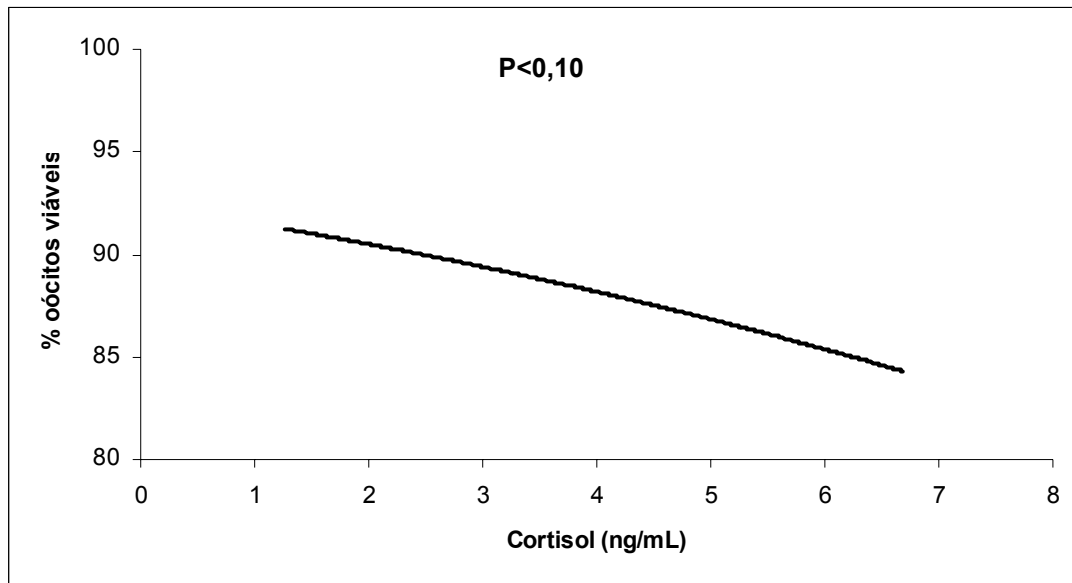


FIGURA 1. Efeito da concentração sérica de cortisol da doadora no momento da aspiração folicular sobre a porcentagem de oócitos viáveis recuperados.

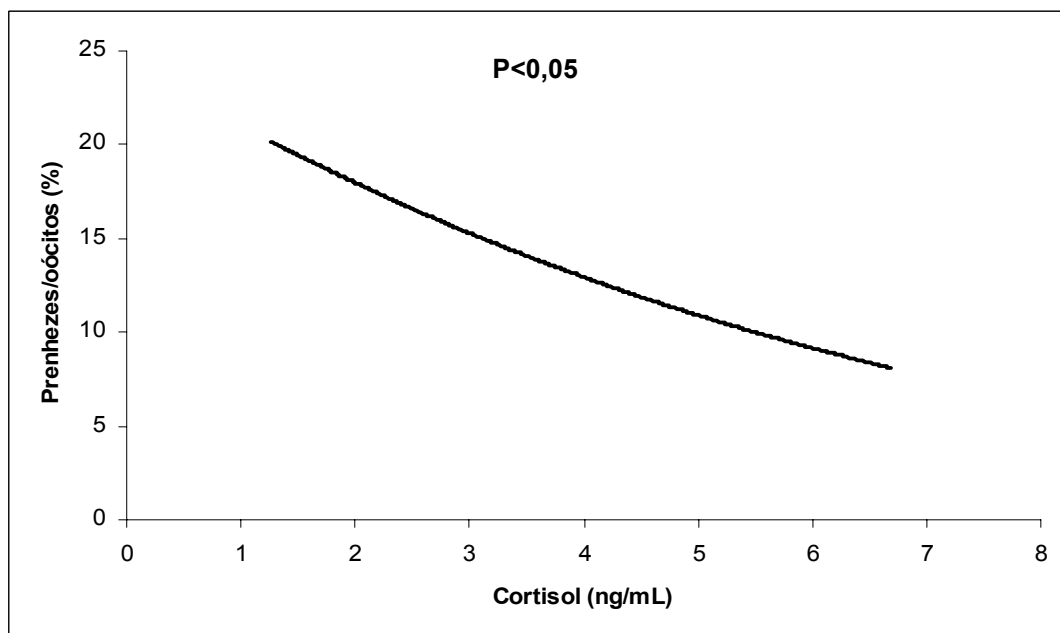


FIGURA 2. Efeito da concentração sérica de cortisol da doadora no momento da aspiração folicular sobre a porcentagem de prenhez produzidas/oócitos recuperados.

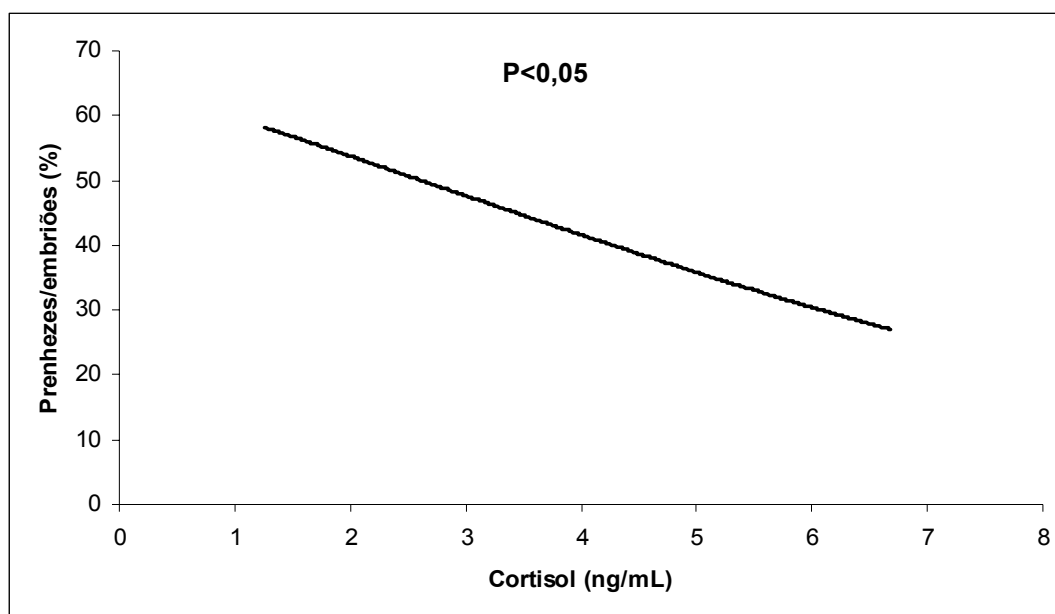


FIGURA 3. Efeito da concentração sérica de cortisol da doadora no momento da aspiração folicular sobre a porcentagem de prenhez produzidas/embriões inovulados.

CONCLUSÃO

Conclui-se que, no presente experimento, houve tendência a correlação negativa entre concentrações séricas de cortisol no momento da aspiração folicular e proporção de oócitos viáveis recuperados e correlação negativa significativa entre concentrações séricas de cortisol no momento da aspiração folicular e proporção de prenhez/oócitos coletados e prenhez/embriões inovulados, sugerindo que doadoras de oócitos para FIV com altas concentrações de cortisol sérico no momento da aspiração folicular produzem menor quantidade de prenhez.

REFERÊNCIAS

BEN-RAFALL, Z., BENADIVA, C. A., GARCIA, C. J., FLICKINGER, G. L. Cortisol stimulation on estradiol and progesterone secretion by human granulosa cells is dependent of follicle-stimulating hormone effect. **Fertil. Steril.**, v.49, p.813-816, 1988.

BRANN, W. B., PUTNAM, C. D., MAHESH, V. B. Corticosteroid regulation of gonadotropin and prolactin secretion in the rat. **Endocrinology**, v.126, p.159-166, 1990.

CLARK, T. G., KANATNAI, H. Effect of some inhibitors of proteolytic enzymes on maturation of starfish oocytes. **Biol. Bull.**, v.149, p.423.

DOBSON, H., BIBADU, A. Y., NOBLE, K. M., TEBBLE, J. E., WARD, W. R. Ultrasound and hormone profiles of ACTH-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle. **J. Reprod. Fertil.**, v.43, p.222-231, 2000.

DOBSON, H., SMITH, R. F. What is stress, and how does it affect reproduction? **Anim. Reprod. Sci.**, v.60-61, p.743-752, 2000.

DOBSON, H., TEBBLE, J. E., SMITH, R. F., WARD, W. R. Is stress really all that important? **Theriogenology**, v.55, p.65-73, 2001.

- DONEY, J. M., GUNN, R. G., GRIFFITHS, J. G. The effect of pre-mating stress on the onset of oestrus and on ovulation rate in Scottish blackface ewes. **J. Reprod. Fertil.**, v.35, p.381-384, 1973.
- DROST, M., AMBROSE, J. D., THATCHER, M.-J., CANTRELL, C. K., WOLFSDORF, K. E., HASLER, J. F., THATCHER, W. W. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. **Theriogenology**, v.52, p.1161-1167, 1999.
- DUBEY, A. K., PLANT, T. M. A suppression of gonadotropin secretion by cortisol in castrated male rhesus monkeys (*Macaca mulatto*) mediated by the interruption of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release. **Biol. Reprod.**, v.33, p.423-431, 1985.
- EALY, A. D., DROST, M., HANSEN, P. J., Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. **J. Dairy Sci.**, v.76, p.2899-2905, 1993.
- EDWARDS, L. M., RAHE, C. H., GRIFFEN, J. L., WOLFE, D. F., MARPLE, D. N., CUMMINS, K. A., PRICHET, J. F. Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated Hereford heifers. **Theriogenology**, v.28, p.291-299, 1987.
- EHNERT, K., MOBERG, G. P. Disruption of estrous behavior in ewes by dexamethasone or management-related stress. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.2988-2994, 1991.
- EVAIN, D., MORERA, A. M., SAEZ, J. M. Glucocorticoid receptors in interstitial cells of the rat testis. **J. Steroid. Biochem.**, v.7, p.1135-1139, 1976.
- FLEMING, A. D., KHALIL, W., ARMSTRONG, D. T. Porcine follicular fluid does not inhibit maturation of rat oocytes in vitro. **J. Reprod. Fertil.**, v.69, p.665-670, 1983.
- FONDA, E. S., RAMPACEK, G. B., KRAELING, R. P. The effect of adrenocorticotropin or hydrocortisone on serum luteinizing hormone concentrations after adrenalectomy in the prepubertal gilt. **Endocrinology**, v.114, p.268-273, 1984.
- GUERRIER, P., MOREAU, M., DORÉE, M. Inhibition de la réinitiation de la méiose des ovocytes de *Xenopus laevis* par trois antiproteases naturelles, l'antipaine, la chymostatise et la leupeptine. **CR. Acad. Sci. Paris**, v.284, p.317-319, 1977.
- HALES, D. B., PAYNE, A. H. Glucocorticoid-mediated repression of P450scc mRNA and de novo synthesis in cultured Leydig cells. **Endocrinology**, v.124, p.2099-2104, 1989.
- HSUEH, A. J. W., ERICKSON, G. F. Glucocorticoid inhibition of FSH-induced estrogen production in cultured rat granulosa cells. **Steroids**, v.32, p.639-649, 1978.
- HUSZENICZA, G., JANOSI, S., KULCSAR, M., KORODI, P., DIELEMAN, S. J., BARTYIK, J., RUDAS, P., RIBICZEI-SZABO, P. Gram-negative mastitis in early lactation may interfere with ovarian and certain endocrine functions and metabolism in dairy cows. **Reprod. Dom. Anim.**, v.33, p.147-153, 1998.
- JAGIELLO, G., DUCAYEN, M., GOONEN, W., DOWNEY, S. Inhibition of bovidae oocyte meiosis by serine protease inhibitor. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.157, p.550-532, 1978.
- KAWATE, N., INABA, T., MORI, J. Effects of cortisol on the amounts of estradiol-17 β and progesterone secreted and the number of luteinizing hormone receptors in cultured bovine granulosa cells. **Anim. Reprod. Sci.**, v.32, p.15-25, 1993.

- KOMESAROFFET, P. A., ESLER, M., CLARKE, I. J., FULLERTON, M. J., FUNDER, J. W. Effects of estrogen and estrous cycle on glucocorticoid and catecholamine responses to stress in sheep. **Am. J. Physiol.**, v.275, p671-678, 1998.
- LEE, J. M. **Survey of fertility following bovine caesarian operations performed in general practice in the UK.** 1994. Dissertação. University of Liverpool, Liverpool.
- LEVY, F. O., EIKVAR, L., PIOTROWSKA, B., YEN, O., JAHNSEN, T., HANSSON, V. Characterization and cellular localization of glucocorticoid receptors in rat seminiferous tubules: detection of glucocorticoid receptor mRNA. **Ann. NY Acad. Sci.**, v.513, p.487-489, 1987.
- LEVY, F. O., REE, A. H., EIKVAR, L., GOVINDAN, M. V. JAHNSEN, T., HANSSON, V. Glucocorticoid receptor and glucocorticoid effects in rat Sertoli cells. **Endocrinology**, v. 124, p.430-436, 1989.
- LI, P. S., WAGNER, W. C. In vivo and in vitro studies of the effect of adrenocorticotrophic hormone or cortisol on the pituitary response to gonadotropin-releasing hormone. **Biol. Reprod.**, v.29, p.25-37, 1983.
- LI, P. S. Effect of cortisol or adrenocorticotrophic hormone on luteinizing hormone secretion by pig pituitary cells in vitro. **Life Sci.**, v.41, p.2493-2501, 1987.
- LI, P. S. Effect of cortisol on testosterone production by immature pig Leydig cells. **J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.**, v.38, p.205-212, 1991.
- LI, P. S. Actions of corticotrophin-releasing factor or cortisol follicle-stimulating hormone secretion by isolated pig pituitary cells. **Life Sci.**, v.53, p.141-151, 1993.
- LOWMAN, B. G., SCOTT, N. A., SCOTT, P. R. An evaluation of some breeding management options in beef herds in the UK. **Vet. Record.**, v.135, p.9-12, 1994.
- MARTIN, G. B., OLDHAM, C. M., LINDSAY, D. R. Effect of stress due to laparoscopy on plasma cortisol levels, the preovulatory surge of LH and ovulation in the ewe. **Theriogenology**, v.16, p.39-44, 1981.
- MICHAEL, A. E., PESTER, L. A., CURTIS, P., SHAW, R. W., EDWARDS, C. R. W., COOKE, B. A. Direct inhibition of ovarian steroidogenesis by cortisol and the modulatory role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. **Clin. Endocrinol.**, v.38, p.641-644, 1993.
- RABIN, D. S., JOHNSON, E. O., BRANDON, D. D., LIAPI, C., CHROUSOS, G. P. Glucocorticoids inhibits estradiol-mediated uterine growth: possible role of the uterine estradiol receptor. **Biol. Reprod.**, v.42, p.74-80, 1990.
- ROSEN, H., JAMEEL, M. L., BARKAN, A. L. Dexamethasone suppresses gonadotropin responses to GnRH. **Endocrinology**, v.122, p.2873-2880, 1988.
- SCHEIBER, J. R., NAKAMURA, K., ERICKSON, G. F. Rat ovary glucocorticoid receptor: identification and characterization. **Steroids**, v.39, p.569-584, 1982.
- SCHULTZ, R., ISOLA, J., PARVINEN, M., HONKANIEMI, J., WIKSTROM, A. C., GUSTAFSSON, J. A., PELTRO-HUIKKO, M. Localization of the glucocorticoid receptor in testis and accessory sexual organs of male rat. **Mol. Cell Endocrinol.**, v.95, p.115-120, 1993.

SMART, D., FORHEAD, A. J., SMITH, R. F., DOBSON, H. Transport stress delays the oestradiol-induced LH surge by a non-opioidergic mechanism in the early postpartum ewe. **J. Endocrinol.**, v.142, p.447-451, 1994.

WELSH, T. J., JOHNSON, B. H. Stress-induced alterations in secretion of corticosteroids, progesterone, luteinizing hormone and testosterone in bulls. **Endocrinology**, v.109, p.185-190, 1981.

WELSH, T. H., BAMBINO, T. H., HSUEH, A. J. W. Mechanism of glucocorticoid-induced suppression of testicular androgen biosynthesis in vitro. **Biol. Reprod.**, v.27, p.1138-1146, 1982.

YANG, J-G., CHEN, W-Y., LI, P. S. Effects of glucocorticoids on maturation of pig oocytes and their subsequent fertilizing capacity in vitro. **Biol. Reprod.**, v.60, p.929-936, 1999.

Recebido em: 27/07/2008

Aceito em: 03/06/2008