

**EXPRESSÃO ENDOMETRIAL DE RECEPTORES DE ESTRADIOL E  
PROGESTERONA EM ÉGUAS CÍCLICAS, GESTANTES E ACÍCLICAS  
TRATADAS COM HORMÔNIOS ESTEROIDAIIS**

ENDOMETRIAL EXPRESSION OF ESTRADIOL AND PROGESTERONE  
RECEPTORS IN CYCLIC, PREGNANT AND NON-CYCLIC STEROID TREATED  
MARES

**Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva<sup>1\*</sup>**

**Cezinande de Meira<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu – Brasil

\*E-mail para correspondência: elisa\_santanna@yahoo.com.br



## RESUMO

A utilização de éguas receptoras cíclicas e acíclicas nos programas de transferência de embriões (TE) é uma prática consagrada na reprodução equina. Uma alternativa vantajosa para criadores e veterinários é o uso das receptoras acíclicas, uma vez que viabiliza a antecipação da estação de monta e reduz o manejo com as receptoras. Para se estabelecer a gestação nestas receptoras, estrógenos e progestinas são administrados, de forma a simular o ambiente hormonal uterino de éguas que se tornam naturalmente gestantes. A administração de estrógenos previamente às progestinas é baseada nos estudos em éguas cíclicas, que mostram que o estradiol, presente no período de estro, estimula a expressão dos seus próprios receptores e dos receptores para progesterona no endométrio. A progesterona, por sua vez, provoca mudanças uterinas que possibilitam o estabelecimento e manutenção da gestação e leva a redução dos receptores de estradiol e de seus próprios receptores durante o diestro e início da gestação. No entanto, pouco se sabe sobre os receptores endometriais de estradiol e progesterona em éguas acíclicas, principalmente utilizadas em programas de TE. O presente trabalho revisa o padrão de expressão gênica dos receptores endometriais de estradiol e progesterona em éguas durante o ciclo estral, início da gestação e submetidas a tratamentos hormonais com estrógenos e progestinas exógenas.

**Palavras-chave:** éguas acíclicas, estradiol, expressão gênica, progesterona, receptores endometriais.



**ABSTRACT**

The use of cyclic and non cyclic recipient mares in embryo transfer (ET) programs is a well established practice in equine reproduction. An advantageous alternative for horse owners and veterinarians is the use of non-cyclic recipients, since it makes possible the anticipation of the breeding season and reduces handling with the recipients. In order to establish pregnancy in the non-cyclic recipients, estrogens and progestins are administered to allow the induction of similar endometrial changes to those which occur in naturally pregnant mares. Administration of estradiol prior to progestins is based on cyclic mares' researches, where estradiol produced during estrous stimulates the expression of estrogen and progesterone receptors in the endometrium. On the other hand, progesterone causes uterine changes that allow pregnancy establishment and maintenance. In addition, progesterone leads to reduction of estrogen and progesterone receptors during diestrous in cyclic mares. However, little is known about estrogen and progesterone endometrial receptors in non-cyclic mares, especially used in ET programs. The current study revises the gene expression pattern of estradiol and progesterone endometrial receptors in mares during estrous cycle, early pregnancy and submitted to estrogens and progestins hormonal treatments.

**Key-words:** non-cyclic mares, estradiol, gene expression, progesterone, endometrial receptors



## INTRODUÇÃO

A transferência de embriões (TE) em equinos é amplamente desenvolvida e disseminada no Brasil. Nosso país está entre os três com maior número de embriões transferidos por ano, junto com os Estados Unidos e Argentina (IETS Statistics and Data Retrieval Committee Report, 2011). No entanto, um grande fator limitante nos programas de TE é o número e qualidade de receptoras disponíveis durante toda a estação reprodutiva e, principalmente, no início desta.

Protocolos hormonais utilizando estrógenos e progestinas são comumente aplicados nos programas de TE com o objetivo de estabelecer a gestação nas receptoras acíclicas (HINRICHS et al., 1986; ROCHA FILHO et al., 2004). A aplicação dos protocolos hormonais que permitem o estabelecimento da gestação nestes animais é empírica, sendo baseada principalmente nos achados ultrassonográficos após a administração dos hormônios.

Sabe-se que os hormônios esteroidais estradiol e progesterona regulam a expressão dos seus receptores no endométrio durante o ciclo estral e início da gestação (WATSON et al., 1992; HARTT et al., 2005). Além disso, o estudo dos receptores de estradiol e progesterona em animais acíclicos tratados com hormônios exógenos tem sido uma ferramenta importante na tentativa de esclarecer os mecanismos envolvidos nesta regulação (MCDOWELL et al., 1999; KIMMINS & MACLAREN, 2001). No entanto, existem poucas descrições sobre os receptores de estradiol e progesterona em éguas em anestro ou transição e, principalmente, sobre o efeito da administração de estrógenos e progestinas sobre seus receptores no útero de éguas acíclicas.

A partir do exposto, o objetivo deste trabalho é revisar o padrão de expressão gênica dos receptores endometriais de estradiol e progesterona em éguas cíclicas e acíclicas, durante o ciclo estral, início da gestação e submetidas a tratamentos hormonais com estrógenos e progestinas exógenas, respectivamente.



## REVISÃO DE LITERATURA

### Utilização de éguas receptoras acíclicas nos programas de transferência de embriões

Sabe-se que éguas são poliéstricas estacionais e o início da estação reprodutiva na primavera depende de diversos fatores fisiológicos e ambientais, tais como idade, raça, condição corporal e principalmente o fotoperíodo (GINTHER, 1992; NAGY et al., 2000). A sazonalidade reprodutiva é dividida em quatro fases, baseada na dinâmica folicular: fase de anestro, de transição de primavera, ovulatória e de transição de outono (GINTHER et al., 2004).

Geralmente, durante o período de transição de primavera, um manejo alimentar diferenciado é oferecido a doadoras e receptoras nas propriedades rurais e centrais de TE, fazendo com que éguas doadoras iniciem a atividade cíclica mais cedo no ano, enquanto as receptoras permanecem em anestro. Desta forma, existe reduzido número de receptoras cíclicas disponíveis. Para algumas associações de criadores de equinos, o uso de receptoras nesta fase é extremamente desejável (ROCHA FILHO et al., 2004), uma vez que existe pressão econômica para que os potros nasçam o mais próximo possível do início do ano hípico (1º de janeiro no hemisfério norte e 1º de julho no hemisfério sul). Este fato tem estimulado pesquisadores a desenvolverem métodos que antecipem a ciclicidade das éguas (NAGY et al., 2000) ou que permitam a utilização das receptoras acíclicas nos programas de TE (CARNEVALE et al., 2000; ROCHA FILHO et al., 2004).

As taxas de gestação nas receptoras acíclicas são, na maioria dos trabalhos, similares às das receptoras cíclicas e, portanto, podem ser utilizadas com sucesso nos programas de TE (CARNEVALE et al., 2000; ROCHA FILHO et al., 2005; GRECO et al., 2012). Adicionalmente, existem algumas vantagens no uso de éguas acíclicas como receptoras, considerando que estas não precisam ser sincronizadas com as doadoras de embriões, não há necessidade de realizar rufiações e, principalmente, exige-se menor frequência de palpções retais (HINRICHS & KENNEY, 1987).



## Protocolos hormonais utilizados no preparo de receptoras acíclicas

Com o objetivo de se estabelecer a gestação nas receptoras acíclicas, protocolos hormonais utilizando estrógenos (ex. benzoato de estradiol, 17-beta estradiol) e progestinas (ex. progesterona, altrenogest) são comumente aplicados nos programas de TE em equinos. (HINRICHS et al., 1986; MCKINNON et al., 1988; LAGNEAUX & PALMER, 1993; CARNEVALE et al., 2000; ROCHA FILHO et al., 2004). A disponibilidade destes hormônios (naturais ou sintéticos) possibilita a indução de mudanças uterinas similares às que ocorrem nas éguas que se tornam naturalmente gestantes (PINTO, 2011), como a formação do edema endometrial causado pelo estradiol e, posteriormente, aumento do tônus uterino e estímulo à secreção histotrófica, provocadas pelas progestinas (VANDERWALL, 2011).

Pesquisas envolvendo a administração de protocolos hormonais em éguas receptoras são descritas desde a década de 80. A aplicação somente de progestinas foi relatada por Hinrichs et al. (1985,1986) para o preparo de receptoras acíclicas, enquanto McKinnon et al. (1988) utilizaram estradiol previamente e em conjunto à administração de progestinas (progesterona e altrenogest), uma vez que foi demonstrado que o embrião equino secreta estrógenos na fase inicial da gestação (ZAVY et al., 1979). As taxas de gestação foram similares entre os trabalhos de Hinrichs et al. (1985) e McKinnon et al. (1988), variando de 70% (três gestações de quatro transferências) a 70-80% entre os protocolos testados (7/10, 8/10, 14/20), respectivamente. McKinnon et al. (1988) sugeriram que, independente da administração do estradiol, o requisito primário para o preparo e a manutenção da gestação é a concentração adequada de progestinas exógenas.

Atualmente, a campo e com fins experimentais, aplica-se estradiol (benzoato de estradiol, cipionato de estradiol ou 17 $\beta$  estradiol) nas receptoras acíclicas e, após a observação do edema endometrial, administra-se progesterona por cinco a oito dias antes da égua receber o embrião (ROCHA FILHO et al., 2004), ou altrenogest (progesterona sintética) por quatro a seis dias antes da transferência (SILVA et al., 2011), visando a obtenção de concentração plasmática adequada no momento da TE. No



entanto, a aplicação destes protocolos é empírica, uma vez que não há trabalhos científicos que comprovem a melhor eficácia de determinada dose, hormônio ou protocolo e ainda, que avaliem o efeito da administração destes hormônios sobre os receptores de estradiol e progesterona no útero de éguas receptoras acíclicas.

### **Mecanismos de ação dos estrógenos e progestinas no útero**

Os estrógenos (ex. 17-alfa estradiol, 17-beta estradiol, estrona) e progestinas (ex. progesterona, 17-alfa-hidroxiprogesterona, pregnenolona, 5-alfa-pregna-3,20-diona) naturais, pertencentes ao grupo dos hormônios esteróides, são derivados do colesterol e sintetizados pelos ovários e placenta (BEATO & KLUG, 2000). Na espécie equina, o 17-beta estradiol e a progesterona são os principais esteróides de origem ovariana (GINTHER, 1992).

Tanto o estradiol (E2) quanto a progesterona (P4) mediam importantes alterações fisiológicas no útero. O E2, entre outras funções, tem participação no aumento da perfusão vascular durante o estro (BOLLWEIN et al. 2002; HONNENS et al., 2011), na formação do edema endometrial em éguas (GINTHER, 1992) e na proliferação e diferenciação celular do endométrio e miométrio (MELLOR & THOMAS, 1995; AUPPERLE et al., 2000). Já a P4 está associada à quiescência do miométrio (THORBURN, 1993), ao aumento do tônus uterino e estímulo à secreção histotrófica (GINTHER, 1992; VANDERWALL, 2011), além da importante interação conceito-maternal (ALLEN, 2001; SPENCER & BAZER, 2002).

Os hormônios esteróides atingem as células alvo por meio da circulação sanguínea, onde são ligados a proteínas carreadoras e, devido à natureza lipofílica, atravessam a membrana celular por simples difusão. Dentro das células alvo, os hormônios se ligam a seus respectivos receptores localizados, em sua maioria, no núcleo das células (BEATO & KLUG, 2000). O complexo hormônio-receptor sofre ativação (processo que envolve alterações de conformação) e permite que o receptor se ligue a sítios específicos na cromatina. O complexo hormônio-receptor ativado interage com sequências específicas do DNA (chamadas “Steroid response elements” – SREs).



A partir de então, o complexo atua como um fator de transcrição, modulando a síntese de RNAm (RNA mensageiro) e de proteínas, responsáveis pelos efeitos finais dos estrógenos ou progestinas (BAGCHI et al., 1992; DE FRANCO et al., 2002).

O E2 media suas funções através das formas alfa ( $ER\alpha$ ) e beta ( $ER\beta$ ) de seus receptores, que são expressos por diferentes genes (ENMARK et al., 1997). Estudos realizados em ratos relatam que o  $ER\alpha$  é expresso na glândula pituitária, ovários, útero, testículos, epidídimo e glândula adrenal (KUIPER et al., 1997), enquanto o  $ER\beta$  é expresso principalmente nos ovários e próstata (KUIPER et al., 1996, 1997; ENMARK et al., 1997). No entanto, a presença do  $ER\beta$  também foi descrita no útero (MATSUZAKI et al., 1999; WEIHUA et al., 2000), recentemente no da espécie equina (HONNENS et al., 2011).

O importante papel do  $ER\alpha$  foi confirmado em camundongos sem a presença do receptor, em que foi observada a ausência de resposta uterina à ação dos estrógenos (LUBAHN et al., 1993). Quanto ao  $ER\beta$ , acredita-se que seja um modulador do  $ER\alpha$ , apresentando efeito anti-proliferativo no útero, em oposição à ação do  $ER\alpha$ . Adicionalmente, a ausência do  $ER\beta$  em útero de camundongos experimentais causou redução na fertilidade (WEIHUA et al., 2000), o que demonstrou a sua importância no aspecto reprodutivo.

Já a P4 exerce suas funções genômicas principalmente por meio de dois tipos de receptores nucleares: isoforma A e isoforma B do receptor de progesterona (PR). Ambas isoformas são codificados pelo mesmo gene, mas são reguladas por promotores diferentes (MOTE et al., 2006). A isoforma A atua principalmente mediando a ação da P4 no útero e ovários, enquanto a isoforma B é mais importante no desenvolvimento da glândula mamária (MULAC-JERICEVIC et al. 2000, 2003).

### **Expressão gênica dos receptores de estradiol e progesterona durante o ciclo estral e início da gestação**

Os receptores de estradiol e progesterona são expressos de forma diferenciada durante o estro, diestro e início da gestação. A expressão gênica e protéica dos ER e PR





são diferentes dentro dos tecidos que compõe o útero (endométrio, miométrio) e, ainda, entre os tipos celulares (epitélio luminal, epitélio glandular, estroma) que constituem os tecidos (WATSON et al., 1992; RE et al., 1995; AUPPERLE et al., 2000; HARTT et al., 2005).

Em resumo, estudos realizados em diversas espécies (OTT et al. 1993, SPENCER & BAZER, 1995, 2002; GEISERT et al., 1993, 1994; MARTIN et al., 2008; OKUMU et al., 2010), incluindo a espécie equina (WATSON et al., 1992; MCDOWELL et al., 1999; HARTT et al., 2005), mostram que o E2, presente no período de estro, estimula a expressão dos seus próprios receptores e dos receptores de progesterona no endométrio. Durante o diestro, a concentração de P4 se eleva e conseqüentemente ocorre diminuição dos receptores de estradiol. Além disso, a exposição contínua do útero à progesterona leva a supressão dos próprios receptores de P4 a partir do meio até a fase final do diestro. Foi sugerido que a diminuição dos PR nesta fase leva ao desbloqueio da síntese de ER, o que possibilita o aumento da concentração deste durante um novo estro (HARTT et al, 2005). O mecanismo pelo qual a P4 suprime a expressão de ER e PR ainda não é bem elucidada (SPENCER & BAZER, 2002).

As alterações na expressão gênica e protéica dos ER e PR também são de extrema importância no ambiente uterino para a manutenção da gestação. No início da gestação observam-se baixas concentrações de ambos ER e PR no endométrio de éguas (HARTT et al., 2005, assim como em outras espécies domésticas (SPENCER & BAZER, 2002; BAZER et al., 2009). McDowell et al. (1999) e Hartt et al. (2005) relataram que a expressão gênica dos PR no dia 14 do ciclo é menor em éguas gestantes em relação às cíclicas. A partir deste resultado, os autores sugeriram que o referido momento é crítico para o estabelecimento da gestação e que, possivelmente, a menor concentração dos PR no endométrio seria uma resposta à sinalização do embrião presente no útero.

Acredita-se que a supressão do PR endometrial durante a fase inicial da gestação seja um pré requisito para a produção de proteínas secretórias e para o transporte seletivo de moléculas para o útero, de forma a suprir o concepto em desenvolvimento



(BAZER et al., 2009). Além disso, é interessante mencionar que a administração de progestinas exógenas no início da gestação acelerou a supressão dos PR em éguas cíclicas (WILLMANN et al., 2011a) e em bovinos (OKUMU et al., 2010). Foi sugerido que a supressão dos receptores de progesterona no endométrio está associada com a receptividade uterina necessária para o desenvolvimento do conceito, reconhecimento materno da gestação e posterior implantação (SPENCER & BAZER, 2002; BAZER et al., 2009; OKUMU et al., 2010; WILMANN et al., 2011b).

### **Expressão gênica dos receptores de estradiol e progesterona em éguas acíclicas tratadas com hormônios exógenos**

Para tentar esclarecer os mecanismos envolvidos na regulação dos estrógenos e/ou progestinas sobre os receptores esteroidais no útero, estudos em animais acíclicos tratados com hormônios exógenos foram desenvolvidos. A expressão gênica e protéica dos ER e PR, após aplicação de estradiol e progestinas, foram relatadas em éguas em anestro fisiológico (MCDOWELL et al., 1999) e em ovelhas e vacas ovariectomizadas (WU et al., 1996; KIMMINS & MACLAREN, 2001). Apesar da utilização de diferentes protocolos hormonais (dose e duração do tratamento com estrógenos e/ou progestinas), foram encontrados resultados similares nas pesquisas realizadas nas fêmeas acíclicas. Foi observado aumento nas concentrações do RNAm que codifica o receptor de estradiol somente após a aplicação do E2. Além disso, não se verificou efeito da administração de progesterona sobre a expressão dos ER ou dos próprios receptores de P4 no endométrio (WU et al., 1996; KIMMINS & MACLAREN, 2001).

Vale salientar que, nas fêmeas acíclicas que não receberam tratamento hormonal, foram observadas concentrações relativamente altas dos RNAm que codificam os ER e PR endometriais em éguas (MCDOWELL et al., 1999) e dos respectivos receptores (proteínas) em vacas (KIMMINS & MACLAREN, 2001). Adicionalmente, as alterações na expressão gênica dos ER e PR das éguas em anestro tratadas com estradiol e progestinas não foram tão acentuadas quanto às observadas nas éguas cíclicas (MCDOWELL et al., 1999).



Uma vez que não foi encontrado efeito significativo da administração de progesterona sobre os receptores de E2 e P4 endometriais e que há uma expressão constitutiva de ER e PR na ausência dos hormônios esteroidais em éguas acíclicas (MCDOWELL et al., 1999), foi sugerido que a regulação destes receptores não é totalmente atribuída aos hormônios esteroidais. Outros fatores podem estar envolvidos na regulação da expressão gênica dos receptores de estrógeno e progesterona (MCDOWELL et al., 1999), como fatores parácrinos produzidos por populações locais das células uterinas (KURITA et al., 2000).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Assim como em diversas espécies, sabe-se que a expressão e detecção dos receptores endometriais de estradiol e progesterona variam de acordo com o ambiente hormonal em éguas cíclicas. No entanto, o único estudo realizado em éguas acíclicas indica que os estrógenos e progestinas não são os únicos a influenciar a dinâmica dos receptores de estradiol e progesterona no endométrio destes animais. Neste contexto, pesquisas adicionais são necessárias para obter maior esclarecimento sobre a expressão gênica e protéica de receptores uterinos de estradiol e progesterona em éguas acíclicas, tanto em anestro ou transição, quanto submetidas a protocolos hormonais.

## REFERÊNCIAS

ALLEN, 2001. Luteal deficiency and embryo mortality in the mare. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 36, p. 121-131, 2001.

AUPPERLE, H.; OZGEN SSHOON, H.A.; SCOON, D.; HOPPEN, H.O.; SIEME, H.; TANNAPFEL, A. Cyclical endometrial steroid hormone receptor expression and proliferation intensity in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 32(3), p. 228-232, 2000.



BAGCHI, M.K.; TSAI, M.J.; O'MALLEY, B.W.; TSAI, S. Analysis of the mechanism of steroid hormone receptor-dependent gene activation in cell-free systems. **Endocrine Reviews**, v. 13, n. 3, p. 525-535, 1992.

BAZER, F.W.; SPENCER, T.E.; JOHNSON, G.A.; BURGHARDT, R.C.; WU, G. Comparative aspects of implantation. **Reproduction**, v. 138, p. 195-209, 2009.

BEATO, M.; KLUG, J. Steroid hormone receptors: an update. **Human Reproduction Update**, v.6, n.3, p. 225-236, 2000.

BOLLWEIN, H.; WEBER, F.; KOLBERG, B.; STOLLA, R. Uterine and ovarian blood flow during the estrous cycle in mares. **Theriogenology**, v. 57, p. 2129-2138, 2002.

CARNEVALE, E.M.; RAMIREZ, R.J.; SQUIRES, E.L.; ALVARENGA, M.A.; VANDERWALL, D.K.; MCCUE, P.M. Factors affecting pregnancy rates and early embryonic death after equine embryo transfer. **Theriogenology**, v.54, p. 965-79, 2000.

DE FRANCO, D.B. Navigating steroid hormone receptors through the nuclear compartment. **Molecular Endocrinology**, v.16, p.1449-1455, 2002.

ENMARK, E.; PELTO-HUIKKO, M.; GRANDIEN, K.; LAGERCRANTZ, S.; LAGERCRANTZ, J.; FRIED, G.; NORDENSKJOLD, M.; GUSTAFSSON, J.A. Human estrogen receptor b-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 82, p. 4258-4265, 1997.

GEISERT, R.D.; BRENNER, R.M.; MOFFATT, R.J.; HARNEY, J.P.; YELLIN, T.; BAZER, F.W. Changes in oestrogen receptor protein, mRNA expression and



localization in the endometrium of cyclic and pregnant gilts. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 5, p. 247–260, 1993.

GEISERT, R.D.; PRATT, T.N.; BAZER, F.W; MAYES, J.S.; WATSON, G.H. Immunocytochemical localization and changes in endometrial progesterin receptor protein during the porcine oestrous cycle and early pregnancy. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 6, p. 749–760, 1994.

GINTHER, O.J. **Reproductive Biology of the Mare: Basic and Applied Aspects**. 2. ed. Editora Cross Plains WI:Equiservices, 1992. 642p.

GINTHER, O.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Animal Reproduction**, v.1, n.1, p. 31-44, 2004.

HARTT, L.S.; CARLING, S.J.; JOYCE, M.M.; JOHNSON, G.A.; VANDERWALL, D.K.; OTT, T.L. Temporal and spatial associations of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. **Reproduction**, v.130, p.241-250, 2005.

HINRICHS, K.; SERTICH, P.L.; CUMMINGS, M.R.; KENNEY, M.R. Pregnancy in ovariectomized mares achieved by embryo transfer. **Equine Veterinary Journal**, Supplement 3, p. 74-75, 1985.

HINRICHS, K.; SERTICH, P.L.; KENNEY, R.M. Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v.26, p. 455-60, 1986.

HINRICHS, K.; KENNEY, R.M. Effect of timing of progesterone administration on pregnancy rate and embryo transfer in ovariectomized mares. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v. 35, p. 439-443, 1987.



HONNENS, A.; WEISSER, S.; WELTER, H.; EINSPANIER, R.; BOLLWEIN, H. Relationships between uterine blood flow, peripheral sex steroids, expression of endometrial estrogen receptors and nitric oxide synthases during the estrous cycle in mares. **Journal of Reproduction and Development**, v. 57, n.1, p. 43-48, 2011.

KIMMINS, S.; MACLAREN M.A. Oestrous cycle and pregnancy effects on the distribution of oestrogen and progesterone receptors in bovine endometrium. **Placenta**, v. 22, p. 742-748, 2001.

KUIPER, G.G.; ENMARK, E.; PELTO-HUIKKO, M.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J.A. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. **PNAS**, v. 93, p. 5925–5930, 1996.

KUIPER, G.G.; CARLSSON, B.; GRANDIEN, K.; ENMARK, E.; HAGGBLAD, J.; NILSSON, S.; GUSTAFSSON, J.A. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors a and b. **Endocrinology**, v. 138, p. 863–870, 1997.

KURITA, T.; LEE, K.; COOKE, P.S.; TAYLOR, J.A.; LUBAHN, D.B.; CUNHA, G.R. Paracrine regulation of epithelial progesterone receptor by estradiol in the mouse female reproductive tract. **Biology of Reproduction**, v. 62, p. 821-830, 2000.

LAGNEAUX, D.; PALMER, E. Embryo transfer in anoestrous recipient mares: attempts to reduce altrenogest administration period by treatment with pituitary extract. **Equine Veterinary Journal, Supplement** 15, p. 107-110, 1993.

LUBAHN, D.B.; MOYER, J.S.; GOLDING, T.S.; COUSE, J.F.; KORACH, K.S.; SMITHIES, O. Alteration of reproduction function but not prenatal sexual development



after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, p. 11162-6, 1993.

MARTIN, I.; TORRES NETO, R.; OBA, E.; BURATINI, J.R.E.; BINELLI, M.; LAUFER-AMORIM, R.; FERREIRA, J.C.P. Immunohistochemical detection of receptors for oestrogen and progesterone in endometrial glands and stroma during the oestrous cycle in nelore (*Bos Taurus indicus*) cows. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 43, p. 415-421, 2008.

MATSUZAKI, S.; FUKAYA, T.; SUZUKI, T.; MURAKAMI, T.; SASANO, H.; YAJIMA, A. Oestrogen receptor alpha and beta mRNA expression in human endometrium throughout the menstrual cycle. **Molecular Human Reproduction**, v.5(6), p. 559-64, 1999.

MCDOWELL, K.J.; ADAMS, M.H.; ADAM, C.Y.; SIMPSON, K.S. Changes in equine endometrial oestrogen receptor  $\alpha$  and progesterone receptor mRNAs during the oestrous cycle, early pregnancy and after treatment with exogenous steroids. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 117, p. 135-142, 1999.

MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; CARNEVALE, E.M.; HERMENET, M.J. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipient and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance. **Theriogenology**, v. 29, p. 1055-63, 1988.

MELLOR, S.J.; THOMAS, E.J. Interactions between oestradiol and epidermal growth factor in endometrial stromal proliferation and differentiation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.104, p. 157-164, 1995.

MOTE, P.A.; ARNETT-MANSFIELD, R.L.; GAVA, N.; DEFAZIO, A.; MULAC-JERICEVIC, B.; CONNEELY, O.M.; CLARKE, C.L. Overlapping and distinct



expression of progesterone receptors A and B in mouse uterus and mammary gland during the estrous cycle. **Endocrinology**, v. 147, p. 5503–5512, 2006.

MULAC-JERICEVIC, B.; MULLINAX, R.A.; DEMAYO, F.J.; LYDON, J.P.; CONNEELY, O.M. Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. **Science**, v. 289, p.1751–1754, 2000.

MULAC-JERICEVIC B, LYDON JP, DEMAYO FJ, CONNEELY OM. Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform. **PNAS**, v. 100, p. 9744–9749, 2003.

NAGY, P.; GUILLLAUME, D.; DAELS, P. Seasonality in mares. **Animal Reproduction Science**, 60-61, p.245-62, 2000.

OKUMU, L.A.; FORDE, N.; FAHEY, A.G.; FITZPATRICK, E.; ROCHE, J.F.; CROWE, M.A. expression and localization of progesterone and oestrogen receptors in the bovine uterus. **Reproduction**, v.140, p. 143-153, 2010.

OTT, T.L.; MIRANDO, M.A.; STEVENS, C.; HARNEY, J.P.; OGLE, T.F.; BAZER, F.W. Changes in progesterone and oestrogen receptor mRNA and protein during maternal recognition of pregnancy and luteolysis in ewes. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 10, p. 171–183, 1993.

PINTO, C.R.F. Progestagens and Progesterone. In: MC KINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, W.E.; VARNER, D.D. **Equine Reproduction**. 2º Ed. Blackwell Publishing, 2011, vol.2, cap.189, pg. 1811-1817.

RE, G.; BADINO, P.; NOVELLI, A. Distribution of cytosolic oestrogen and progesterone receptors in the genital tract of the mare. **Research in Veterinary Science**, v. 59, p. 214-218, 1995.





ROCHA, FILHO A.N.; PESSÔA, M.A.; GIOSO, M.M.; ALVARENGA, M.A. Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone. **Animal Reproduction**, v. 1, n. 1, p. 91-95, 2004.

SILVA, E.S.M.; FRADE, S.; FERREIRA, J.C.; PUOLI FILHO, J.N.P.; MEIRA, C. Effect of interrupting altrenogest treatment in non-cyclic recipient mares on pregnancy maintenance: partial results. **Resúmenes del II Congreso Argentino de Reproducción Equina**, 1º Ed. Editorial Universidad Nacional de Rio Cuarto, p.551-553, 2011.

SPENCER, T.E.; BAZER, F.W. Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe. **Biology of Reproduction**, v. 53, p.1527–1543, 1995.

SPENCER, T.E.; BAZER, F.W. Biology of progesterone action during pregnancy recognition and maintenance of pregnancy. **Frontiers in Bioscience**, v. 7, p. 1879–1898, 2002.

THORBURN, G.D. A speculative review of parturition in the mare. **Equine Veterinary Journal Supplement**, v.14, p.41-49, 1993.

VANDERWALL, D.K. Progesterone. In: MC KINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, W.E.; VARNER, D.D. **Equine Reproduction**. 2º Ed. Blackwell Publishing, 2011, vol.2, cap.170, pg. 1637-1641.

WATSON, E.D.; SKOLNIK, S.B.; ZANECOSKY, H.Z. Progesterone and estrogen receptor distribution in the endometrium of the mare. **Theriogenology**, v.38, p. 575-580, 1992.



WILLMANN, C.; BUDIK, S.; WALTER, I.; AURICH, C. Influences of treatment of early pregnant mares with the progestin altrenogest on embryonic development and gene expression in the endometrium and conceptus. **Theriogenology**, v.76, p.61-73, 2011a.

WILLMANN, C.; SCHULER, G.; HOFFMANN, B.; PARVIZI, N.; AURICH, C. Effects of age and altrenogest treatment on conceptus development and secretion of LH, progesterone and eCG in early pregnant mares. **Theriogenology**, v.75, p.421– 8, 2011b.

WU, W.X.; OWINY, J.; ZHANG, Q.; MA, X.H.; NATHANIELSZ, P.W. Regulation of the estrogen receptor and its messenger ribonucleic acid in the ovariectomized sheep myometrium and endometrium: the role of estradiol and progesterone. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 762-768, 1996.

ZAVY, M.T.; MAYER, R.; VERNON, M.W.; BAZER, F.W.; SHARP, D.C. An investigation of the uterine luminal environment of non-pregnant and pregnant pony mares. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, v.27, p. 403-11, 1979.

WEIHUA, Z.; SAJI, S.; MAKINEN, S.; CHENG, G.; JENSEN, E.V.; WARNER, M.; GUSTAFSSON, J.A. Estrogen receptor (ER)  $\beta$ , a modulator of ER $\alpha$  in the uterus. **PNAS**, v.97, n.11, p. 5936-5941, 2000.

