



Fisiologia e biotécnicas da reprodução desenvolvidas em fêmeas de Primatas Neotropicais importantes para a pesquisa biomédica

Physiology and biotechnologies of reproduction developed in Neotropical primates important for biomedical research

Sheyla Farhayldes Souza Domingues^{1,3}, Maria Clara Caldas-Bussiere²

¹Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal, PA, Brasil.

²Setor de Reprodução Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuária, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

³Correspondência: shfarha@ufpa.br

Resumo

Os primatas neotropicais são um modelo experimental de grande importância para a pesquisa biomédica. No entanto, a disponibilidade destes animais para estudos científicos vem diminuindo devido às proibições impostas por parte dos países fornecedores de primatas. Estudos visando ao desenvolvimento de biotécnicas da reprodução em primatas utilizados na pesquisa ou em perigo de extinção são necessários. Os primatas neotropicais considerados mais importantes para a pesquisa biomédica são os das espécies *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus* e *Cebus apella*. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo discorrer sobre a biologia, fisiologia e biotécnicas de reprodução desenvolvidas em fêmeas destas três espécies.

Palavras-chave: fisiologia da reprodução, biotécnicas de reprodução, *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus* e *Cebus apella*.

Abstract

*The neotropical primates are important experimental models for biomedical researches. However, scientists are facing a shortage of nonhuman primates available for research due to the limited access to specimens from supplying countries. Because of that studies aiming the improvement of biotechnologies of reproduction for neotropical primates species used for research as well as for endangered species are necessary. The *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus* and *Cebus apella* are the most important neotropical primates species used for research. The present work aimed reviewing the reproductive biology and physiology of these species and updating knowledge's related to the use of biotechnologies of reproduction in these species.*

Keywords: physiology, biotechnology of reproduction, *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus*, *Cebus paella*.

Introdução

As pesquisas com primatas recebem grande atenção devido às similaridades filogenéticas destes com a espécie humana (Abee, 2003; Wolf *et al.*, 2004a; Wolf *et al.*, 2004b), o que os torna importantes modelos experimentais para pesquisas biomédicas (Wright e Bush, 1977; Aurichio, 1995). Estes animais são geralmente os melhores ou, às vezes, o único modelo para estudar algumas doenças em humanos, bem como terapias e estratégias de prevenção. Um exemplo de doença é a malária, que necessita de espécies de primatas neotropicais como modelo para o seu estudo (Abee, 2003). Os primatas não-humanos são também importantes para diversas pesquisas em reprodução relacionada à saúde humana (Abbott *et al.*, 2004; Appt, 2004; Archer, 2004; Cline, 2004; Jerome, 2004; Kaplan, 2004; Kaplan e Manuck, 2004; Murphy *et al.*, 2004; Story e Kennedy, 2004; Williams e Suparto, 2004). No entanto, a disponibilidade de primatas para a pesquisa biomédica vem diminuindo, devido às proibições para exportação impostas pelos países fornecedores de primatas, por razões desde religiosas até a ameaça de extinção dessas espécies (Demands for Rhesus Monkey in Biomedical Research: A Workshop Report, 2003). Desta forma, o desenvolvimento de biotécnicas de reprodução, visando não somente a melhorar o desempenho reprodutivo de primatas em cativeiro, mas também preservar a diversidade genética e produzir animais híbridos para a pesquisa biomédica tem sido considerado prioritário pelos grupos de pesquisas de diversos países que utilizam estes animais como modelos biológicos (Abee, 2003).

As espécies de primatas neotropicais brasileiras mais utilizadas como modelo biológico são *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus* e *Cebus apella*. No entanto, essas ainda são pouco estudadas no Brasil, principalmente no que se refere ao desenvolvimento de biotécnicas reprodutivas que se apresentam como uma alternativa à diminuição de animais disponíveis em cativeiro para a pesquisa. O estudo da biologia e da fisiologia reprodutiva de primatas brasileiros das espécies *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus* e *Cebus apella* em cativeiro (*ex situ*) ou *in situ*, é essencial tanto para o seu manejo reprodutivo *ex situ*, assim como para estudos visando ao

desenvolvimento de biotécnicas de reprodução (Domingues, 2000; Domingues 2005; Domingues e Caldas-Bussiere, 2002; Domingues *et al.*, 2003, Domingues *et al* 2004; Domingues *et al* 2005; Wolf, 2004).

Dessa forma, o presente trabalho tem o objetivo de abordar a biologia e a fisiologia reprodutiva das espécies *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus* e *Cebus apella*, bem como apresentar uma revisão do desenvolvimento de biotécnicas de reprodução que visam não somente aumentar o potencial reprodutivo de fêmeas, mas que apresentam perspectivas sobre a compreensão da biologia dos oócitos de primatas e do emprego de técnicas como a Fertilização *in vitro* (FIV), transferência de embriões (TE), clonagem e estudos de células tronco em primatas neotropicais utilizados na pesquisa biomédica.

Classificação dos primatas brasileiros utilizados na pesquisa biomédica

Os primatas pertencem à ordem Primates, que é dividida em duas subordens: a Strepsirhini e a Haplorhini. Os haplorrinos constituem as infra-ordens Tarsii, Platyrrhini e Catarrhini. Os primatas são usualmente chamados de neotropicais ou primatas do Novo Mundo (PNM) (Platyrrhini) e primatas do Velho Mundo (PVM) (Catarrhini), que são aqueles provenientes da Ásia e da África (Aurichio, 1995). Os primatas do Novo Mundo (Infra-ordem Platyrrhini) são definidos como um grupo diversificado de antropóides encontrados em *habitats* tropicais das Américas Central e do Sul (Fleagle, 1999). A infra-ordem Platyrrhini é formada pela superfamília Ceboidea, que por sua vez é dividida nas famílias Callimiconidae, Callitrichidae, Cebidae (Monteiro da Cruz, 1998).

Os cebídeos constituem a maioria dos primatas neotropicais (Aurichio, 1995). Dentre estes se destacam as subfamílias Cebinae e Saimiriinae, a que pertencem as espécies *Cebus apella* e *Saimiri sciureus*, respectivamente (Hershkovitz, 1979; Vaughan, 1985), enquanto a espécie *Callithrix jacchus* pertence à Família Callitrichidae.

Fisiologia reprodutiva das fêmeas de primatas: aspectos gerais

Segundo Hodges (1987), o ciclo ovariano em primatas compreende uma seqüência de eventos que refletem o crescimento folicular, a ovulação de um oócito maduro e a formação do *corpus luteum*. De acordo com o mesmo autor, funcionalmente, o ciclo ovariano pode ser dividido em três fases: 1) folicular ou proliferativa, que compreende os eventos que levam ao desenvolvimento de um folículo pré-ovulatório; 2) ovulatória, que tem início com o pico de hormônio luteinizante (LH) e culmina com a ruptura folicular e extrusão de um oócito maduro e 3) luteal ou secretória, que se inicia após a ovulação e se estende até o início da luteólise. Contudo, em primatas de ciclo menstrual, existe ainda uma quarta fase, chamada de menstrual (Asa, 1996), na qual ocorre colapso e parcial destruição do endométrio, seguida da descamação desse (Strassmann, 1996; Hernández-López *et al.*, 1998).

As diferenças entre os ciclos estral e menstrual são que no ciclo estral o acasalamento está limitado ao período do cio, que coincide com a ovulação, enquanto em espécies de ciclo menstrual a relação sexual não está restrita ao período periovulatório, ou seja, dá-se em qualquer época do ciclo, e a ovulação ocorre na metade do ciclo menstrual. O ciclo estral estende-se de uma ovulação a outra, enquanto o menstrual delimita-se entre uma menstruação e outra (Hafez, 1995), ou seja, o primeiro dia da fase menstrual é considerado o primeiro dia do ciclo (Nagle *et al.*, 1979; Nagle *et al.*, 1980). O sangramento característico que ocorre no ciclo estral é decorrente do aumento de estrógeno e acontece no proestro (Hafez, 1995). No ciclo menstrual, o sangramento dá-se pela diminuição das concentrações de estrógeno e progesterona que ocorrem durante a luteólise (Hernández-López *et al.*, 1998).

O ciclo estral foi dividido classicamente em estádios que representam eventos comportamentais e/ou gonadais. A terminologia, criada originalmente para cobaias, ratos e camundongos, foi a seguinte: estro – período de receptividade sexual; metaestro – período de desenvolvimento inicial do corpo lúteo; diestro – período da fase madura do corpo lúteo; proestro – período de desenvolvimento folicular, subsequente à regressão lútea e que termina no estro (Stabenfeldt, 1992). Em animais de ciclo menstrual, cuja atividade sexual não está restrita a nenhuma fase do ciclo, esta terminologia não é muito adequada. As espécies *C. jacchus* (Abbott e Hearn, 1978) e *S. sciureus* (Gould *et al.*, 1973) são primatas neotropicais de ciclo estral, enquanto a espécie *C. apella* apresenta ciclo menstrual (Wright e Bush, 1977; Nagle *et al.*, 1979; Nagle *et al.*, 1980; Linn *et al.*, 1995; Fragazy e Adams-Curtis, 1998; Domingues, 2005; Ortiz *et al.*, 2005).

Em uma revisão acerca da atividade sexual em primatas não-humanos, Blaffer e Whitten (1987) referem-se ao ciclo menstrual como sendo típico de primatas do Velho Mundo. Estes autores basearam-se na observação do sangramento cíclico e do comportamento sexual de primatas. Contudo, para uma classificação precisa do ciclo ovariano em primatas, são necessários estudos endocrinológicos e colpocitológicos. Por meio de estudos mais amplos, o ciclo menstrual tem sido descrito em várias espécies de primatas do Novo Mundo (Wright e Bush, 1977; Nagle *et al.*, 1979; Nagle *et al.*, 1980, Hernández-López *et al.*, 1998; Ortiz *et al.*, 2005).

Fisiologia reprodutiva dos primatas neotropicais utilizados na pesquisa biomédica

Saimiri sciureus: ciclo estral

A espécie *S. sciureus* organiza-se em grupos de 10 a 35 indivíduos, ou até mesmo em grupos com centenas de indivíduos (Baldwin e Baldwin, 1971; Baldwin, 1985). O peso corpóreo do indivíduo adulto pode variar de 0,900 – 1,200kg. A fêmea de *S. sciureus* pode conceber pela primeira vez aos 2,5 anos de idade (Baldwin, 1985). A gestação dura em média de 155 dias (Jarosz *et al.*, 1971; Hearn, 1994), sendo o intervalo de gerações de 4 anos (Hearn, 1994).

A fêmea de *S. sciureus* apresenta um ciclo estral de oito-nove dias. A concentração sérica de estrógeno (E_2) varia de $81,0 \pm 8,2$ pg/ml a $503,0 \pm 57,5$ pg/ml, sendo que leva de oito a dez dias entre um pico e outro de E_2 (Wolf *et al.*, 1977). Ghost *et al.* (1982) observaram que um aumento abrupto da concentração de E_2 ocorre aproximadamente no dia 4 do ciclo, sendo acompanhado por um pico LH. Após três-quatro dias do pico de E_2 , as concentrações séricas de progestinas atingem valores máximos de $399,0 \pm 27,7$ ng/ml. A menor concentração de progestinas séricas foi $70 \pm 12,0$ ng/ml (Wolf *et al.*, 1977).

A espécie *S. sciureus*, diferente de outros primatas neotropicais, apresenta uma sazonalidade bem definida (Dukelow, 1970; Wolf *et al.*, 1977; Dukelow, 1978). Esta sazonalidade foi primeiramente descrita quando animais foram levados do Brasil para o hemisfério norte e uma colônia foi mantida em condições ambientais em Miami (Florida-EUA). Durante seis anos de manutenção desta colônia de *S. sciureus*, o nascimento de filhotes foi restrito a apenas 8 - 12 semanas por ano (Dumond, 1968). A sazonalidade desta espécie parece estar relacionada ao período de estação seca (Hearn, 1983) e não ao fotoperíodo. Na natureza, estes animais reproduzem-se de julho a setembro, com os nascimentos acontecendo em dezembro. No hemisfério norte, estes animais continuam apresentando sazonalidade (Dukelow, 1985).

Callithrix jacchus: ciclo estral ou menstrual?

A espécie *C. jacchus* organiza-se em grupos de até 15 indivíduos (Aurichio, 1994). O peso corpóreo do adulto varia de 350 – 450g. A maturidade sexual é alcançada com 18 a 24 meses de idade. A gestação dura em média de 141 a 145 dias (Clarke, 1994). As fêmeas geram gêmeos, raramente um ou quatro filhotes (Coimbra-Filho *et al.*, 1976). O intervalo de gerações é de dois anos (Hearn, 1994). A espécie *C. jacchus* pode viver em cativeiro em torno de 10 a 15 anos, embora a performance reprodutiva das fêmeas deteriore-se a partir dos oito a dez anos de idade (Clarke, 1994).

Hearn e Lunn (1975) utilizando cinco fêmeas monitoradas durante 75 dias por meio da mensuração da concentração plasmática de LH, P_4 (progesterona) e E_2 com o uso do radioimunoensaio, relataram que a fêmea de *C. jacchus* apresentou um ciclo ovariano de $16,4 \pm 1,7$ dias. A fase folicular durou de quatro-seis dias, enquanto a fase luteal apresentou oito-dez dias. No entanto, Harding *et al.* (1982), usando 15 fêmeas descreveram um ciclo de 30 ± 6 dias levando em conta o perfil de progesterona ao longo do ciclo, com a fase folicular e periovulatória com $10,4 \pm 5$ dias (6-20 dias), e a luteal com $18,9 \pm 1,6$ dias (17-21 dias).

No início da fase folicular (dias 2-4), a concentração plasmática de E_2 foi de 200 pg/ml e de LH variou de 2-4 ng/ml. Por volta do dia 7 do ciclo, ocorreu o pico de estrógeno (1000 pg/ml) que foi seguido pelo de LH, quando este atingiu valores de 10 ng/ml. A concentração plasmática de P_4 alcançou valores em torno de 10 ng/ml no início da fase folicular, entre os dias 2-4. Ainda antes do pico de estrógeno, a P_4 começou a se elevar, atingindo valores de 10-20 ng/ml entre os dias 07-08 (Hearn e Lunn, 1975).

Logo após o pico de estrógeno, a progesterona sofre um aumento abrupto atingindo valores ao redor de 60 ng/ml, mantendo-se altos até o fim do ciclo, enquanto o estrógeno e o LH diminuem gradativamente durante a fase luteal, voltando a seus valores basais de 2 ng/ml. As fêmeas de *C. jacchus* ovulam de dois a quatro oócitos por ciclo (Hearn, 1983; Tardiff e Jaquish, 1997). O corpo lúteo de *C. jacchus* secreta estradiol na fase lútea, de forma que a concentração plasmática oscila entre 200-600 pg/ml. No fim do ciclo, o estrógeno está com a concentração de 200 pg/ml e a progesterona com 10-20 ng/ml (Hearn e Lunn, 1975; Harding *et al.*, 1982). A histerectomia em *C. jacchus* não interfere na formação e/ou regressão do corpo lúteo, sendo que este não se encontra sob controle do útero (Hearn *et al.*, 1978).

A fêmea de *C. jacchus* não apresenta um sangramento cíclico nem na fase periovulatória e nem no final da fase luteal. No entanto, a fêmea de *C. jacchus* aceita o macho em qualquer fase do ciclo, o que dificulta a classificação de seu ciclo ovariano (Hearn e Lunn, 1975).

O seu comportamento monogâmico é muito estudado devido ao fato de que a fêmea dominante inibe o ciclo ovariano nas fêmeas subordinadas (Abbott, 1984; Collilas *et al.*, 1984), além da intolerância da fêmea dominante em relação às outras fêmeas do grupo, que é demonstrada por meio de agressões que podem levar as fêmeas subordinadas à morte (Collilas *et al.*, 1984). Esta hierarquia que acarreta inibição do ciclo ovariano nas

fêmeas subordinadas pode ser demonstrada pela manutenção e diminuição das concentrações plasmáticas de estrógeno e LH (Abbott *et al.*, 1988) e P₄ (Abbott *et al.*, 1981; Abbott *et al.*, 1988), respectivamente.

Cebus apella: um modelo para o estudo do ciclo menstrual em primatas neotropicais

A espécie *Cebus apella* organiza-se em grupos de 8 a 16 indivíduos (Aurichio, 1995). O peso corpóreo do indivíduo adulto pode variar de 2,800 – 4,500kg. A fêmea de *C. apella* pode conceber pela primeira vez aos cinco anos de idade, quando apresenta 90% do peso de um indivíduo adulto, entre quatro-seis anos os animais ainda são considerados subadultos. A gestação pode levar em média 155 dias. O intervalo de gerações é de cinco-seis anos (Hearn, 1994; Fragaszy e Adams-Curtis, 1998). Podem se reproduzir até os 25 anos, e alcançar os 44 anos em cativeiro (Aurichio, 1995).

A fêmea de *C. apella* (macaco-prego) apresenta um ciclo menstrual que varia de 18 a 21 dias (Wright e Bush, 1977; Nagle *et al.*, 1979, 1980; Linn *et al.*, 1995; Fragaszy e Adams-Curtis, 1998; Domingues, 2005; Ortiz *et al.*, 2005). No início do ciclo menstrual (dias 1-4 do ciclo), a concentração plasmática de 17 β -estradiol (E₂) varia entre 70-100 pg/mL. A concentração de E₂ aumenta gradativamente conforme o folículo dominante cresce (Nagle *et al.*, 1980; Ortiz *et al.*, 2005), e ocorre um pico deste hormônio (503,3 \pm 30,6 pg/mL) entre os dias 7-10 do ciclo menstrual (Nagle *et al.*, 1979; Nagle *et al.*, 1980).

Com o uso da laparoscopia e com a mensuração da concentração plasmática de E₂, foi demonstrado que a ovulação ocorre entre os dias 8 – 11 do ciclo menstrual da fêmea de *C. apella*. O folículo pré-ovulatório pode alcançar 10-12 mm de diâmetro. A ovulação de um único folículo ocorre dentro de 10-24 h (18,1 \pm 0,9 h) após o pico de E₂. O folículo dominante pode ser reconhecido até quatro dias antes da ovulação utilizando-se a laparoscopia (Nagle *et al.*, 1980). Foi demonstrado que o folículo dominante pode ser identificado por meio da laparotomia a partir do dia 3 do ciclo e até seis dias antes da ovulação com o uso da ultra-sonografia 2D. O diâmetro e o volume médio do folículo pré-ovulatório mensurado nos exames ultra-sonográficos no dia da ovulação foi de 9,6 mm e 0,54 mL, respectivamente (Domingues, 2005). Também usando a US transabdominal 2-D, foi reportado que a ovulação acontece quando o diâmetro médio do folículo ovulatório alcança 8-9 mm (variação de 6,4 a 9,6 mm) (Ortiz *et al.*, 2004; Ortiz *et al.*, 2005; Domingues, 2005), sendo que o folículo dominante de 5,0 mm leva de um a cinco dias para atingir o seu diâmetro máximo, sendo este um parâmetro importante para se estimar o provável dia da ovulação em fêmeas de *C. apella* (Ortiz *et al.*, 2005).

A partir de 24h do pico de E₂, o seu declínio gradual tem início (Nagle *et al.*, 1980). A fase luteal subsequente possui 12-13 dias (Nagle *et al.*, 1979). Cinco dias após o seu pico, os valores plasmáticos de E₂ atingem a sua menor concentração (53, 6 \pm 5,1 pg/mL), não sofrendo nenhum aumento significativo durante toda a fase luteal. A concentração plasmática de P₄ é baixa durante toda a fase folicular (2,1-10 ng/mL) (Nagle *et al.*, 1979, 1980). Contudo 12 h após o pico de E₂, a P₄ começa a aumentar, dentro de 24 h atinge valores entre 12 - 15 ng/mL, e alcança o seu valor máximo de 66,9 \pm 5,6 ng/mL seis dias após o pico de E₂. Um dia antes da menstruação, ocorre um declínio abrupto da concentração de P₄ e E₂ plasmática, quando estes retornam para os seus valores basais (Nagle *et al.*, 1980).

Foi descrito que a fase menstrual dura de 1-8 dias (Wright e Bush, 1977) ou de 1-5 (Nagle *et al.*, 1979, 1980). Durante a menstruação, são observados os menores valores plasmáticos de E₂ e P₄ (Nagle *et al.*, 1979). É possível a visualização de um pequeno sangramento, caracterizando a fase menstrual (Wright e Bush, 1977; Nagle *et al.*, 1979, 1980; Linn *et al.*, 1995; Aurichio, 1997). Estudos citológicos, para determinar o tipo de ciclo da fêmea de *C. apella*, constataram que o sangramento, apesar de não ser pronunciado, ocorre logo após a fase luteal (Wright e Bush, 1977; Nagle *et al.*, 1979; Nagle *et al.*, 1980; Linn *et al.*, 1995), e não no período periovulatório, como acontece em fêmeas de ciclo estral. Segundo Strassmann (1996) e Hernández-Lôpes *et al.* (1998), o pequeno sangramento durante a fase menstrual nos platirrinos é decorrente da presença de arteríolas uterinas retas ao invés de espiraladas.

Ciclicidade do epitélio vaginal de fêmeas de primatas neotropicais

As fêmeas de *S. sciureus*, *C. jacchus* e *C. apella* apresentam mudanças cíclicas do epitélio vaginal que acompanham a ciclicidade ovariana (Hearn e Lunn 1975; Nagle *et al.*, 1979; Jarosz *et al.*, 1977; Bruggemann e Dukelow, 1980; Nagle *et al.*, 1980; Hearn, 1994). Essas mudanças no epitélio vaginal podem ser utilizadas para determinar o período em que a ovulação irá ocorrer. Conseqüentemente, a colpocitologia funciona como um método auxiliar de baixo custo que pode ser empregado no diagnóstico da fase periovulatória e menstrual, especificamente no caso de *Cebus apella*, sendo este um aspecto importante em programas de reprodução assistida (Domingues *et al.*, 2003b; Domingues, 2005).

Biotécnicas visando aumentar o potencial reprodutivo de fêmeas de *S. sciureus*, *C. jacchus* e *C. apella**Saimiri sciureus*

Um dos principais fatores limitantes das biotécnicas aplicadas à reprodução é a obtenção de oócitos viáveis. Dentro deste contexto, estudos com fêmeas de *Saimiri sciureus* envolvendo indução da ovulação (Gould *et al.*, 1973; Kuehl e Dukelow, 1975b; Kuehl e Dukelow, 1978) e estimulação hormonal ovariana (Bennett, 1967a; Dukelow, 1978; Dukelow, 1979; Dukelow *et al.*, 1981; Asakawa *et al.*, 1982; Yano e Gould, 1985; Pierce *et al.*, 1993) têm sido desenvolvidos.

A estimulação ovariana em *S. sciureus* é obtida diante de diversos protocolos de estimulação hormonal. De um modo geral, os trabalhos baseiam-se no pré-tratamento com progesterona, seguido pela associação de hormônio folículo estimulante e gonadotrofina coriônica humana (FSH-hCG) (Dukelow *et al.*, 1981; Asakawa *et al.*, 1982; Pierce *et al.*, 1993). Outros protocolos utilizam somente o hCG (Dukelow, 1979) ou hFSH (Yano e Gould, 1985). Pierce *et al.* (1993) testaram os seguintes protocolos: a) controle: FSH (1mg) por quatro dias consecutivos, e uma única dose de hCG (250 UI); b) citrato de clomifeno (2mg, 4mg e 6mg) associado com hCG (250 UI); c) FSH, prostaglandina E₁ (2 mg) e hCG (250 UI); d) somente prostaglandina E₁ (2 mg). O grupo controle apresentou os melhores resultados em relação à média de folículos antrais pequenos, médios e grandes por animal, que foram de 8,3; 3,6 e 1,1; respectivamente. A associação citrato de clomifeno (6mg) e hCG (250 UI) apresentou resultados similares aos do grupo-controle em relação à média de folículos antrais por animal. Independente do protocolo de estimulação ovariana utilizado, alguns aspectos da fisiologia de *S. sciureus* devem ser levados em consideração, como a curta duração do ciclo estral, a sazonalidade e a alta concentração plasmática de esteróides quando comparada com outras espécies.

Assim como vários protocolos de estimulação hormonal ovariana têm sido descritos em *Saimiri sciureus*, a aspiração folicular por laparoscopia (Dukelow *et al.*, 1971; Kuehl e Dukelow, 1979; Asakawa *et al.*, 1982; Asakawa e Dukelow, 1982; Dukelow, 1983; Yano e Gould, 1985; Pierce *et al.*, 1993) ou laparotomia (Kuehl e Dukelow, 1979) foram descritas, onde o número de oócitos obtidos por animal variou de dois a seis por animal (Kuehl e Dukelow, 1979; Asakawa *et al.*, 1982; Asakawa e Dukelow, 1982; Pierce *et al.*, 1993).

Com os oócitos obtidos de *S. sciureus*, após a estimulação hormonal e punção folicular, estudos visando à fertilização *in vitro* (FIV) têm sido realizados (Johnson *et al.*, 1972; Cline, 1972; Gould *et al.*, 1973; Kuehl e Dukelow, 1975a; Kuehl e Dukelow 1979; Asakawa *et al.*, 1982; Asakawa e Dukelow, 1982; Pierce *et al.*, 1993). Uma vez que a espécie *Saimiri sciureus* apresenta sazonalidade, a estimulação hormonal ovariana e a indução da ovulação compreendem etapas importantes para realizar a inseminação artificial (IA). Ressalta-se que *S. sciureus* foi a primeira espécie de primata neotropical na qual a IA foi empregada (Bennett, 1967b).

Callithrix jacchus

Em *C. jacchus*, foram descritos protocolos de sincronização de ciclo por meio da indução da luteólise utilizando a prostaglandina F_{2α} (0,8 µg), (Summers *et al.*, 1985; Einspanier *et al.*, 1994; Einspanier *et al.*, 1997) ou um análogo (cloprostenol - 0,5-0,8 µg) (Gilchrist *et al.*, 1997; Marshall *et al.*, 1998; Gilchrist *et al.*, 2001). Após a indução da luteólise, a estimulação hormonal ovariana em *C. jacchus* com o uso de FSH (1,5 UI) (Gilchrist *et al.*, 1997), hCG (75 UI) (Marshall *et al.*, 1998), ou ambos (Marshall *et al.*, 2003) vem sendo estudada no intuito de aumentar a quantidade de oócitos obtidos a partir de folículos antrais.

Após a administração de FSH (n=5) e solução salina (NaCl, 0,9 %) para o grupo-controle (n=5), posterior remoção dos ovários e dissecação de folículos antrais com diâmetros variando de 660 µm a 1400 µm, foram obtidos 823 oócitos (82,3 oócitos/animal) que foram submetidos à fertilização *in vitro* e ao cultivo de embriões *in vitro* (CIV) (Gilchrist *et al.*, 1997). Em outro estudo visando à ativação partenogenética de oócitos de *C. jacchus*, foi utilizado o hCG para estimulação hormonal ovariana, e os folículos antrais com diâmetro acima de 2mm foram puncionados por meio da laparotomia, sendo possível recuperar 2,4 oócitos por animal (Marshall *et al.*, 1998). Marshall *et al.* (2003) testou o uso de r-hFSH (1, 10, 25 ou 50 UI), duas vezes ao dia, por seis dias, e posterior administração de hCG, obtendo uma média de 1, 25; 0,5; 1 e 5 CCOs por animal, respectivamente, após a punção dos folículos antrais com diâmetro a partir de 2mm por meio da laparoscopia adaptada com um otoscópio. Nesse trabalho de Marshall *et al.* (2003), demonstraram não somente uma nova técnica de punção folicular sem a necessidade de remoção dos ovários, mas também a necessidade de altas doses de FSH (50 UI) para uma estimulação hormonal eficiente em *C. jacchus*.

A fertilização *in vitro* tem sido estudada após a estimulação hormonal ovariana em *C. jacchus* (Gilchrist *et al.*, 1997). Foi demonstrado que a capacidade de os oócitos retomarem a meiose e atingirem a metáfase II foi dependente do tamanho do folículo antral com diâmetros variando de 660 a 1400 µm e independente da associação do oócito com as células do *cumulus* e do tempo de maturação oocitária *in vitro* (Gilchrist *et al.*,

1997). No tocante à fertilização *in vitro*, houve o desenvolvimento de mórulas e blastocistos a partir de oócitos desnudos e intactos obtidos de fêmeas tratadas ou não com hFSH (Gilchrist *et al.*, 1997; Marshall *et al.*, 2003).

Outras técnicas importantes como a inseminação artificial (Morrel *et al.*, 1998), fertilização *in vitro* (Lopata *et al.*, 1988; Wilton *et al.*, 1993; Marshall *et al.*, 2003), criopreservação de embriões (Summers *et al.*, 1987), transferência de embriões (TE) obtidas por fertilização *in vitro* (Lopata *et al.*, 1988) e ativação partenogenética (Marshall *et al.*, 1998) foram descritas em *C. jacchus*. A transferência dos embriões obtidos por fertilização *in vitro* foi realizada, resultando no nascimento de dois indivíduos, após a transferência para três fêmeas receptoras (Lopata *et al.*, 1988). A TE após ativação partenogenética de oócitos por meio da estimulação elétrica (seis pulsos de 2kV/cm e 70 μ seg) ou exposição ao etanol (7%) foi conduzida, ocorrendo evidência bioquímica de prenhez, confirmada pela dosagem de progesterona plasmática, bem como pela implantação de embriões, constatada pela histologia do útero (Marshall *et al.*, 1998).

Cebus apella

O uso da espécie *C. apella* como modelo experimental no desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida visando aumentar o potencial reprodutivo de fêmeas ainda é muito restrito, apesar de alguns aspectos de sua fisiologia reprodutiva serem objeto de estudo de muitos pesquisadores (Wright e Bush, 1977; Nagle *et al.*, 1979; Nagle *et al.*, 1980; Nagle *et al.*, 1989; Nagle *et al.*, 1994; Linn *et al.*, 1995; Domingues *et al.*, 2003b, 2004; Ortiz *et al.*, 2004; Nagle, 2004; Ortiz *et al.*, 2005; Domingues, 2005; Nagle *et al.*, 2005).

Técnicas de reprodução assistida, tais como produção e transferência de embriões, transgênese e clonagem, atualmente não são uma realidade em *C. apella*. Vale ressaltar que essas técnicas possuem o seu impacto limitado devido à dificuldade de obtenção de oócitos que poderiam ser utilizados em protocolos de maturação *in vitro*, fertilização *in vitro*, transferência de embriões e clonagem (Domingues *et al.*, 2003; Domingues *et al.*, 2004; Domingues, 2005).

Recuperação e cultivo *in vitro* de oócitos oriundos de folículos antrais em primatas neotropicais sem estimulação hormonal ovariana

Estudos visando à maturação oocitária *in vitro* são imprescindíveis para a compreensão da biologia do oócito em primatas do Novo Mundo (Kuehl e Dukelow, 1979; Gilchrist *et al.*, 1995; Gilchrist *et al.*, 1997; Nayudu e Michelmann, 2003; Delimetreva *et al.*, 2006) e do Velho Mundo (Alak e Wolf, 1994; Schramm e Bavister 1994; Schramm *et al.* 1993; Schramm & Bavister, 1996; Jensen *et al.*, 2002; Bavister, 2004; Yin *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2001a; Zheng *et al.*, 2001b; Zheng *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2005a; Zheng *et al.*, 2005b; Zheng *et al.*, 2006; Zheng *et al.*, 2007), sendo este aspecto importante nos dois grupos para estudos FIV (Vanden Voort *et al.*, 2003), TE (Marshall *et al.*, 2003; Wolf *et al.*, 2004b), ativação partenogenética (Marshall *et al.*, 1998), clonagem por bipartição embrionária (Mitalipov *et al.*, 2002a) e transferência nuclear (Wolf *et al.*, 1999; Mitalipov *et al.*, 2002b; Chen *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007), bem como estudos com células tronco (Thomson *et al.*, 1996; Pau e Wolf, 2004; Wolf, 2006).

A obtenção de oócitos viáveis para o desenvolvimento de protocolos de maturação *in vitro*, sem as fêmeas terem sido submetidas à estimulação hormonal, pode ser realizada a partir da retirada dos ovários, dissecação e excisão dos folículos antrais para recuperação dos oócitos, bem como a punção de folículos antrais durante a fase folicular com o auxílio da laparotomia, laparoscopia ou ultra-sonografia. Assim, é necessário conhecer a distribuição dos folículos antrais durante a fase folicular para escolher o melhor dia para realizar a punção folicular, devendo ser levada em consideração a quantidade de folículos antrais com oócitos de boa qualidade (Domingues, 2005), ou seja, oócitos com citoplasma homogêneo e circundado por várias células do cumulus (Rodrigues e Farin, 2004).

A distribuição de folículos antrais durante a fase folicular foi descrita por Gilchrist *et al.* (2001) em *C. jacchus*. Foi realizada a dissecação de folículos antrais, durante quatro períodos da fase folicular, distribuída entre os dias 1-2, 3-4, 6-7, e 8-9 do ciclo, e um período da fase luteal, por volta do dia 22. Os autores dividiram os folículos antrais de *C. jacchus* em quatro categorias 0,6-1,0 mm; 1,0-1,5 mm; 1,5 -2,0 mm e > 2,0 mm. Foi possível obter em torno de 68 folículos antrais a partir de 55 pares de ovários, sendo que o percentual médio dos folículos pequenos, com diâmetro de 0,6 mm, variou de 100% na fase luteal a 77 % no fim da fase folicular (dias 8-9 do ciclo). Os folículos médios e grandes (> 1,0 mm) começam a surgir a partir dos dias 3-4 do ciclo, após um pique de FSH no dia 2. Nos dias 7-9 do ciclo, os folículos pré-ovulatórios (> 2000 μ m) surgem após um segundo pique de FSH, que ocorre no dia 6, com subsequente aumento dos níveis de estradiol.

Em relação às fêmeas de *Cebus apella*, Domingues *et al.* (2004) descreveram aspectos gerais da oogênese e foliculogênese nas fases pré-antral e antral por meio do estudo estereológico da população folicular ovariana. Em fêmeas adultas de *C. apella* ocorre uma média de 60 ± 19 folículos antrais pequenos por ovário, com diâmetro médio de $514 \pm 56 \mu$ m e variando de 264-983 μ m.

Utilizando a laparotomia, observa-se a quantidade de folículos antrais a partir de 2 mm de diâmetro presentes nos ovários direito e esquerdo nos dias 5, 7 e 9 do ciclo menstrual (Tab. 1). A punção folicular foi realizada por laparotomia, tendo sido obtido de dois a cinco complexos *cumulus-oophurus* por animal, sem estimulação hormonal, provenientes de folículos antrais pequenos, médios e grandes nos dias estudados, (Domingues, 2005). No entanto, ainda são necessários estudos visando à maturação oocitária *in vitro* em fêmeas adultas de *C. apella*.

Em *C. apella*, apesar de a laparoscopia ter sido empregada para descrever o crescimento folicular na fase antral (Nagle *et al.*, 1980) e para estudar a fisiologia do ligamento útero-ovariano (Nagle *et al.*, 1994), ainda não se tem descrito a recuperação de oócitos a partir de folículos antrais por meio da laparoscopia. No entanto, Nagle *et al.* (1980) relataram a dificuldade de manipular o ovário que continha o folículo pré-ovulatório próximo à ovulação devido à presença das fímbrias sob a superfície do folículo pré-ovulatório.

Tabela 1. Número de folículos antrais presentes nos ovários direito e esquerdo, nos dias 5, 7 e 9 do ciclo menstrual de fêmeas adultas de primatas da espécie *C. apella*.

Folículo antral	Dia do ciclo					
	05		07		09	
	OD	OE	OD	OE	OD	OE
Pequeno (< 2 mm)	4,4 ± 0,9 ^a	2,4 ± 0,7 ^a	2,8 ± 1,3 ^a	2,3 ± 0,8 ^a	2,0 ± 0,6 ^a	0,8 ± 0,4 ^a
Médio (2 a ≤ 4 mm)	0,6 ± 0,2 ^b	0,2 ± 0,2 ^b	0 ^c	0,2 ± 0,2 ^{bA}	0,4 ± 0,2 ^{bA}	0 ^b
Grande (≥ 4 mm)	0,2 ± 0,2 ^b	0,6 ± 0,3 ^b	0,5 ± 0,2 ^b	0,3 ± 0,2 ^b	0,4 ± 0,2 ^b	0,4 ± 0,2 ^{ab}
Total	5,2 ± 1,0	3,2 ± 0,7	3,3 ± 1,3	2,8 ± 1,1	2,8 ± 0,6	1,2 ± 0,4

^{a-b} Diferentes letras entre linhas dentro de uma mesma coluna indicam diferença significativa entre grupos (ANOVA, P < 0,05). OD, ovário direito; OE, ovário esquerdo.

Fonte: Domingues, 2005.

Os oócitos de folículos antrais provenientes de fêmeas não estimuladas podem ser importantes para estudos de maturação oocitária *in vitro*. Em *C. jacchus* foi estudada a competência de oócitos obtidos de fêmeas não estimuladas com hormônio em relação ao tamanho dos folículos e associação dos oócitos com as células do *cumulus* (Gilchrist *et al.*, 1995). Para tanto, ovários foram retirados das fêmeas no dia 7 do ciclo, e os oócitos desnudos e intactos provenientes de folículos com diâmetro de 260 – 400 µm, 420-640 µm, 660-1000 µm, e pré-ovulatórios (2000 µm) foram submetidos à maturação *in vitro* (MIV) em meio de Waymouth, suplementado com soro fetal bovino (10%), hFSH (1 µg/mL), hLH (10 µg/mL), 0,23 mM de piruvato de sódio por 48 horas, em concentração de CO₂ de 5% em ar a 37°C. Nestas condições, a competência do oócito em atingir a MII foi dependente do diâmetro do folículo, mas independente da relação do oócito com as células do *cumulus*, sendo que anormalidades dos oócitos adquiridos durante o processo de maturação nuclear ocorreram principalmente em oócitos desnudos provenientes de folículos com menores diâmetros.

Atualmente, a espécie *C. jacchus* vem sendo utilizada como modelo para estudar anormalidades durante a retomada da meiose a partir da prófase I até a metáfase II em oócitos cultivados *in vitro* obtidos a partir de folículos antrais com diâmetro de 700 µm a > 1400 µm, sem estimulação hormonal ovariana (Delimetreva *et al.*, 2006). O estudo caracterizou detalhadamente a distribuição normal de cromossomos em MII e a aneuploidia decorrente de anormalidades no fuso mitótico durante a maturação oocitária *in vitro*.

Punção guiada por ultra-sonografia em fêmeas de primatas neotropicais

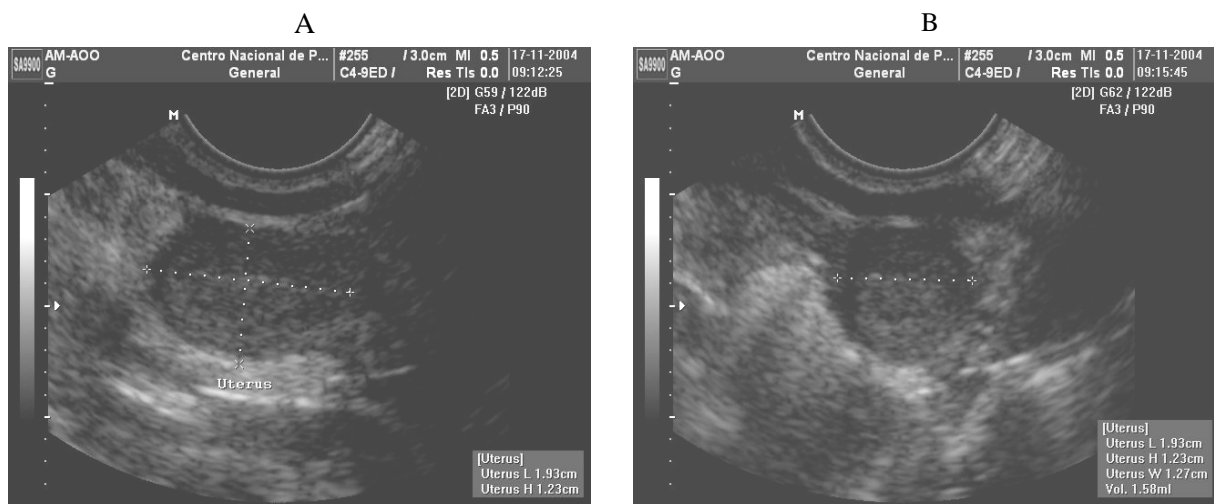
Apesar da eficiência da laparotomia e da laparoscopia para predizer o momento da ovulação e para realizar a punção de folículos antrais a partir de 2 mm de diâmetro, visando à obtenção de oócitos viáveis para a maturação *in vitro* e posterior fertilização *in vitro*, estas técnicas são difíceis de serem realizadas rotineiramente devido à dificuldade de obtenção de animais que possam ser utilizados nos experimentos e por constituírem-se em técnicas invasivas. Desta forma, a obtenção de imagens ultra-sonográficas do trato reprodutor oferece novas oportunidades no que diz respeito à punção oocitária ecoguiada (Nibart *et al.*, 1997; Hildebrant *et al.*, 2000; Domingues, 2005; Schuler *et al.*, 2007), por ser menos invasiva, e permitir maior quantidade de coletas de oócitos por fêmea.

A visualização ultra-sonográfica das estruturas reprodutivas pélvicas de fêmeas, ou seja, o útero e os ovários, foi inicialmente demonstrada por Kratochwil *et al.*, (1972). A técnica de punção oocitária ecoguiada foi primeiramente descrita por Pieterse *et al.* (1988). Faz-se a visualização dos folículos ovarianos com o auxílio da ultra-sonografia, puncionando-os com uma agulha acoplada a uma guia de biópsia, sendo que o conteúdo puncionado é direcionado para um tubo coletor.

A punção folicular ecoguiada é amplamente utilizada em espécies domésticas, e os resultados obtidos confirmam a possibilidade de repetidas coletas (Nibart *et al.*, 1995; Lacaze *et al.*, 1997; Guyader-Joly *et al.*,

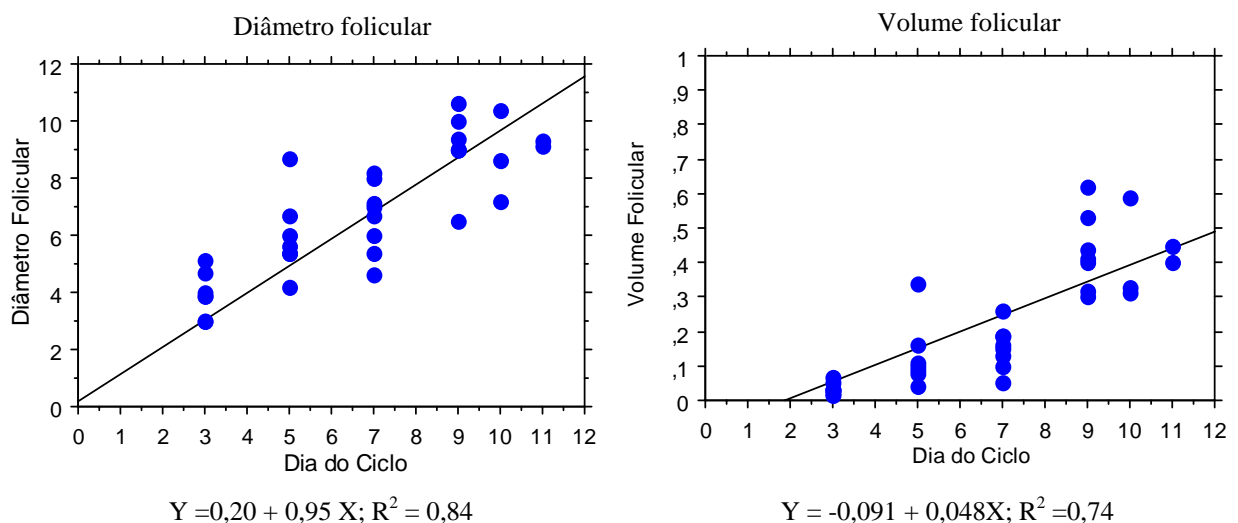
1997). Mas para que a punção oocitária ecoguiada seja uma realidade em primatas neotropicais, faz-se necessário primeiramente o estudo do crescimento folicular a partir da ultra-sonografia. Em primatas neotropicais, a ultra-sonografia tem sido estudada principalmente em *C. jacchus* (Oerke *et al.*, 1996; Oerke *et al.*, 2002). Nesta espécie, tem se mostrado uma importante ferramenta no diagnóstico da ovulação, com o intuito de posteriormente realizar a inseminação artificial (Morrel *et al.*, 1998). Na espécie *Saimiri sciureus* ainda não foi realizada a punção folicular ecoguiada, no entanto a técnica foi descrita em *Saimiri boliviensis boliviensis*, que apresenta biologia e fisiologia reprodutiva, bem como tamanho corpóreo similares à espécie *Saimiri sciureus*, o que demonstra a possibilidade de punção ecoguiada também nesta última (Schuler *et al.*, 2007).

Em *Cebus apella*, trabalhos utilizando a ultra-sonografia para estudar as dimensões do útero (Fig. 01) e ovários (Domingues, 2005), e para acompanhar o crescimento de folículos antrais vêm sendo realizados (Domingues, 2005; Ortiz *et al.*, 2005). Os dados obtidos por Domingues (2005) e Ortiz *et al.* (2005) no tocante à visualização do folículo dominante, ao tempo de crescimento e dimensões do folículo pré-ovulatório foram similares. A Fig. 2 mostra a regressão linear ($p=0.0001$) entre diâmetro e volume do folículo dominante (Fig. 3) em relação à fase de crescimento folicular do ciclo menstrual em fêmeas de *C. apella*. A partir do dia 3 do ciclo menstrual, o folículo dominante é facilmente visualizado (Domingues, 2005). No entanto, a punção ecoguiada em *Cebus apella* ainda não está estabelecida.



Fonte: Domingues, 2005.

Figura 1. Secções longitudinal (A) e transversal do útero (B) obtido durante exames ultrassonográficos 2D transabdominais (Modelo Sa-9900, Medison Co, Ltda, Daechi-Dong, Kangnam-ku, Cuseoul, Korea) de fêmeas adultas de *C. apella*.



Fonte: Domingues, 2005.

Figura 2. Regressão linear entre diâmetro e volume do folículo dominante mensurado durante exames ultrassonográficos 2D transabdominais (Modelo Sa-9900, Medison Co, Ltda, Daechi-Dong, Kangnam-ku, Cuseoul, Korea) em relação os diferentes dias do ciclo menstrual estudados em fêmeas de *C. apella*.



Fonte: Domingues, 2005.

Figura 3. Secção transversal de um Folículo dominante no dia 07 do ciclo menstrual de fêmeas adultas de *C. apella* obtido durante exame ultrassonográfico 2D transabdominal (Modelo Sa-9900, Medison Co, Ltda, Daechi-Dong, Kangnam-ku, Cuseoul, Korea).

Recuperação e o cultivo *in vitro* de oócitos oriundos de folículos pré-antrais em primatas neotropicais

Os folículos ovarianos pré-antrais compreendem cerca de 90% da população folicular, o que representa um *pool* de reserva de folículos ovarianos. Quando um folículo sai do *pool* de reserva, ou seja, é ativado para crescer, ele pode seguir dois destinos: o desenvolvimento até o estágio pré-ovulatório ou a morte por atresia. A atresia é um processo fisiológico que leva à morte de 99,9% dos folículos presentes nos ovários (Erickson, 1986; Asa, 1996; Fortune, 1994; Figueiredo, 1995; Moniaux *et al.* 1997; Figueiredo *et al.*, 1997; Figueiredo *et al.*, 2002).

No intuito de evitar a perda natural dos folículos ovarianos durante o processo de atresia, procedimentos visando à recuperação ou ao isolamento de folículos pré-antrais de mulheres por meio de métodos enzimáticos (Roy e Treacy, 1993) e mecânicos em *C. apella* (Domingues, 2000; Domingues *et al.*, 2003) têm sido desenvolvidos. Assim, pequenos folículos ovarianos pré-antrais recuperados dos ovários dos animais *post-mortem* ou convalescentes podem ser uma importante fonte de oócitos, desde que sejam desenvolvidos protocolos de cultivo *in vitro* destes folículos pré-antrais, existindo ainda a possibilidade de criopreservação destes para formação de banco de germoplasma animal.

No entanto, vale ressaltar que o cultivo de folículos pré-antrais somente está bem estabelecido em camundongos. Eppig e Schroeder (1989) obtiveram o nascimento de camundongos a partir de oócitos obtidos de folículos pré-antrais cultivados *in vitro*. Posteriormente, Carrol *et al.* (1990) obtiveram produtos viáveis, após isolamento, criopreservação e cultivo de folículos pré-antrais de camundongo. Para que tais feitos sejam possíveis em primatas neotropicais, são necessários estudos sobre a oogênese e foliculogênese nas fases pré-antral e antral.

Em *Cebus apella*, foi descrito o isolamento de folículos pré-antrais (FOPA) utilizando um *tissue chopper*. A partir dessa técnica, foi possível obter 500.000 folículos pré-antrais com diâmetro variando de 11,6 μ m a 27,8 μ m. Estes folículos pré-antrais, se forem devidamente cultivados *in vitro*, podem disponibilizar uma grande quantidade de oócitos para estudos de maturação *in vitro* e fertilização *in vitro* (Domingues *et al.*, 2003), evitando-se o uso de técnicas invasivas como a laparotomia e laparoscopia.

Nayudu *et al.* (2003) relatam pela primeira vez protocolos de cultivo de folículos pré-antrais em primatas neotropicais, a partir de fragmentos de córtex ovariano e folículos isolados de *C. jacchus*. Os folículos isolados (85-170 μ m) foram cultivados por oito dias em meio α MEM, suplementado com 3,5 μ g/mL de insulina, 1 μ M de glutamax, 10 μ g/mL de transferrina, 100 μ g/mL de L-ácido ascórbico, e 7,5 % de soro de *C. jacchus*, sendo que em um grupo de folículos isolados, foram adicionados FSH e LH ao meio de cultivo. Fragmentos de córtex ovariano contendo até quatro folículos de 85 μ m foram cultivados por dois-três dias e depois excisados e cultivados separadamente por mais 12 dias. Após o cultivo dos folículos pré-antrais, os folículos que formaram

antro *in vitro* foram puncionados, e os oócitos recuperados foram submetidos à maturação *in vitro*. Nos oócitos obtidos após o cultivo dos folículos pré-antrais isolados, ocorreu o rompimento da vesícula germinativa e extrusão do primeiro corpúsculo polar.

Como podemos constatar pela literatura citada, no tocante ao desenvolvimento da manipulação de oócitos inclusos em folículos pré-antrais, ainda há muito a ser realizado em primatas neotropicais. No entanto, os resultados obtidos por Nayudu *et al.* (2003) demonstram a possibilidade do emprego da manipulação de oócitos inclusos em folículos pré-antrais na obtenção de oócitos viáveis para o desenvolvimento de biotécnicas de reprodução em primatas neotropicais de importância na pesquisa biomédica e/ou ameaçados de extinção.

Considerações finais

Para que uma biotécnica aplicada à reprodução possa ser utilizada em uma determinada espécie, não somente é necessário ter conhecimento sobre o seu comportamento social e reprodutivo em cativeiro ou em seu *habitat* (Serbena e Monteiro-Filho, 2002), mas também conhecer os mecanismos fisiológicos envolvidos na reprodução (Domingues, 2000; Domingues e Caldas-Bussiere, 2002; Domingues *et al.*, 2003, Domingues *et al.*, 2004; Domingues, 2005; Domingues *et al.*, 2005).

Atualmente, o manejo reprodutivo em cativeiro de primatas neotropicais importantes para a pesquisa biomédica deve abranger não só o conhecimento de seus respectivos caracteres reprodutivos básicos, como o sexo, o tipo de ciclo da fêmea, a sincronização e a estimulação hormonal ovariana, e o uso de métodos contraceptivos, mas também a produção de estudos que auxiliam na aplicação de biotécnicas da reprodução como inseminação artificial, obtenção de oócitos a partir de folículos pré-antrais e antrais, maturação oocitária e fertilização *in vitro*, transferência de embriões, clonagem, transgênese e produção de células tronco.

Referências

- Abee CR.** Alternative New World Primate Models for Non-AIDS Research. *ILAR J*, v.44, p.231-235, 2003.
- Abbot DH.** Marmoset, infertility, dominance, sex aggression, LH, cortisol, prolactin, testosterone, *Callithrix jacchus jacchus*. *Am J Primat*, v.6, p.169-186, 1984.
- Abbott DH, Foong SC, Barnett DK, Dumesic DA.** Nonhuman Primates Contribute Unique Understanding to Anovulatory Infertility in Women. *ILAR J*, v. 45, n 2, p. 116-131, 2004.
- Abbot DH, Hearn JP.** Physical, hormonal and behavioral aspects of sexual development in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. *J Reprod Fertil*, v.53, p.155-166, 1978.
- Abbot DH, Hodges JK, George LM.** Social status controls LH secretion and ovulation in female marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*). *J Endocrinol*, v.117, p.329-339, 1988.
- Abbot DH, McNeilly AS, Lunn SF, Hulme MJ, Burden FJ.** Inhibition of ovarian function in subordinate female marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*). *J Reprod Fertil*, v.63, p.335-345, 1981.
- Alak BM, Wolf DP.** Rhesus monkey oocyte maturation and fertilization in vitro: roles of the menstrual cycle phase and of exogenous gonadotropins. *Biol Reprod*, v.51, p.879-887, 1994.
- Appt SE.** Usefulness of the monkey model to investigate the role of soy in postmenopausal women's health. *ILAR J*, v.45, p.200-211, 2004.
- Archer DF.** Role of the Nonhuman Primate for Research Related to Women's Health. *ILAR J*, v.45, p.212-219, 2004.
- Asa CS.** Reproductive physiology. In: Kleiman DG, Allen ME, Thompson KV, Lumpkin S, Harris H (Ed.). *Wild mammals in captivity*. Chicago: The University of Chicago Press, 1996. p.390-417.
- Asakawa T, Chan PJ, Dukelow WR.** Time Sequence of In Vitro Maturation and Chromosomal Normality in Metaphase I and Metaphase II of the Squirrel Monkey (*Saimiri sciureus*) Oocyte. *Biol Reprod*, v.27, p.118-124, 1982.
- Asakawa T, Dukelow WR.** Chromosomal analyses after in vitro fertilization of squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) oocytes. *Biol Reprod*, v.26, p.579-583, 1982.
- Aurichio P.** *Primatas do Brasil*. São Paulo: Terra Brasilis, 1995. 168p.
- Baldwin JD.** The behavior of squirrel monkeys (*Saimiri*) in the Natural Environments. In: Rosenblum LA, Coe CL (Ed.). *Handbook of squirrel monkey research*. New York: Plenum Press, 1985. p.35-50.
- Baldwin JD, Baldwin JI.** Squirrel monkey (*Saimiri*) in natural habitats in Panama, Colombia, Brazil and Peru. *Primates*, v.12, p.45-61, 1971.
- Bavister BD.** ARTs in action in nonhuman primates: symposium summary: advances and remaining issues. *Reprod Biol Endocrinol*, v.2, n.43, p.1-7, 2004.
- Bennett JP.** Artificial insemination of the squirrel monkey. *J Endocrinol*, v.37, p.473-474, 1967a.
- Bennett JP.** The induction of ovulation in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) with pregnant mares serum (PMS) and human chorionic gonadotrophin (HCG). *J Reprod Fertil*, v.13, p.357-359, 1967b.

- Blaffer-Hrdy S, Whitten PL.** Patterning of sexual activity. In: Smuts BB, Cheney DL, Seyfarth RM, Wrangham RW, Struhsaker TT (Ed.). *Primate societies*. Chicago, IL: University of Chicago Press, 1987. p.370-384.
- Bruggemann S, Dukelow WR.** Characterization of the menstrual cycle in nonhuman primates III. Time mating in *macaca arctoides*. *J Med Primatol*, v.9, p.213-221, 1980.
- Carrol J, Whittingham DG, Wood MJ, Telfer E, Gosden RG.** Extraovarian production of mature viable mouse oocytes from frozen primary follicles. *J Reprod Fertil*, v.90, p.321-327, 1990.
- Chen NQ, Liow SL, Abdullah RB, Wan Khadijah WE, Yip WY, Tan LG, Tong GQ, Ng SC.** Developmental competence of transported *in vitro* matured macaque oocytes. *Reprod BioMed Online*, v.12, p.50-59, 2006.
- Chen N, Liow S-L, Bin Abdullah R, Khadijah Wan Embong W, Yip W-Y, Tan L-G, Tong G-Q, Ng S-C.** Somatic cell nuclear transfer using transported *in vitro*-matured oocytes in cynomolgus monkey. *Zygote*, v.15, p.25-33, 2007.
- Clarke JM.** The common marmoset, *Callithrix jacchus*. *ANZCCART News*, v.7, p.1-8, 1994.
- Cline EM.** *Investigations on in vitro fertilization for three mammalian species: golden hamster, squirrel monkey and New Zealand White rabbit*. 1972. Thesis (MSc) - University of Georgia, Department of Biochemistry, Athens, Georgia, 1972.
- Cline JM.** Neoplasms of the reproductive tract: the role of hormone exposure. *ILAR J*, v.45, p.179-188, 2004.
- Collilas OJ, Galliani CA, Ruiz JC.** *Saimiri sciureus*: reproducción y maduración. In: Congresso Brasileiro de Primatologia, 1, 1983, Belo Horizonte. *Anais ...* Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Primatologia, 1984. p.285-299.
- Cruz, CM.** Manejo e conservação de primatas na natureza. In: Congresso Brasileiro de Primatologias, 1998, João Pessoa. *Anais...* João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 1998.
- Delimitreva S, Zhivkova R, Isachenko E, Umland N, Nayudu PL.** Meiotic abnormalities in *in vitro*-matured marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) oocytes: development of a non-human primate model to investigate causal factors. *Hum Reprod*, v.21, p.240-247, 2006.
- Demands for Rhesus Monkey in Biomedical Research: a workshop report.** *ILAR J*, v.44, p.222-238, 2003.
- Domingues SFS.** *Estudo da oogênese e foliculogênese in vivo na fase antral em primatas neotropicais da espécie Cebus apella: aspectos bioquímicos e estruturais*. 2005. 114f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, 2005.
- Domingues SFS.** *Isolamento mecânico e estudo histológico de folículos ovarianos em primatas não-humanos da espécie Cebus apella (macaco-prego)*. 2000. 56f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2000.
- Domingues SFS, Caldas-Bussiére MC.** Biologia reprodutiva da espécie *Cebus apella* (Macaco-prego). *Rev Bras Reprod Anim Supl*, n.5, p.55-57, 2002.
- Domingues SFS, Caldas-Bussiére MC, Martins ND, Mattos MRF, Simões-Mattos L.** A fêmea de Macaco-prego (*Cebus apella*, Linnaeus, 1758). *Rev Ciênc Agrar Supl*, n.43, p.1-9 2005.
- Domingues SFS, Diniz LV, Furtado SHC, Ohashi OM, Rondina D, Silva LDM.** Histological study of capuchin monkey (*Cebus apella*) ovarian follicles. *Acta Amaz*, v.34, p.495-501, 2004.
- Domingues SFS, Ferreira HS, Muniz JAPC, Lima AKF, Ohashi OM, Figueiredo JR, Silva LDM.** Mechanical isolation of capuchin monkey (*Cebus apella*) preantral ovarian follicles. *Arq Brás Méd Vet Zootec*, v.55, p.301-308, 2003.
- Dukelow WR.** Human chorionic gonadotropin: induction of ovulation in the squirrel monkey. *Science*, v.206, p.234-235, 1979.
- Dukelow WR.** Reproduction in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Rec Adv Primatol*, v.2, p.195-200, 1978.
- Dukelow WR.** Reproductive cyclicity and breeding in the squirrel monkey. In: Rosenblum LA, Coe CL (Ed.). *Handbook of squirrel monkey research*. New York: Plenum Press, 1985. p.169-190.
- Dukelow WR.** Reproductive physiology in primates. *Lab Prim Newsl*, v.2, p.1-10, 1970.
- Dukelow WR.** The squirrel monkey. In: Hearn JP. (Ed.). *Reproduction in New World primates: new models in medical science*. Hingham, MA: MTP Press, 1983. p.151-79.
- Dukelow WR, Jarosz SJ, Jewett DA, Harrison RM.** Laparoscopic examination of the ovaries in goats and primates. *Lab Anim Sci*, v.21, p.594-597, 1971.
- Dukelow WR, Theodoran CG, Howe-Baughman J, Magee WT.** Ovulatory patterns in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Anim Reprod Sci*, v.4, p.55-63, 1981.
- Dumond FV.** The squirrel monkey in a seminatural environment. In: Rosenblum LA, Cooper RW (Ed.). *The Squirrel monkey*. New York: Academic Press, 1968. p.87-145.
- Einspanier A, Ivell R, Rune G, Hodges JK.** Oxytocin gene expression in the ovary of the common marmoset monkey. *Biol Reprod*, v.50, p.1216-1222, 1994.
- Einspanier A, Zarreh-Hoshyari-Khah MR, Balvers M, Kerr L, Fuhrmann K, Ivell R.** Local relaxin biosynthesis in the ovary and uterus through the oestrous cycle and early pregnancy in the female marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Hum Reprod*, v.12, p.1325-1337, 1997.

- Eppig JJE, Schroeder AC.** Capacity of mouse oocytes from preantral follicles to undergo embryogenesis and development to live young after growth, maturation, and fertilization in vitro. *Biol Reprod*, v.41, p.268-276, 1989.
- Erickson GF.** An analysis of follicle development and ovum maturation. *Semin Reprod Endocrinol*, p.233-254, 1986.
- Figueiredo JR.** *Isolement, caracterisation et culture des follicules pré-antraux chez les bovins*. 1995. 113f. Thèse - Université de Liège, Liège, Belgique, 1995.
- Figueiredo JR, Gonçalves PBD, Rodrigues APR, Bem AR.** *In vitro* development of isolated bovine preantral follicles. *Arq Fac Vet UFRGS*, v.25, p.93-106, 1997.
- Figueiredo JR, Rodrigues APR, Amorim CA.** Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos – MOIFPA. In: Gonsalves PBD, Figueiredo JRF, Freitas VJF. *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, 2002. p.227-260.
- Fleagle JG.** *Primate adaptation and evolution*. 2. ed. San Diego, CA: Academic Press, 1999.
- Fortune JE.** Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol Reprod*, v.50, p.225-232, 1994.
- Fragaszy DM, Adams-Curtis L.** Growth and reproduction in captive tufted capucins (*Cebus apella*). *Am J Primatol*, v.44, p.197-203, 1998.
- Ghost M, Hutz RJ, Dukelow WR.** Serum estradiol 17 β , progesterone and relative LH levels in *Saimiri sciureus*: cyclic variations and the effect of laparoscopy and follicular aspiration. *J Med Primatol*, v.11, p.312-318, 1982.
- Gilchrist RB, Nayudu PL, Hodges JK.** Maturation, fertilization, and development of marmoset monkey oocytes in vitro. *Biol Reprod*, v.56, p.238-246, 1997.
- Gilchrist RB, Nayudu PL, Nowshari MA, Hodges JK.** Meiotic competence of marmoset monkey oocytes is related to follicle size and oocyte-somatic cell associations. *Biol Reprod*, v.52, p.1234-1243, 1995.
- Gilchrist RB, Wicherek M, Heistermann M, Nayudu PL, Hodges JK.** Changes in follicle-stimulating hormone and follicle populations during the ovarian cycle of the common marmoset. *Biol Reprod*, v.64, p.127-135, 2001.
- Gould KG, Cline EM, Williams WL.** Observations on the induction of ovulation and fertilization *in vitro* in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Fertil Steril*, v.24, p.260-268, 1973.
- Guimarães MCBV.** *Contribuição para o estudo da colheita e avaliação do sêmen do macaco-prego Cebus apella (Erxleben, 1777)*. 1994. 39f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, SP, 1994.
- Guyader-Joly C, Ponchon S, Thuard JM, Durand M, Nibart M, Marquant Le Guienne B, Humblot P.** Effects of superovulation on repeated ultrasound guided oocyte collection and in vitro embryo production in pregnant heifers. *Theriogenology*, v.47, p.157, 1997.
- Hafez ESE.** Anatomia da reprodução feminina. In: Hafez ESSE (Ed.). *Reprodução animal*. 6.ed. São Paulo: Manole, 1995. p.21-55.
- Harding RD, Holmes MJ, Lunn SF, Henderson C, Aitken RJ.** Plasma progesterone levels throughout the ovarian cycle of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *J Med Primatol*, v.11, p.43-51, 1982.
- Hearn, JP.** *Reproduction in New World primates: new models in medical science*. Hingham, MA: MTP Press, 1983.
- Hearn JP, Abbott DH, Chambers PC, Hodges JK, Lunn SF.** Use of the common marmoset, *Callithrix jacchus*, in reproductive research. *Primates Med*, v.10, p.40-49, 1978.
- Hearn J.** New world primates for research in human reproductive health. *Am J Primat*, v.34, p.11-17, 1994.
- Hearn JP, Lunn, SF.** The reproductive biology of the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. *Lab Anim Handb*, v.6, p.191-202, 1975.
- Hernández-López L, Mayagoitia L, Esquivel-Lacroix C, Rojas-Maya S, Mondragon-Ceballos R.** The menstrual cycle of the spider monkey (*Ateles geoffroyi*). *Am J Primat*, v.44, p.183-195, 1998.
- HersHKovitz P.** The species of sakis, genus *Pithecia* (Cebidae, Primates), with notes on sexual dichromatism. *Folia Primatol*, v.31, p.1-22. 1979.
- Hildebrandt TB, Hermes R, Jewgenow K, Góritz F.** Ultrasonography as an important tool for the development and application of reproductive technologies in non-domestic species. *Theriogenology*, v.53, p.73-84, 2000.
- Hodges JK.** The ovarian cycle and control of ovulation. *J Zool Lond*, v.213, p.383-393, 1987.
- Jarosz SJ, Kuehl TJ, Dukelow WR.** Vaginal cytology, induced ovulation and gestation in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Biol Reprod*, v.16, p.97-103, 1977.
- Johnson MP, Harrison RM, Dukelow WR.** Studies on oviductal fluid and in vitro fertilization in rabbits and nonhuman primates. *Fed Proc*, v.31, p.369, 1972.
- Jensen JT, Schwinof KM, Zelinski-Wooten MB, Conti M, DePaolo LV, Stouffer RL.** Phosphodiesterase 3 inhibitors selectively block the spontaneous resumption of meiosis by macaque oocytes in vitro. *Hum Reprod*, v.17, p.2079-2084. 2002.
- Jerome CP.** Hormonal therapies and osteoporosis. *ILAR J*, v.45, p.170-178, 2004.
- Kaplan JR.** Modeling women's health with nonhuman primates and other animals. *ILAR J*, v.45, p.83-88, 2004.



- Kaplan JR, Manuck SB.** Ovarian dysfunction, stress, and disease: a primate continuum. *ILAR J*, v.45, p.89-115, 2004.
- Kratochwil A, Urban GU, Friedrich F.** Ultrasonic tomography of the ovaries. *Ann Chir Gynecol Fertil*; v.61, p.211-214, 1972.
- Kuehl TJ, Dukelow WR.** Fertilization *in vitro* of *Saimiri sciureus* follicular oocytes. *J Med Primatol*, v.4, p.209-216, 1975a.
- Kuehl TJ, Dukelow WR.** Ovulation induction during the anovulatory season in *Saimiri sciureus*. *J Med Primatol*, v.4, p.23-31, 1975b.
- Kuehl TJ, Dukelow WR.** The effect of a synthetic polypeptide threonyl-prolyl-arginyl-lysine, on ovulation in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) and hamster. *J Reprod Fertil*, v.52, p.25-28, 1978.
- Kuehl TJ, Dukelow WR.** Maturation and *in vitro* fertilization of follicular oocytes of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Biol Reprod*, v.21, p.545-556, 1979.
- Lacaze S, Marquant Le Guienne B, Delalleau N, Richef L, Maunas S, Nibart M, Humblot P.** Centralized *in vitro* embryo production after ultrasound guided bovine oocyte collection: effects of parity and superovulation treatment. *Theriogenology*, v.47, p.161, 1997. (Resumo).
- Linn GS, Mase D, Lafrancois D, O'Keefe RT, Lifshitz K.** Social and menstrual cycle phase influence on the behavior of group – housed *Cebus apella*. *Am J Primatol*, v.35, p.41-57, 1995.
- Lopata A, Summers PM, Hearn JP.** Births following the transfers of cultured embryos obtained by *in vitro* and *in vivo* fertilization in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Fertil Steril*, v.50, p.5003-5009, 1988.
- Marshall VS, Browne MA, Knowles L.** Ovarian stimulation of marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*) using recombinant human follicle stimulating hormone. *J Med Primatol*, v.32, p.57-66, 2003.
- Marshall VS; Wilton LJ, Moore HDM.** Parthenogenetic activation of marmoset (*Callithrix jacchus*) oocytes and the development of marmoset parthenogenones *in vitro* and *in vivo*. *Biol Reprod*, v.59, p.1491-1497, 1998.
- Mitalipov SM, Yeoman RR, Kuo H-C, Wolf P.** Monozygotic twinning in rhesus monkeys by manipulation of *in vitro*-derived embryos. *Biol Reprod*, v.66, p.1449-1455, 2002a.
- Mitalipov SM, Yeoman RR, Nusser KD, Wolf DP.** Rhesus monkey embryos produced by nuclear transfer from embryonic blastomeres or somatic cells. *Biol Reprod*, v.66, p.1367-73, 2002b.
- Monniaux D, Huet C, Besnard N, Clément F, Bosc M, Pisselet C, Monget P, Mariana JC.** Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J Reprod Fertil Suppl*, n.51, p.3-23, 1997.
- Morrel JM, Nubbemeyer R, Heistermann M, Rosenbusch J, Küderling I, Hot W, Hodges JK.** Artificial insemination in *Callithrix jacchus* using fresh or cryopreserved sperm. *Anim Reprod Sci*, v.52, p.165-174, 1998.
- Murphy SJ, McCullough LD, Smith JM.** Stroke in the female: role of biological sex and estrogen. *ILAR J*, v.45, p.147-159, 2004.
- Nagle CA.** Mechanism that control female reproductive function in Capuchin monkey (*Cebus apella*). 15th International Congress on Animal Reproduction, 15, 2004, Porto Seguro, BA. *Abstracts ...* Porto Seguro: ícar, 2004. p.90-91.
- Nagle CA, Denari JH, Quiroga S, Riarte A, Merlo A, Germino NI, Gómez-Argaña F, Rosner JM.** The plasma pattern of ovarian steroids during the menstrual cycle in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Biol Reprod*, v.21, p.979-983, 1979.
- Nagle CA, Digiano L, Paul N, Terlato M, Quiroga S, Mendizabal A F.** Interovarian communication for the control of follicular growth and corpus luteum function in the Cebus monkey. *Am J Primatol*, v.34, p.19-28, 1994.
- Nagle CA, Mendizábal AF, Lahoz MM, Porta MM, Torres MI.** Transfer pathways between the ovaries and the uterus in the Cebus monkeys (*Cebus apella*). *Gen Comp Endocrinol*, v.144, pp.248-256, 2005.
- Nagle CA, Paul N, Mazzoni I, Quiroga S, Torres M, Mendizabal AF, Farinati Z.** Interovarian relationship in the secretion of progesterone during the luteal phase of the capuchin monkey (*cebus apella*). *J Reprod Fertil*, v.85, p.389-396, 1989.
- Nagle CA, Riarte A, Quiroga S, Azoredo RM, Carril M, Denari, JH, Rosner JM.** Temporal relationship between follicular development, ovulation, and ovarian hormonal profile in the capuchin monkey (*Cebus apella*). *Biol Reprod*, v.23, p.629-635, 1980.
- Nayudu PL, Wu J, Michelmann HW.** *In vitro* development of marmoset monkeys oocytes by pre-antral follicle culture. *Reprod Dom Anim*, v.38, p.90-96, 2003.
- Nibart M, Marquant Le Guienne B, Humblot P, Guerin B.** The application of new reproductive technologies in France. *Arq Fac Vet UFRGS*, v.25, p.21-35, 1997.
- Nibart M, Silva PM, Thuard JM, Durand M, Guyader-Joly C, Ponchon S, Marquant Le Guienne B, Humblot P.** Embryo production by OPU and IVF in dairy cattle. *Renc Rech Rumin*, v.2, p.399-402, 1995.
- Oerke AK, Einspanier A, Hodges JK.** Noninvasive Monitoring of Follicle Development, Ovulation, and Corpus Luteum Formation in the Marmoset Monkey (*Callithrix jacchus*) by ultrasonography. *Am J Primatol*, v.39, p.99-113, 1996.
- Oerke AK, Heistermann M, Küderling I, Martin RD, Hodges JK.** Monitoring reproduction in Callitrichidae by means of ultrasonography. *Evol Anthropol*, v.1, p.183-185, 2002.

- Ortiz ME, Ortiz RE, Fuentes MA, Parraguez VH, Croxatto HB.** Post-coital administration of levonorgestrel does not interfere with post-fertilization events in the new world monkey *Cebus apella*. *Hum Reprod*, v.19, p.1352-1356, 2004.
- Ortiz RE, Ortiz AC, Gajardo G, Zepeda AJ, Parraguez VH, Ortiz ME, Croxatto HB.** Cytologic, hormonal, and ultrasonographic correlates of the menstrual cycle of the new world monkey *Cebus apella*. *Am J Primatol*, v.66, p.233-244, 2005.
- Pau K-YF, Wolf DP.** Derivation and characterization of monkey embryonic stem cells. *Reprod Biol Endocrinol*, v.2, n.41, p.1-11, 2004.
- Pierce DL, Jonson MP, Kaneene JB.** *In vitro* fertilization analysis of squirrel monkey oocytes produced by various follicular induction regimens and the incidence of triploidy. *Am J Primatol*, v.16, p.321-330, 1993.
- Pieterse MC, Kappen KA, Kruip TAM, Taverne MAM.** Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, v.30, p.751-762, 1988.
- Rodríguez KF, Farin CE.** Developmental capacity of bovine cumulus oocyte complexes after transcriptional inhibition of germinal vesicle breakdown. *Theriogenology*, v.61, p.1499-1511, 2004.
- Roy SK, Treacy BJ.** Isolation and long-term culture of human preantral follicles. *Fertil Steril*, v.59, p.783-790, 1993.
- Schramm RD, Bavister BD.** Development of in-vitro-fertilized primate embryos into blastocysts in a chemically defined, protein-free culture medium. *Hum Reprod*, v.11, p.1690-1697, 1996.
- Schramm RD, Bavister BD.** Follicle-Stimulating Hormone Priming of Rhesus Monkeys Enhances Meiotic and Developmental Competence of Oocytes Matured In Vitro. *Biol Reprod*, v.51, p.904-912, 1994.
- Schramm RD, Tennier MT, Boatman DE, Bavister BD.** Chromatin Configurations and Meiotic Competence of Oocytes Are Related to Follicular Diameter in Nonstimulated Rhesus Monkeys. *Biol Reprod*, v.43, p.349-356, 1993.
- Schuler AM, Westberry JM, Parks VL, Kuehl TJ, Abee CR.** Ultrasound-guided follicular aspiration in squirrel monkeys. *J Med Primatol*, v.36, p.113-117, 2007.
- Serbena AL, Monteiro-Filho ELA.** A behavioral description of captive young capuchin monkey (*Cebus apella*). *Rev Etol*, v.2, p.109-116, 2002.
- Story L, Kennedy S.** Animal studies in endometriosis: a review. *ILAR J*, v.45, p.132-138, 2004.
- Stabenfeldt GH.** Ciclos reprodutivos. In: Cunningham JG (Ed.). *Tratado de fisiologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p.312-318.
- Strassmann BI.** The evolution of endometrial cycles and menstruation. *Quart Rev Biol*, v.71, p.181-220, 1996.
- Summers PM, Shephard AM, Taylor CT, Hearn JP.** The effects of cryopreservation and transfer on embryonic development in the common marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. *J Reprod Fertil*, v.79, p.241-250, 1987.
- Summers PM, Wennick CJ, Hodges JK.** Cloprostenol-induced luteolysis in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *J Reprod Fertil*, v.73, p.133-138, 1985.
- Tardiff SD e Jaquish CE.** Number of Ovulations in the Marmoset Monkey (*Callithrix jacchus*): Relation to Body Weight, Age and Repeatability. *Am J Primatol*, v.42, p.323-329, 1997.
- Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Hearn JP.** Pluripotent Cell Lines Derived from Common Marmoset (*Callithrix jacchus*) Blastocysts. *Biol Reprod*, v.55, p.254-259, 1996.
- Van de Voort CA, Leibo SP, Tarantal AF.** Improved collection and developmental competence of immature macaque oocytes. *Theriogenology*, v.59, p.699-707, 2003.
- Vaughan TA.** Order primates. In: Vaughan TA (Ed.). *Mammalogy*. Flagstaff: Northern Arizona University, 1985. p.138-143.
- Williams JK, Suparto I.** Hormone Replacement Therapy and Cardiovascular Disease: Lessons from a Monkey Model of Postmenopausal Women. *ILAR J*, v.45, n.2, p.139-146, 2004.
- Wilton LJ, Marshall VS, Piercy EC, Moore HD.** In vitro fertilization and embryo development in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *J Reprod Fertil*, v.97, p.481-486, 1993.
- Wolf DP.** ARTs in action in non-human primates: Introduction to workshop proceedings. *Reprod Biol Endocrinol*, v.2, p.30, 2004. (resumo).
- Wolf DP.** Introduction to the symposium on 'Non-Human PrimateART to ES Cells'. *Reprod Fertil Dev*, v.18, p.iii-iv, 2006.
- Wolf DP, Kuo H-C, Francis Pau K-Y, Lester L.** Progress with nonhuman primate embryonic stem cells. *Biol Reprod*, v.71, p.1766-1771, 2004a.
- Wolf DP, Meng L, Ouhibi N, Zelinski-Wooten M.** Nuclear transfer in the rhesus monkey: practical and basic implications. *Biol Reprod*, v.60, p.199-204, 1999.
- Wolf DP, Thormahlen S, Ramsey C, Yeoman RR, Fanton J, Mitalipov S.** Use of Assisted Reproductive Technologies in the Propagation of Rhesus Macaque Offspring. *Biol Reprod*, v.71, p.486-493, 2004b.
- Wolf RC, O'Connor RF, Robinson JA.** Cyclic changes in plasma progesterone and estrogens in squirrel monkey. *Biol Reprod*, v.17, p.228-231, 1977.

- Wright EM, Bush DE.** The reproductive cycle of the Capuchin (*Cebus apella*). *Lab Anim Sci*, v.5, p.651-654, 1977.
- Yano J, Gould KG.** Induction of follicular growth in the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) with human urinary follicle stimulation hormone (Metrodin). *Fertil Steril*, v.43, p.799-803, 1985.
- Yin H, Duffy DM, Gosden RG.** Comparative maturation of cynomolgus monkey oocytes *in vivo* and *in vitro*. *Reprod Biol Endocrinol*, v.4, n.14, p.1-8, 2006.
- Zheng P, Patel B, McMEnamin M, Moran E, Paprocki AM, Kihara M, Schramm RD, Latham KE.** Effects of Follicle Size and Oocyte Maturation Conditions on Maternal Messenger RNA Regulation and Gene Expression in Rhesus Monkey Oocytes and Embryos. *Biol Reprod*, v.72, p.890-897, 2005a.
- Zheng P, Schramm RD, Latham KE.** Developmental regulation and *in vitro* culture effects on expression of DNA repair and cell cycle checkpoint control genes in rhesus monkey oocytes and embryos. *Biol Reprod*, v.72, p.1359-1369, 2005b.
- Zheng P, Si W, Bavister BD, Yang J, Ding C, Ji W.** 17- beta-estradiol and progesterone improve *in-vitro* cytoplasmic maturation of oocytes from unstimulated prepubertal and adult rhesus monkeys. *Hum Reprod*, v.18, p. 2137-2144, 2003.
- Zheng P, Si W, Wang H, Zou R, Bavister BD, Ji W.** Effect of Age and Breeding Season on the Development Capacity of Oocytes from Unstimulated and Follicle-Stimulating Hormone-Stimulating Rhesus Monkeys. *Biol Reprod*, v.64, p.1417-1421, 2001a.
- Zheng P, Vassena R, Latham K.** Expression and downregulation of WNT signaling pathway genes in rhesus monkey oocytes and embryos. *Mol Reprod Dev*, v.73, p.667-677, 2006.
- Zheng P, Vassena R, Latham KE.** Effects of *in vitro* oocyte maturation and embryo culture on the expression of glucose transporters, glucose metabolism and insulin signaling genes in rhesus monkey oocytes and preimplantation embryos. *Mol Hum Reprod*, v.13, p.361-371, 2007.
- Zheng P, Wang H, Bavister BD, Ji W.** Maturation of rhesus monkey oocytes in chemically defined culture media and their functional assessment by IVF and embryo development. *Hum Reprod*, v.16, p.300-5, 2001b.
- Zhou Q, Yang SH, Ding CH, He XC, Xie YH, Hildebrandt TB, Mitalipov SM, Tang XH, Wolf D, Ji WZ.** A comparative approach to somatic cell nuclear transfer in the rhesus monkey. *Hum Reprod*, v.21, p.2564-2571, 2006.
-