



INFLUÊNCIA DE DIFERENTES NÍVEIS DE PROGESTERONA NA FOLICULOGÊNESE DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À PUNÇÃO FOLICULAR

Pfeifer, L. M.⁽¹⁾, Pivato, I.⁽²⁾, Rumpf, R.⁽³⁾, Sartori, R.⁽³⁾, Pezzini, T. G.⁽⁴⁾, Silva Jr, E. D.⁽⁵⁾, Dionello, N, L.⁽⁶⁾, Rabassa, V. R.⁽⁷⁾, Tabeleão, V.⁽¹⁾, Corrêa, M, N. ⁽⁸⁾;

(1) Médico Veterinário, Mestrando em Ciências Veterinária – Fac. Veterinária - UFPel

(2) CIDASC, Indaial – SC.

(3) Pesquisador III, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF

(4) Médico Veterinário, Mestrando em Reprodução Animal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF

(5) Médico Veterinário, estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF

(6) Eng.Agrônomo, MSc., Dr., Professor Adjunto – Departamento de Zootecnia- FAEM- UFPel

(7) Bolsista de iniciação científica do Grupo NUPEEC- Estudante de Graduação em Veterinária

(8) Médico Veterinário, M.Sc., Dr., Professor Adjunto - Departamento de Clínicas Veterinária

NUPEEC – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária

Departamento de Clínicas Veterinária – Faculdade de Veterinária

UFPel – Campus Universitário – CEP 96010-900 – F: (53) 275 7506

lpfeifer@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/hcv

1. INTRODUÇÃO

outubro | 2004

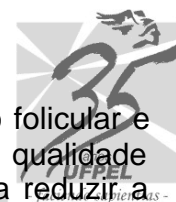
O grande avanço obtido na área de biotecnologia da reprodução tem permitido o desenvolvimento de técnicas que aumentam a eficiência reprodutiva e o ganho genético em rebanhos bovinos, bem como, permitem o estudo e aperfeiçoamento de técnicas de reprodução assistida. Entretanto, os protocolos e métodos utilizados ainda requerem aperfeiçoamentos [1].

É neste âmbito que a técnica de punção folicular (PF) guiada por ultra-som possibilita maximizar o aproveitamento de ovócitos que fisiologicamente sofreriam atresia, mas possuem potencial de produção de embriões *in vitro* [2].

Apesar dos progressos obtidos nesta área, a eficiência da produção de embriões transferíveis, oriundos de fertilização *in vitro* (FIV) ainda é baixa [3]. Existem fortes indicações de que este fato esteja mais relacionado com a qualidade dos ovócitos do que com as condições de fertilização e cultivo *in vitro* [4] e/ou devido ao método de maturação *in vitro* dos ovócitos coletados [5].

Pouco se sabe sobre as influências endócrinas ou igualmente da dependência do crescimento de pequenos folículos antrais a despeito do fato que ocorrem mudanças neste momento de comprometimento da subsequente função folicular ou ovocitária [6].

O LH possui características de realizar mudanças na estrutura do folículo e ovócito sendo o principal responsável pelo crescimento folicular final pré-ovulação. O mecanismo que aparentemente está associado com divergência folicular é a indução de receptores de LH na granulosa, um incremento no estradiol circulante e uma diminuição plasmática de FSH, ou seja, o momento em que há maior divergência folicular é o momento em que os pulsos de LH começam a aumentar. É evidente que o folículo dominante exerce um efeito inibitório direto no desenvolvimento de folículos subordinados em vacas e ovelhas [7, 8, 9, 10] causando sua atresia [11].



Ainda são necessários estudos sobre os fatores de desenvolvimento folicular e sobre a interação dos hormônios da reprodução com o desenvolvimento e qualidade dos ovócitos foliculares. O objetivo deste estudo é avaliar alternativas para reduzir a taxa de atresia folicular para que aumente o aproveitamento e/ou maximize o uso de técnicas como a PF, aumentando as taxas de recuperação ovocitária, a partir da diminuição e/ou abolição dos pulsos de LH através da administração de progesterona (P4) exógena, associado com o intervalo entre as punções de 4 dias.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste experimento foram utilizadas 15 vacas mestiças (*bos taurus x bos indicus*), com condição corporal (CC) entre 3 e 3,5, em regime de pastagem (*Brachiaria brizanta*) recebendo suplementação mineral. Todas as vacas receberam um CIDR por 8 dias antes do início do experimento. Dois dias antes da retirada dos dispositivos todas vacas receberam 0,150 mg de D-cloprostenol, um análogo de prostaglandina. No momento da retirada dos CIDRs todas vacas foram submetidas à PF, para haver a padronização do crescimento folicular entre os grupos. Os folículos foram caracterizados baseado no seu diâmetro como, pequenos (3–5 mm), médios (6–9 mm) e grandes (≥ 10 mm). Após a 1° PF as vacas foram divididas aleatoriamente em 3 grupos distintos, de forma que seus ovários foram avaliados por ultrasonografia e puncionados a cada 4 dias, totalizando 6 sessões de PF. Os grupos 1 e 2 tiveram suas trocas de CIDR a cada 8 dias, no intervalo entre 2 punções, coincidindo com a aplicação de prostaglandina, 0,150 mg de D-cloprostenol, nos três grupos.

Grupo 1: Receberam 1 CIDR usado, para obtenção de baixos níveis de progesterona sérica, como este grupo já estava a 8 dias com um dispositivo, permaneceu com o mesmo CIDR por mais 8 dias. As outras 2 trocas de CIDR foram feitas utilizando os dispositivos que foram utilizados pelas outras vacas no início dos tratamentos.

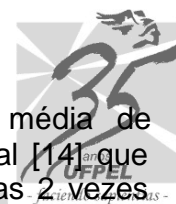
Grupo 2: Após a retirada do CIDR, as vacas receberam 2 dispositivos, para obtenção de altos níveis de progesterona.

Grupo 3: Estes animais não foram submetidos à tratamentos com progesterona.

Os resultados foram analisados no programa estatístico, SAS[®][12], através do teste de Duncan.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que houve um aumento na média de folículos pequenos, com diâmetro de até 5 mm, nos grupos 1 e 2 em relação ao grupo 3, 9,44, para os grupos 1 e 2 e 6,12 para o grupo 3 (tab. 1) ($p < 0,01$). A média de folículos totais por vaca por punção foi de 10,84, 10,12 e 7,12 para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente (tab. 2) ($p < 0,0001$). Estes resultados estão de acordo com os registrados por Campos [13] que utilizando GnRH e bST no tratamento de vacas submetidas à PF, em fêmeas que haviam sido superovuladas para coleta de embriões, 9 dias antes da primeira PF, considerado grupo com alta P4, demonstrou maior disposição de folículos do que vacas que haviam sido tratadas apenas com PGF2a durante as punções como ocorreu no grupo 3, sendo que a média de folículos foi de



10,84 para o primeiro grupo e de 6,28 para o segundo grupo. A média de folículos/vaca/PF concordam com os resultados registrados por Petyim et al [14] que trabalhando com um grupo de doadoras de ovócitos que foram punccionadas 2 vezes por semana, registrou uma média de folículos de $6,6 \pm 2,9$ /punção/vaca.

Os resultados encontrados neste experimento, bem como nos demais trabalhos apresentados indicam que a presença de níveis de progesterona influencia na foliculogênese, o que pode ser notado através da diferença no nº de folículos apresentados nas vacas que receberam P4 em relação à vacas do grupo 3, as quais, provavelmente, apresentavam baixos ou até mesmo sem níveis plasmáticos de P4 detectáveis. O fato da progesterona determinar uma pulsatilidade de LH de baixa frequência e grande amplitude [15], o recrutamento folicular das vacas que receberam CIDR, podem estar somente sob ação do FSH. O mecanismo de estímulo de pequenos folículos antrais ainda não é bem conhecido, sendo que a maioria dos folículos que se apresentavam no momento das PF eram de folículos antrais menores que 5mm, os quais possuem pouca influência das gonadotrofinas.

O principal hormônio envolvido na atresia folicular é o estradiol. Como o LH é precursor dos esteróides, como o estradiol, uma redução dos pulsos de LH, poderia estar afetando na esteroidogênese dos folículos em desenvolvimento [16 e 17] desta forma afetando a taxa de atresia folicular, o que pode explicar o maior número de folículos disponíveis nos grupos tratados com P4. Os níveis de estradiol e inibina podem ter se apresentado bem baixos nestes grupos, pois nos exames ultrasonográficos realizados no momento das PFs, foram diagnosticados um grande número de folículos pequenos sem dominância alguma entre eles. O fato das punções ocorrerem a cada 4 dias poderia estar relacionada com a baixa taxa de atresia, mas o grupo 3, composto por vacas que não haviam sido submetidas à P4 exógena, apresentou uma disposição de folículos menor do que os grupos que utilizavam P4 exógena, isto explica que a população folicular pode estar mais relacionado com a possível baixa pulsatilidade do LH do que com o intervalo entre as punções.

Tabela 1: Folículos disponíveis à PF / grupo / vaca de acordo com seu diâmetro.

Tratamento	Tamanho dos folículos		
	<5mm	5 - 10 mm	> 10 mm
1	9,44 ^a	1,4	0
2	9,44 ^a	0,52	0,16
3	6,12 ^b	0,92	0,08

Médias com diferentes letras na coluna, diferem entre si ($p < 0,01$). Teste de Duncan.

Tabela 2: Disposição de folículos/ animal/ sessão de PF.

Tratamento	Folículos/animal/sessão
1	10,84 ^a
2	10,12 ^a
3	7,12 ^b

Médias com diferentes letras na coluna, diferem entre si ($p < 0,0001$). Teste de Duncan.

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstram que vacas tratadas com P4 exógena e submetidas à PF a cada 4 dias possuem maior número de folículos recrutados do que vacas que



não sofreram influência hormonal de progesterona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADAMS, G.P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implications for synchronization and superovulation. *Theriogenology*, 42: 19-24, 1994.
- [2] BOUSQUET, D.; TWAGIRAMUNGU, H.; MORIN, N.; BRISSON, C.; CARBONEAU, G.; DUROCHER, J. In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. *Theriogenology*, 51: 59-70, 1999.
- [3] GORDON, I. Developments in *in vitro* fertilization (IVF) technology. *Laboratory Production of Cattle Embryo*. Wallingford, Cab International, p. 1-29. 1994.
- [4] BEVERS M.M., DILEMAN S.J., VAN DEN HURK R. AND IZADYAR F. Regulation and modulation of oocyte maturation in bovine. *Theriogenology*, 47: 13-22, 1997.
- [5] LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; CRITSER, W.H.; FIRST, N.L. Development potential of bovine oocytes matured in vitro or in vivo. *Biol. Reprod.* 36: 376-383. 1987.
- [6] CUSHMAN, R.A., DESOUZA, J.C., BRITT, J.H. Alteration of activation, growth, and atresia of bovine preantral follicles by long-term treatment of cows with estradiol and recombinant bovine somatotropin. *Biol. Reprod.* 65, 581–586. 2001.
- [7] CAMPBELL, B.K., PICTON, H.M., MANN, G.E., MCNEILLY, A.S., BAIRD, D.T. Effect of steroid-and inhibin-free ovine follicular fluid on ovarian follicles and ovarian hormone secretion. *J. Reprod. Fert.* 93, 81–96. 1991.
- [8] O'SHEA, T., HILLIARD, M.A., ANDERSON, T., BINDON, B.M., FINDLAY, J.K., TSONIS, C.G., WILKINS, J.F. Inhibin immunization for increasing ovulation rate and superovulation. *Theriogenology* 41, 3–17. 1994.
- [9] LAW, A.S., LOGUE, D.N., O'SHEA, T., WEBB, R. Evidence for the action of bovine follicular fluid factor(s) other than inhibin in suppressing follicular development and delaying estrous in heifers. *J. Reprod. Fert.* 96, 603–616. 1992.
- [10] WOOD, S.C., BLEACH, E.C., LOVELL, R., KNIGHT, P.J. The ability of steroid—free bovine follicular fluid to suppress FSH secretion and delay ovulation persists in heifers actively immunized against inhibin. *J. Endocrinol.* 136, 137–148. 1993.
- [11] WOLFSDORF, K.E., DIAZ, T., SCHMITT, E.J.P., THATCHER, M.J., DROST, M., THATCHER, W.W. The dominant follicle exerts an interovarian inhibition on FSH-induced follicular development. *Theriogenology* 48, 435–447. 1997.
- [12] SAS®. SAS/STAT User's Guide (Release 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC. 1991.
- [13] CAMPOS, H. Efeito residual da SOV sobre a PIV de embriões em sessões de PF subsequentes. Tese. Reprodução animal. Universidade de Brasília, 62 p. Brasília, 2001.
- [14] PETYIM, S., BAGE, R., HALLAP, T., RODRIGUEZ-MARTÍNEZ, H., LARSSON, B. Two different schemes of twice-weekly ovum pick-up in dairy heifers: effects on oocyte recovery and ovarian function. *Theriogenology*. 60. 175-188. 2003
- [15] CROWE, M.A., PADMANABHAN, V., MIHM, M., BEITINS, I.Z., ROCHE, J.F. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and gonadotropin concentrations. *Biol. Reprod.* 58, 1445–1450. 1998.
- [16] COOKE, D.J., CROWE, M.A., ROCHE, J.F. Circulating FSH isoform patterns during recurrent increases in FSH throughout the oestrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.* 110, 339–345. 1997a.