

Universidade Federal de Pelotas
Faculdade de Veterinária - Departamento de Clínicas Veterinária
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas/RS - www.ufpel.edu.br/nupeec
E-mail: nupeec@ufpel.edu.br - Tel: (53) 3275 7295

INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS METABÓLICOS NO DIÂMETRO DO FOLÍCULO OVULATÓRIO EM OVELHAS SUBMETIDAS AO JEJUM OU A APLICAÇÃO DE INSULINA

SILVA NETO, J.W.^{3,4}; SCHNEIDER*, A.^{1,4}; PFEIFER, L.F.M.^{2,4}; HAX, L.T.^{3,4};
ANTUNES, M.M.^{3,4}; SARAY, L.R.⁵; DEL PINO, F.A.B.⁶; CORRÊA, M.N.^{3,4,1}

RESUMO

O balanço energético negativo (BEN) e as conseqüentes variações nos níveis dos marcadores metabólicos estão ligadas as alterações no crescimento folicular. O objetivo deste trabalho foi de avaliar a influência das concentrações de glicose, ácidos graxos não-esterificados (AGNE) e uréia sobre o diâmetro do folículo ovulatório. Foram utilizadas 15 ovelhas, submetidas a sincronização deaios, considerando o dia 0 (D0) o momento da inserção do CIDR®. Os parâmetros analisados foram: uréia, glicose e AGNE plasmático do D3 ao D7. No D3 as ovelhas foram divididas em 3 grupos: grupo insulina (GI), com aplicação de insulina a cada 12 horas do D3 ao D7; grupo com jejum (GJ) do D3 ao D7; e o grupo controle (GC). No D7 as ovelhas foram abatidas. O diâmetro folicular médio foi $7,10 \pm 1,24$, $7,40 \pm 0,82$ e $8,60 \pm 1,94$ mm para o GC, GJ e GI, respectivamente, sem diferença entre os grupos ($P=0,25$). Porém, foram observadas diferenças ($P<0,01$) nas concentrações de AGNE no GJ do D4 ao D7. As concentrações de uréia foram superiores no GJ do D3 ao D5 ($P<0,01$), porém, foram menores ($P<0,05$) que os outros grupos no D6 e D7. A glicose no D6 do GI teve diferença em relação aos demais grupos ($P<0,01$) e associação ($P<0,05$, $r^2=0,40$) com o diâmetro dos folículos ovulatórios, o que pode estar relacionado a maior pulsatilidade de LH e crescimento folicular que acontece após retirada do CIDR®. Portanto, o nível de glicose após a retirada da progesterona influenciou o diâmetro do folículo ovulatório.

Palavras-chave: AGNE, folículo ovulatório, glicose, ovelha, uréia.

¹ Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel)

² Faculdade de Agronomia, UFPel

³ Faculdade de Veterinária, UFPel

⁴ Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) - www.ufpel.edu.br/nupeec.

⁵ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales da Colombia

⁶ Instituto de Química e Geociências, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pelotas – RS/Brasil
zewneto@gmail.com

INTRODUÇÃO

A nutrição está diretamente ligada ao desempenho reprodutivo em ruminantes, sendo um dos pontos mais importantes numa cadeia de produção pecuária, visto que os nutrientes são primeiramente direcionados para a manutenção, produção, crescimento e por último, direcionados para a reprodução. Quando a utilização de energia for maior do que a ofertada pela dieta, o animal entrará em balanço energético negativo (BEN), que influencia o crescimento e desenvolvimento folicular (PIRES e RIBEIRO, 2006), entre outros fatores, através da diminuição a liberação de LH, essencial para o crescimento final do folículo dominante (IMAKAWA *et al.*, 1987). Existem compostos sanguíneos, marcadores metabólicos indicadores de BEN, que podem influenciar diretamente o crescimento folicular. Entre eles estão a insulina, a uréia, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e a glicose.

A insulina é um importante mediador do desenvolvimento folicular, esteroidogênese, maturação oocitária e subsequente, desenvolvimento embrionário (TOTEY *et al.*, 1996), agindo sobre os tecidos ovarianos de maneira similar às gonadotrofinas hipofisárias (MCCANN E HANSEL, 1986).

A glicose também desempenha um papel importante no metabolismo ovariano, uma vez que é a principal fonte de energia para este e influencia no crescimento folicular (LEROY *et al.*, 2004).

O AGNE é importante para o ovário, pois é necessário para a formação do ácido aracônico, precursor de prostaglandinas. Porém, em altas concentrações torna-se prejudicial para o ovócito (PIRES e RIBEIRO, 2006), podendo diminuir a fertilidade. Sendo que há uma correlação direta entre o AGNE sanguíneo e do fluido folicular (JORRITSMA *et al.*, 2003).

A elevação plasmática das concentrações de uréia também reflete em aumento das concentrações intrafoliculares de uréia vacas leiteiras (LEROY *et al.*, 2004), que pode influenciar na qualidade e fertilidade do ovócito.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre as concentrações de glicose, AGNE e uréia e o diâmetro do folículo dominante de ovelhas submetidas ao jejum ou a aplicação de insulina.

MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Centro Experimental de Ovinos da Universidade Federal de Pelotas - RS. Foram utilizadas 15 ovelhas com peso médio de $54,06 \pm 5,44$ e condição corporal média de $3,08 \pm 0,26$ mantidas em sistema de confinamento recebendo feno e concentrado.

As ovelhas foram submetidas a uma sincronização deaios através da inserção de pessários intravaginais impregnados com acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 12 dias, sendo que todas fêmeas exibiram estro dentro de 72 horas após a retirada do pessário. No 11º dia do ciclo estral seguinte, todas receberam injeção de

125 µg de cloprostenol sódico (i.m., Ciosin[®], Fort Dodge) e 36 horas após, injeção de 100 µg de gonadorelina (i.m., Fertigen[®], Tortuga). Vinte e quatro horas após foi inserido um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (Eazi-Breed CIDR[®], InterAg), que permaneceu nas ovelhas por 6 dias, sendo que no momento da remoção do dispositivo foi aplicado 125 µg de cloprostenol sódico (i.m., Ciosin[®], Fort Dodge). Aproximadamente 32 horas após a remoção do dispositivo intravaginal as ovelhas foram sacrificadas em um abatedouro. O dia da inserção do dispositivo foi considerado o dia 0 (D0) e o abate ocorreu no D7.

No D3 os animais foram divididos em 3 grupos, sendo eles: grupo controle (GC), que recebeu uma dieta de manutenção, de acordo com o NRC, grupo insulina (GI), que recebeu a mesma dieta do GC e também injeções subcutâneas a cada 12 horas de 0,25 UI.kg⁻¹ de insulina humana recombinante (Novolin[®] N, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Dinamarca) do D3 ao D7 e grupo jejum (GJ), que foi submetido ao jejum alimentar do D3 ao D7.

Foram coletadas amostras de sangue através de punção da veia jugular. As amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm/minuto, para análises de uréia e glicose e AGNE do dia 3 ao dia 7. As análises de glicose foram realizadas com o Kit GLICOSE PAP Liquiform[®] (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil); as de uréia com Kit URÉIA CE[®] (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, Brasil); e as análises de AGNE analisadas com Kit NEFA HR2[®] (Wako Chemicals, Osaka, Japão).

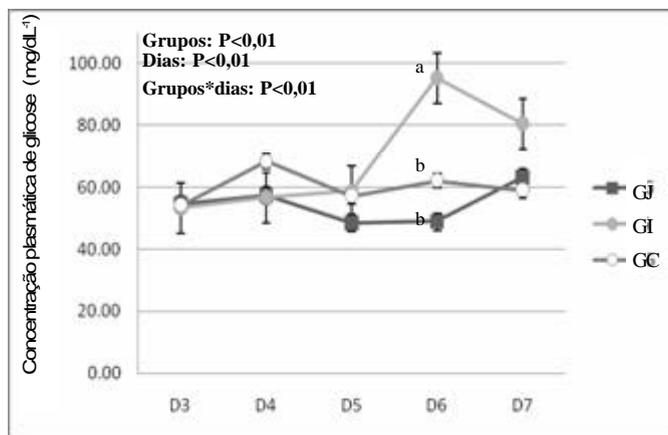
Após o abate, foram colhidos os ovários e mensurado o diâmetro do folículo ovulatório com o auxílio de um paquímetro (CAO *et al.*, 2006).

Os dados foram avaliados programa SAS[®]. As comparações de médias das variáveis diâmetro folicular e corpo lúteo entre grupos foram feitas através do método ONE-WAY ANOVA. Análises envolvendo medidas repetidas, ou seja, concentrações de glicose, AGNE e uréia, foram comparadas entre os grupos através do procedimento MIXED, para avaliar o efeito do tratamento, dia da coleta e interação tratamento-dia. Quando as interações foram significativas, o método ONE-WAY ANOVA foi utilizado para detectar efeitos do tratamento em cada dia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diâmetro médio dos folículos no momento da avaliação foi 7,10 ± 1,24, 7,40 ± 0,82 e 8,60 ± 1,94 mm para o GC, GJ e GI, respectivamente, não havendo diferença entre os grupos (P=0,25). Estes resultados diferem dos obtidos por Jorritsma *et al.* (2003) que observaram redução do diâmetro do folículo ovulatório em vacas submetidas a restrição alimentar.

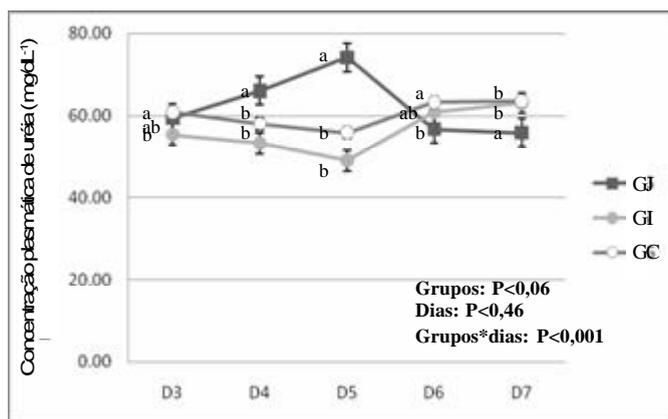
Houve um coeficiente de determinação significativo entre a concentração de glicose no dia 6 e o tamanho do folículo ovulatório (P<0,05, r²=0,40), conforme demonstrado na Figura 1. Isto se deve, provavelmente, ao aumento da pulsatilidade de LH estimulada pela retirada do CIDR, importante para o crescimento final e esteroidogênese do folículo dominante, e atua em sinergismo com a glicose (WILLIAMS *et al.*, 2001).



letras diferentes diferem entre si (P<0,05).

Figura 1 - Concentração de glicose durante o protocolo de sincronização

As concentrações elevadas de uréia sanguínea no GJ (Figura 2) podem ser devido à falta de nutrientes para a microflora ruminal e, conseqüente, degradação bacteriana, que seria mais intensa nos primeiros dias de jejum, sendo que após este período a uréia pode ter retornado aos níveis fisiológicos, porém, em menores que os demais grupos. Sabe-se que a uréia pode influenciar o eixo hipotálamo-hipófise-ovário levando a uma diminuição da concentração de LH (PIRES e RIBEIRO, 2006) cuja deficiência modifica a habilidade das células da granulosa para responder ao FSH e prejudica crescimento folicular. A oscilação dos valores ligados a uréia nos diferentes grupos podem ser devido ao curto período de tempo de experimento para que os níveis de uréia pudessem estabilizar, principalmente no GJ.

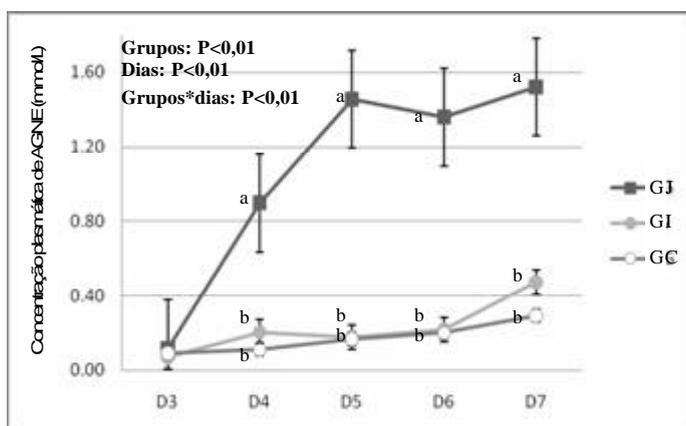


letras diferentes diferem entre si (P<0,05).

Figura 2: níveis de uréia durante o protocolo de sincronização

Excluído: <sp>

Não houve diferença ($P>0,05$) nas concentrações de AGNE no D3, dia do início dos tratamentos, porém do D4 ao D7, houve um aumento significativo no GJ (Figura 3). O AGNE é utilizado como um marcador metabólico, indicador de BEN, sendo sua concentração plasmática correlacionada com a do líquido folicular, que por sua vez está influenciada no tamanho do foliculo (JORRITSMA *et al*, 2003).



letras diferentes diferem entre si ($P<0,05$).

Figura 3 – Concentração de AGNE durante o protocolo de sincronização

Jorritsma *et al.* (2003) observaram uma associação entre o BEN e atraso na foliculogênese, devido à diminuição do diâmetro do foliculo ovulatório em vacas. Porém, neste estudo não foi encontrada associação entre o diâmetro do foliculo ovulatório e concentrações plasmáticas de AGNE.

CONCLUSÃO

Apesar da diferença nas concentrações de uréia, AGNE e glicose entre os grupos que receberam insulina ou foram submetidos ao jejum, apenas o nível de glicose no período após a retirada do CIDR® influenciou o diâmetro do foliculo ovulatório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAO, M., BURATINI, J., JR., LUSSIER, J. G., CARRIERE, P. D., PRICE, C. A. Expression of protease nexin-1 and plasminogen activators during follicular growth and the periovulatory period in cattle. **Reproduction**. v. 131, p. 125-137, 2006.

IMAKAWA K., DAY M. L., ZALESKY D. D., CLUTTER A., KITTOCK R. J., KINDER J. E. Effects of 17 β -Estradiol and Diets Varying in Energy on Secretion of Luteinizing Hormone in Beef Heifers. **Journal of Animal Science**. v. 64, p. 805-815, 1987

JORRITSMA R., GROOT M. W. D.; VOS P. L. A. M.; KRUIP T. A. M.; WENSING T.; NOORDHUIZEN J. P. T. M. Acute fasting in heifers as a model for assessing the relationship between plasma and follicular fluid NEFA concentrations. **Theriogenology**, v. 60, n. 1, p. 151-161, 2003.

LEROY, J. L. M. R., VANHOLDER, T., DELANGHE, J. R., OPSOMER G., VAN SOOM A., BOLS P. E. J., DE KRUIF A. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum in dairy cows. **Animal Reproduction Science**. v. 80, p. 201-211, 2004.

MCCANN J. P., HANSEL W. Relationships between insulin and glucose metabolism and pituitary -ovarian functions in fasted heifers. **Biology of Reproduction**. v. 34, p. 630-641, 1986.

PIRES A. V., RIBEIRO, C. V. M. Aspectos da nutrição relacionados à reprodução. In: BERCHIELLI, T. T., PIRES A. V., OLIVEIRA S. G., PIRES A. V., RIBEIRO C. V. M. **Nutrição de Ruminantes**, cap 17, Jaboticabal: Funep, 2006. p. 513-535.

Statistical Analysis System - SAS: Statistical Analysis System - Getting Started with the SAS® Learning Edition. Cary, NC: SAS Institute. 2002.

TOTEY, S. M., PAWSHE, C. H., APPA RAO, K. B. C. In vitro maturation of buffalo Oocytes: role of insulin and interaction with gonadotrophins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 50, p. 113–119, 1996.

WILLIAMS, S. A., BLACHE, D., MARTIN, G. B., FOOT, R., BLACKBERRY, M. A., SCARAMUZZI, R. J. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. **Reproduction**. v. 122, p. 947-956, 2001.