

TAXAS DE GESTAÇÃO E FORMAÇÃO DE CORPO LÚTEO ACESSÓRIO EM NOVILHAS NELORE TRATADAS COM hCG APÓS A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

[*Pregnancy rates and formation of accessory corpora lutea in Nelore heifers, treated with hCG after fixed-time artificial insemination*]

Marcelo Diniz Santos¹, Daniel Ambrósio Fialkoski Junior², Claudia Dias Monteiro Toma^{3*}, Hugo Shisei Toma¹, Silvio Henrique Freitas¹, Deiler Sampaio Costa⁴, Celso Koetz Junior⁵

¹ Professor da Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Cuiabá – UNIC, Cuiabá-MT, Brasil.

² Aluno do Programa de Mestrado em Biociência Animal da Universidade de Cuiabá - UNIC, Cuiabá, MT, Brasil.

³ Pós doutoranda do Programa de Mestrado em Biociência Animal da Universidade de Cuiabá - UNIC, Cuiabá, MT, Brasil.

⁴ Professor da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

⁵ Professor da Faculdade de Medicina Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Norte do Paraná, PR, Brasil.

RESUMO – Avaliou-se a taxa de gestação, circunferência dos corpos lúteos e formação de corpos lúteos acessório (CLA) em novilhas da raça Nelore, tratadas com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) sete dias após inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Foram utilizadas 137 novilhas, com peso médio de 308,07±12,86 kg, distribuídas aleatoriamente em dois Grupos, sendo o Grupo A composto por 67 novilhas que receberam hCG sete dias após a IATF e o Grupo B de 70 novilhas que receberam solução salina sete dias após a IATF. As sincronizações da onda folicular e ovulação foram realizadas pela manhã (8h00) e tarde (14h00) respectivamente para os Grupos A e B. No Dia 10 (D10), 48 horas após a retirada dos implantes vaginais, as novilhas dos Grupos A e B foram inseminadas pela manhã e tarde, respectivamente. No Dia 17 (D17), pela manhã nos animais do Grupo A, foram aplicados por via intramuscular 1500UI (1,5mL) de hCG e à tarde 1,5mL de solução salina nos animais do Grupo B. Após 11 dias (D28), por ultra-sonografia transretal, foi avaliada a existência, o número e a circunferência dos corpos lúteos presentes nos ovários das novilhas dos Grupos A e B. O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após a IATF (D45). A aplicação de hCG em novilhas sete dias após a IATF induziu a formação de CLA, não interferiu no tamanho dos corpos lúteos observados nas fêmeas gestantes tratadas e não tratadas e não melhorou a taxa de gestação das referidas fêmeas.

Palavras-Chave: bovinos; corpo lúteo acessório; fertilidade; gonadotrofinas.

ABSTRACT – We evaluated the pregnancy rate, circumference of corpora lutea and formation of accessory corpora lutea (ACL) in Nelore heifers treated with human chorionic gonadotropin (hCG) seven days after fixed-time artificial insemination (FTAI). 137 heifers were used, with an average weight of 308.07 ±12.86kg, were randomly assigned into two groups, with Group A consisting of 67 heifers receiving hCG seven days after AI and Group B with 70 heifers receiving solution saline seven days after AI. The synchronization of follicular wave and ovulation were performed in the morning (8:00 a.m.) and afternoon (14:00 p.m.), respectively for Groups A and B. On Day 10 (D10), 48 hours after the removal of the implants vaginal heifers in Groups A and B were inseminated in the morning and afternoon respectively. On day 17 (D17) in the morning in Groups A were applied intramuscularly 1500UI (1.5 mL) of hCG and in the evening 1.5 mL saline in Group B. After 11 days (D28) by transrectal ultrasonography, we evaluated the existence, number and circumference of corpus luteum present in the ovaries of heifers in Groups A and B. Pregnancy diagnosis was performed 35 days after AI (D45). The application of hCG in heifers seven days after FTAI induced the formation of CLA had no effect on the size of corpus luteum observed in pregnant females treated or not and did not improve the pregnancy rate of those females.

Keywords: cattle; accessory corpora lutea; fertility; gonadotrophins.

* Autor para correspondência. E-mail: claudiadiasmonteiro@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O conhecimento dos fatores que controlam a foliculogênese ovariana pode levar ao desenvolvimento de métodos mais precisos de controle de ciclos reprodutivos na pecuária (Diaz et al., 1998).

A baixa fertilidade do rebanho brasileiro é um dos fatores que compromete sua produção e produtividade. Dentre as causas da baixa fertilidade em bovinos de corte destacam-se perdas embrionárias de até 40%, que ocorrem no “período crítico” de reconhecimento da prenhez entre 15 e 19 dias após a fertilização (Dunne et al., 2000). O reconhecimento da gestação em bovinos e sua manutenção está relacionado a diversos sinais transmitidos pelo embrião à mãe, responsáveis por inibir a luteólise do corpo lúteo, possibilitando a liberação de progesterona para manutenção da gestação (Machado et al., 2006).

A mortalidade que ocorre nos primeiros sete dias de gestação está associada com insuficiência na fertilização, defeitos genéticos e de desenvolvimento embrionário deficiente no estágio de blastocisto. A taxa de mortalidade nesta fase é normalmente inferior a 10%, mas pode aumentar a 40% em vacas leiteiras sob estresse por calor (Binelli et al., 2009).

Uma particularidade da dinâmica folicular na espécie bovina é o desenvolvimento de uma ou quatro ondas de crescimento contínuas e regressão de folículos antrais que leva ao desenvolvimento do folículo pré-ovulatório derivado da última onda (Diaz et al., 1998).

Em bovinos, uma significativa proporção de infertilidade tem sido atribuída ao funcionamento inadequado do corpo lúteo (CL), também chamado deficiência de fase lútea ou disfunção lútea, sendo caracterizado por ciclo estral de duração normal e baixa concentração periférica de progesterona. Uma deficiência na secreção desse esteróide por parte do CL poderia contribuir para perdas embrionárias (Fonseca et al., 2001).

A frequência de indução de formação do corpo lúteo acessório é maior nos períodos de 4 a 7 e 14 a 16 do que entre 8 a 13 dias do ciclo estral (Diaz et al., 1998).

A administração de hCG no quinto dia aumenta as concentrações plasmáticas de progesterona do nono ao décimo sétimo dia. Este aumento ocorre devido à secreção do corpo lúteo acessório (Diaz et al., 1998). Em uma revisão de 17 estudos individuais, realizada por Machado et al. (2008), verificou-se

que vacas suplementadas com progesterona após a inseminação artificial obtiveram taxas de concepção aproximadamente 5% mais altas do que vacas não suplementadas.

Considerando o estro o dia zero, o folículo dominante da primeira onda folicular no quinto dia do ciclo estral é saudável, esteroidogenicamente ativo, e pode ovular em resposta à administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) ou de um agonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Induzir a formação de um corpo lúteo adicional durante a fase lútea do ciclo estral com a administração de gonadotrofinas seria uma estratégia para elevar a concentração plasmática de progesterona durante esse período (Fonseca et al., 2001).

A progesterona materna circulante prepara o útero para assegurar o desenvolvimento do concepto. De fato, concentrações plasmáticas baixas de progesterona na fase luteínica relacionam-se a embriões menos desenvolvidos e taxas de concepção menores. Por outro lado, a suplementação com progesterona aumenta a taxa de crescimento embrionário e também a capacidade em produzir a molécula sinalizadora da sua presença no útero (interferon-t) (Machado et al., 2008).

A administração de hCG entre quatro e sete dias após a data do estro, ou seja, entre o D4 e o D7, provoca a ovulação do folículo dominante da primeira onda de crescimento pois, este ao quinto dia do ciclo é esteroidogenicamente ativo, induzindo a formação de um Corpo Lúteo Acessório (CLA), bem como atua diretamente sobre o corpo lúteo original, por causar hipertrofia das células luteínicas, fato especialmente importante em zebuínas que produzem CL menores do que fêmeas taurinas. Os resultados desses efeitos são o aumento nas dimensões do corpo lúteo e na produção de progesterona (Fonseca et al., 2001; Machado et al., 2006).

Vacas de corte tratadas com hCG no dia 4 do ciclo estral apresentam maior concentração de progesterona, corpo lúteo de maior área luteal no dia 7 quando comparadas com animais não tratados e incidência de 29,6 % de ovulação do folículo dominante no dia 4 (Wecker et al., 2012).

No dia 33, a proporção de vacas prenhes que apresentavam CLs acessórios foi maior no grupo hCG do que no controle. O hCG pode ser utilizado após o diagnóstico de gestação para formar nova estrutura luteal (Pinto, 2013).

A administração de hCG aos 29 dias pós IA ampliou o número de CLs acessórios (Bartolome et al., 2012; Borges et al., 2014).

O presente trabalho teve como objetivo observar o efeito do uso do hCG administrado sete dias após inseminação artificial em tempo fixo (IATF) na melhoria da taxa de gestação de fêmeas bovinas, via formação de corpo lúteo acessório, e avaliar o seu efeito sobre o tamanho dos corpos lúteos das fêmeas gestante.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Fazenda Bom Jesus, localizada no município de Cáceres-MT. Foram utilizadas inicialmente 140 novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com peso médio de $308,07 \pm 12,86$ kg. Foram descartadas três novilhas por perda de implante vaginal. No início do experimento, as fêmeas foram avaliadas quanto ao escore de condição corporal (ECC; escala de 1 a 5) e todas apresentaram ECC variando de 2,75 a 3,0. Foi realizado exame ginecológico por palpação e ultra-sonografia transretal, sendo selecionadas apenas as novilhas que apresentavam crescimento folicular, com ou sem presença de corpo lúteo, associado à turgidez uterina. As fêmeas foram mantidas em pastagem com capim *Brachiaria brizantha* var. Marandu, com livre acesso a sal mineralizado e água.

As novilhas foram separadas aleatoriamente em dois Grupos: Grupo A com 67 novilhas, que receberam 1500UI de hCG por via intramuscular sete dias após a IATF; e Grupo B com 70 novilhas, que receberam 1,5mL de solução salina por via intramuscular (IM) sete dias após a IATF. As fêmeas tiveram onda folicular sincronizada pela manhã (8h00) e tarde (14h00) respectivamente para os Grupos A e B, com um implante vaginal contendo 0,558g de progesterona (Monodose®, Biogênese-Bagó, Brasil) e aplicação de 2mg de benzoato de estradiol (Estrogin®, Farmavet, Brasil), por via intramuscular (IM) no Dia 0 (D0). No Dia 8 (D8) os implantes vaginais foram removidos. Em seguida, foram administrados 150µg (2mL) de D+Cloprostenol (Veteglan®, Carlier, Brasil) IM, 0,6mg (0,3mL) de Cipionato de Estradiol (E.C.P.®, Pfizer) (IM) e 300UI (1,5mL) de Gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) (Novormon®, Intervet Shering Ploug) IM. No Dia 10 (D10), após 48 horas da retirada dos implantes, as novilhas dos Grupos A e B foram inseminadas pela manhã e tarde, respectivamente, utilizando sêmen de um mesmo touro e mesma partida.

No Dia 17 (D17), pela manhã (8h00), as fêmeas do Grupo A receberam 1500UI (1,5mL) de Gonadotrofina Coriônica Humana - hCG

(Chorulon®, Intervet Shering-Ploug) IM, e a tarde (14h00) as do Grupo B receberam 1,5ml de solução salina IM.

Após 11 dias (D28), por ultrasonografia transretal, foi avaliada a existência, o número e a circunferência dos corpos lúteos presentes nos ovários das novilhas dos Grupos A e B, respectivamente. Para avaliação da estrutura luteínica presente nos ovários, foi utilizada a média da circunferência dos corpos lúteos encontrados nas fêmeas dos respectivos Grupos. O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após a IATF (D45), com um aparelho Aloka®, modelo SSD 500, com transdutor de 5,0 MHz, por via transretal e segundo procedimento padronizado para bovinos. As taxas de gestação foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) e o número e a circunferência dos corpos lúteos por análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo não houve diferença ($P > 0,05$) na taxa de gestação das novilhas do Grupo A (40,3%) em relação ao Grupo B (45,7%).

Resultados semelhantes com relação à taxa de gestação obtida neste estudo foram descritos por Machado et al. (2008), que utilizaram diversas estratégias hormonais que não resultaram em aumento nas taxas de prenhez à IATF. Também a expectativa dos referidos autores em obter maior taxa de prenhez pela otimização da função luteínica em vacas que receberam hCG não se confirmou com a utilização de 3.000 UI de hCG, que relataram que talvez essas taxas não sejam limitadas pela concentração circulante da progesterona.

Em nosso estudo, a aplicação de 1.500UI de hCG, sete dias após a IATF, induziu ($P < 0,01$) a formação de Corpo Lúteo Acessório (CLA) em 13 novilhas do Grupo A (19,4%). Destas 13 novilhas, duas (15,4%) apresentaram dois CLA e sete ficaram gestantes (53,8%). Não houve diferença ($P > 0,05$) no tamanho (circunferência) dos corpos lúteos observados nas fêmeas gestantes dos Grupos A (média de $6,02 \text{ cm} \pm 1,18$) e B (média de $5,71 \text{ cm} \pm 0,75$), respectivamente.

Resultados superiores aos obtidos em nosso estudo com relação à taxa de gestação e indução de CLA foram relatados por Rajamahendran & Sianangama (1992), que administraram hCG na dose de 1.000UI em vacas da raça Holandesa, em diferentes dias, no dia da IA (D0; n = 8), sete dias após a IA (D7; n = 9), 14 dias após a IA (D14; n = 9) e sem a administração de hCG (controle; n = 8). Os referidos autores observaram que a dose utilizada induziu a formação de CLA em todos os grupos, sendo no D0 (n = 3) 37,5%, no D7 (n = 7) 77,7%,

no D14 (n = 4) 44,4% e no controle (n = 1) 12,5%, com aumento nas taxas de gestação (DO: 50%; D7: 77,7%; D14: 44,4%; controle: 33,3%), obtendo assim, maior taxa de gestação nos animais tratados com hCG sete dias após a IA.

Ao comparar os resultados obtidos por Rajamahendran & Sianangama (1992) que utilizaram 1.000UI de hCG em fêmeas *Bos taurus taurus* (raça Holandesa), com os obtidos em nosso estudo com novilhas da raça Nelore, que receberam 1.500UI, possivelmente as fêmeas *Bos taurus taurus*, sejam mais sensíveis ao hCG em relação às *Bos taurus indicus*, sendo necessário avaliar a utilização de doses maiores nestes animais.

Já Fantin Filho et al. (2003) realizaram experimento com vacas da raça Caracú, utilizando 2.500 UI de hCG aplicado 7º dia após inseminação. Foi observado que 93,7% das vacas tratadas desenvolveram CLA.

Contrariamente, resultados inferiores aos obtidos em nosso estudo foram descritos por Beltran & Vasconcelos (2008) que induziram a formação de CLA em vacas Holandesas de alta produção com a administração de 2.500UI de hCG cinco dias após a IA, obtendo taxa de concepção de 32,8% para Grupo tratado com hCG e 10,1% de prenhez para o Grupo Controle. Reforçando os resultados obtidos por Rajamahendran & Sianangama (1992) que registraram maior taxa de gestação em vacas da raça Holandesa quando tratadas com hCG sete dias após a IA.

Os fatores climáticos não foram avaliados neste estudo, mas possivelmente os períodos utilizados na execução dos protocolos de sincronização do Grupo A (8h00) e do Grupo B (14h00), não interferiram de maneira diferenciada entre os grupos, em relação aos fatores climáticos (estresse calórico), na taxa de fecundação dos animais, já que não houve diferença significativa entre eles. Apesar desta constatação, sabe-se que o experimento foi realizado em município que apresenta altas temperaturas, o que pode levar os animais a estresse térmico e consequentes menores taxas de gestação.

O grupo B não apresentou CLA, mostrando assim a necessidade de estímulo hormonal exógeno em novilhas para induzir a formação de CLA.

Se considerarmos somente as novilhas com CLA, obteve-se 53,8% (n = 7) de taxa de gestação, contudo não houve diferença na taxa de gestação das novilhas tratadas com hCG em relação as não tratadas. Assim, não justifica os gastos com a aquisição de hCG, o que foi confirmado por Machado (2005) que o hCG melhora a função

luteínica, mas não aumenta a taxa de prenhez das fêmeas.

Contrário aos resultados obtidos em nosso estudo, Stevenson et al. (2007) observaram que o volume das estruturas luteais e a taxa de concepção foram maiores nas vacas leiteiras tratadas com hCG sete dias após a IA, em relação ao grupo controle.

CONCLUSÕES

Esta pesquisa mostrou que a aplicação de hCG em novilhas, sete dias após a IATF, induziu a formação de CLA mas não incrementou as taxas de gestação.

REFERÊNCIAS

- Bartolome, J.A. Wallace, S.P., De La Sota, R.L., Thatcher, W.W. Effect of administering equine chorionic gonadotropin (eCG) and human chorionic gonadotropin (hCG) post artificial insemination on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, Woburn, v.78, n.5, p. 1110-16, 2012.
- Beltran, M.P.; Vasconcelos, J.L.M. Conception rate in Holstein cows treated with GnRH or hCG on the fifth Day post artificial insemination during summer. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.3, p.580-586, 2008.
- Binelli, M.; Machado, R.; Bergamaschi, M.A.C.M.; Bertan, C.M. Manipulation of ovarian and uterine function to increase conception rates in cattle. *Animal Reproduction*. v.6, n.1, p.125-134, 2009.
- Borges, J.B.S., Thedy, D.X., Dias, M.M., Velho, F.A., Almeida, M.R. Administração de Gonadotrofina Coriônica Humana para estimulação da função luteal em vacas de corte lactantes. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 42, n. 1231, 2014.
- Diaz, T.; Schmitt, E.J.; De La Sota, R.L.; Thatcher, M. J.; Thatcher, W.W. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *Journal of Animal Science*, v.76, p.1929-1936, 1998.
- Dunne, L.D.; Diskin, M.G.; Sreenan, J.M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Animal Reproduction Science*, v.58, n.1, p.39-44, 2000.
- Fantin Filho, J.C.; Kozicki, L.E.; Souza, F.P. Gonadotrofina coriônica humana (hCG) na indução de corpo lúteo acessório em vacas da raça Caracu. *Archives of Veterinary Science*, v.8, n.2, p. 63-67, 2003.
- Fonseca, J.F.; Silva Filho, J.M.; Palhares, M.S.; Ruas, J.R.M.; Pinto Neto, A. Concentração plasmática de progesterona em novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.53, n.4, p.1-8, 2001.
- Pinto, T.L.C. *Aplicação de agonistas de GnRH no momento da transferência de embriões produzidos in vitro em vacas holandesas*. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal). Universidade Federal de Lavras, MG, 2013.
- Machado, R. *A remoção farmacológica do folículo dominante como estratégia antiluteolítica em bovinos*. 2005. 198 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Machado, R.; Barbosa, R.T.; Silva, J.C.B.; Bergamaschi, M.A.C.M.; Bertan, C.M.; Sarti, L.L.; Binelli, M. A redução da mortalidade embrionária - estratégia hormonal para otimizar a função luteínica em bovinos. *Circular Técnica EMBRAPA*, n.51, p.1-11, 2006.

Machado, R.; Carneiro, M.A.; Bergamaschi, M.; Barbosa, R.T.; Madureira, E.H.; Alencar, M.M.; Binelli, M. Taxas de serviço, concepção e prenhez de vacas nelore tratadas com gonadotrofina coriônica humana e 17 β -estradiol após a inseminação artificial em tempo fixo. *Brazilian Journal veterinary Research animal Science*, São Paulo, v.45, n.3, p.221-230, 2008.

Rajamahendran, R.; Sianangama, P.C. Effect human Corionic Gonadotrophin on dominant follicles in cows. Formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.95, n.2, p.577-584, 1992.

Stevenson, J.S.; Portaluppi, M.A.; Tenhouse, D.E.; Lloyd, A.; Eborn, D.R.; Kakuba, S.; Dejamette, J.M. Interventions after artificial insemination: conception rates, pregnancy survival, and ovarian responses to gonadotropic-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone. *Journal Dairy Science*, v.90, n.2, p.331-340, 2007.

Wecker F., Thedy D.X., Gonsioroski A.V. & Borges J.B.S. 2012. Efeito da aplicação de eCG ou hCG 7 dias após a IATF no desenvolvimento das estruturas ovarianas e nas taxas de prenhez de vacas de corte. *Acta Scientiae Veterinariae*. 40(4): Disponível em <www.ufrgs.br/actavet/40-4/PUB%201072.pdf>.