

Archives of Veterinary Science v. 9, n. 1, p. 115-120, 2004
Printed in Brazil

ISSN: 1517-784X

HORMÔNIO CORIÔNICO GONADOTRÓFICO (hCG) NA INDUÇÃO DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO E SUA RELAÇÃO COM A CONCENTRAÇÃO DE PROGESTERONA PLASMÁTICA EM BOVINOS DE CORTE.

(Induction of accessory Corpus luteum by human chorionic gonadotropin (hCG) and the relationship with progesterone concentrations in cattle)

FANTINI FILHO, J.C.¹; KOZICKI, L.E.^{2,3}; SOUZA, F.P.³

¹Mestrando em Patologia Veterinária, Medicina Veterinária – UFPR, Curitiba – Paraná – Brasil.
fantinifilho@ufpr.br;

²Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias – UFPR;

³Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PR.

RESUMO – No experimento foram utilizados 62 animais da raça Charolesa e Caracú, e inseminados artificialmente (IA). No 7º dia após a IA, as vacas foram divididas aleatoriamente em 2 grupos: tratado (n=32), que recebeu 2.500 UI de hormônio coriônico gonadotrófico (IM) e controle (n=30), que recebeu 1 ml de solução fisiológica estéril, (IM). Verificou-se ultrassonograficamente a localização e o diâmetro: do corpo lúteo do cio base (CLCB) no 7º e 13º dia após a IA, do folículo dominante (FD) da primeira onda no 7º dia, do corpo lúteo acessório (CLA), e do FD da segunda onda folicular. Coletaram-se amostras sanguíneas no 7º, 13º e 24º dia após a IA para a determinação da concentração de progesterona plasmática (P_4) pelo método da quimioluminescência. Foram obtidos os resultados: Trinta e um animais (96,87%) desenvolveram um CLA após a aplicação do hCG. O diâmetro do CLCB e do FD no dia 7 e 13 após a IA, não diferiram entre os grupos ($P>0,05$). A concentração de P_4 no dia 7 não diferiu ($P>0,05$) entre os grupos, porém no dia 13 ($P<0,0001$) e 24 ($P<0,05$) observou-se diferença. Concluiu-se que o tratamento com o hCG provocou a ovulação do FD da primeira onda folicular; o CLA apresentou um diâmetro menor do que o CLCB do mesmo período ($P<0,0001$). Ocorreu significativo aumento na concentração de P_4 no dias 13 ($P<0,0001$) e 24 ($P<0,05$) após a IA nos animais tratados em relação aos controles.

Palavras chave: hCG, corpo lúteo acessório, progesterona.

ABSTRACT – In the present experiment 62 cows of the Charoles and Caracu breeds were artificially inseminated (AI) and aleatorily divided in two groups at the 7th day after the insemination. The experimental group (n = 32) has been treated with intramuscular administration of 2500 IU of human chorionic gonadotrophin (hCG) and the control group (n=30) with 1.0 ml of intramuscular sterile physiologic solution. Scanning ultrasound was performed at the 7th and 13th day in order to access the location and size of the estrus *corpus luteum* (CL), the dominant follicle (DF) of 1st and 2nd follicular wave at 7th and 13th day, respectively, as well as the diameter of accessory CL. Blood samples were collected at 7th, 13th and 24th days after AI for progesterone (p_4) assay by chemiluminescent immunoassay. **Results.** A total of 31 cows (96.8%) developed an accessory CL after hCG administration. No differences has been found ($P<0.05$) among the experimental groups on the CL diameter from the basis estrum, DF of 1st and 2nd follicular wave after 7th and 13th days after AI. The diameter of the accessory CL at 13th day after AI was different ($P<0.05$) from the CL of the estrum with the same age in the treated group. Progesterone concentrations did not differ at the 7th day ($P<0.05$) between the groups, being however different at the 13th day ($P<0.0001$) and at the 24th day ($P<0.05$) after AI. **Conclusions.** Treatment with hCG stimulated DF ovulation of 1st follicular wave. Accessory Cl displayed fewer diameters than CL from the basis estrum with the same age ($P<0.0001$). Progesterone concentrations displayed an increase at the 13th ($P<0.0001$) and 24th ($P<0.05$) days after AI in treated cows in regard to the values found in the control cows.

Key words: hGC, accessory CL, progesterone.

Introdução

Diversas estratégias tem sido utilizadas para aumentar as taxas de concepção através do aumento da concentração plasmática de P_4 durante a fase luteal dos animais (BINELLI *et al.*, 2001). O aumento da concentração de P_4 pode ser obtida pela indução de um CLA mediante administração de hCG (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab; SCHMITT *et al.*, 1996ab; KERBLER *et al.*, 1997; DIAZ *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; MARQUES *et al.*, 2002; NISHIGAI *et al.*, 2002). O momento da administração do hCG é determinado (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab) pela presença de folículos dominantes nestes momentos. O hCG promove a ovulação do FD, sendo amplamente administrado no dia um (NISHIGAI *et al.*, 2002), cinco (SCHMITT *et al.*, 1996ab; KERBLER *et al.*, 1997; DIAZ *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; BELTRAN *et al.*, 2003), seis (FRICKE *et al.*, 1993; NISHIGAI *et al.*, 2002), sete (SIANANGAMA *et al.*, 1994; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab; MARQUES *et al.*, 2002), quatorze (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1992) do ciclo estral, resultando na formação de um CLA (SCHMITT *et al.*, 1996ab; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab; KERBLER *et al.*, 1997; DIAZ *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; MARQUES *et al.*, 2002; NISHIGAI *et al.*, 2002).

Relatos dos efeitos do hCG sobre as concentrações de P_4 variam consideravelmente. Alguns experimentos demonstram aumentos significativos das concentrações periféricas de P_4 (SCHMITT *et al.*, 1996ab; KERBLER *et al.*, 1997; DIAZ *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; MARQUES *et al.*, 2002; NISHIGAI *et al.*, 2002; BELTRAN *et al.*, 2003), e outros falharam em demonstrar o aumento da concentração de P_4 na circulação periférica (DE LOS SANTOS-VÁLADEZ *et al.*, 1982; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab).

BARUSELLI *et al.* (2001) e MARQUES *et al.* (2002) observaram que a concentração plasmática de P_4 parece estar diretamente

correlacionada à taxa de concepção de receptoras de embrião.

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da administração de hCG na fase luteal em vacas, após o estro base, sobre a indução da ovulação, do FD da 1ª onda folicular número de CLAs e concentração plasmática de P_4 em vacas e novilhas das raças Charolesa e Caracú, bem como verificar as alterações provocadas pelo hCG sobre a dinâmica folicular.

Material e Método

O trabalho foi realizado no município de Palmeira (PR), sendo utilizadas 31 vacas da raça Charolesa e 31 vacas da raça Caracu, com idade média de 5 anos. Os animais receberam como fonte alimentar, pastagens de azevém e suplemento de sal mineral de acordo com a categoria de produção. Esses animais foram divididos aleatoriamente em: grupo tratado (n=32), que recebeu uma injeção intramuscular de 2.500 UI de hCG¹ no dia 7 após a IA e grupo controle (n=30), nos quais foi administrado injeção intramuscular de 1 ml de solução fisiológica estéril no 7º dia após a IA, como placebo.

Os ovários das vacas foram “acompanhados” por ultrassonografia transretal, com um transdutor linear de 5 Mhz, no 7º e no 13º dia após a IA (dia 0 = estro), segundo os procedimentos básicos descritos na literatura (PIERSON *et al.*, 1988). No 7º dia após a IA, o primeiro exame ultrassonográfico dos ovários foi realizado para se verificar a localização e o diâmetro maior do corpo lúteo do cio base (CLCB) e do FD da primeira onda de desenvolvimento folicular. Um segundo exame ultrassonográfico foi realizado no 13º dia após a IA, para a verificação da formação e diâmetro maior do CLA, do diâmetro maior do CLCB e do diâmetro maior do FD da segunda onda de desenvolvimento folicular.

Juntamente com os exames ultrassonográficos, foram realizadas coletas de sangue dos animais do grupo tratado e

¹Vetecor, Calier do Brasil.

²Immunit, DPC, Los Angeles, Califórnia.

controle no 7º, 13º e no 24º dia após a IA, para mensurar-se a concentração de progesterona (P_4), pelo método de quimioluminescência². O mesmo “kit” hormonal fora validado para determinações de P_4 plasmática canina (KUTZLER *et al.*, 2003), demonstrando elevada correlação com o radioimunoensaio (RIA) ($r^2 = 0,975$ e $r^2 = 0,96$, respectivamente).

Os resultados foram processados mediante análise de variância (ANOVA) do SAEG (EUCLYDES, 1982). As diferenças das médias foram comparadas pelo teste de Tukey para o nível de 5%. Devido a heterogenicidade das variâncias, os

resultados encontrados para a concentração plasmática de P_4 foram transformados para o método de extração da raiz quadrada dos dados.

Resultados e Discussão

Dos 32 animais do grupo tratado com hCG no dia 7 após a IA, 31 desenvolveram CLA (96,87%), e destes, oito desenvolveram dois CLAs (25,80%), e um animal desenvolveu três CLAs (3,22%), resultantes da ovulação do FD e do maior folículo subordinado da primeira onda de desenvolvimento folicular (TABELA 1).

TABELA 1 – DADOS DA FORMAÇÃO DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE 2500 UI DE hCG INTRAMUSCULARMENTE, EM NOVILHAS E VACAS DA RAÇA CARACÚ E CHAROLESA. PALMEIRA (PR), 2003 (n = 62) (%).

Crítérios	Tratamento (n=32)	Controle (n=30)
Animais que desenvolveram um CLA.	96,87 (31/32)	-
Animais que desenvolveram dois CLAs.	25,80 (8/32)	-
Animais que desenvolveram três CLAs.	3,22(1/32)	-

CLA = Corpo Lúteo Acessório.

Estes resultados são concordantes com os relatos de outros pesquisadores (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996ab; KERBLER *et al.*, 1997; DIAZ *et al.*, 1998; SANTOS *et al.*, 2001; NISHIGAI *et al.*, 2002), os quais semelhantemente observaram a formação do CLA, variando de 83,33 a 100% dos animais tratados com hCG após a IA.

Na TABELA 2 são apresentados os dados dos 62 animais para as características diâmetro maior do FD e do CL no 7º e no 13º dia após a IA, assim como o diâmetro maior do CLA.

O diâmetro maior do CLCB no 7º e 13º dia após a IA e o diâmetro maior do FD no 7º e 13º dia após a IA não diferiram entre os grupos ($P > 0,05$), confirmando os achados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a), os quais trabalhando com vacas holandesas no período do pós-parto, não verificaram diferenças no diâmetro dessas estruturas, para os animais tratados com hCG e os controles.

O CLA foi detectado no 13º dia após a IA fazendo-se a distinção do CLCB em função do

diâmetro ser menor e sua ecogenicidade menor neste estágio de desenvolvimento. O diâmetro do CLA e do CLCB (18,3 mm e 21,3 mm, respectivamente) diferiu entre os animais tratados ($P < 0,05$) no 13º dia após a IA (TABELA 2), corroborando os resultados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996ab), DIAZ *et al.* (1998) e MARQUES *et al.* (2002), os quais também observaram semelhantes diferenças entre os dois tipos de CL.

SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996b) atribuíram o menor diâmetro do CL induzido (CLA) pelo hCG, ao desenvolvimento inadequado do folículo ovulatório durante a fase luteal, fase esta com elevada concentração de P_4 . IRELAND e ROCHE (1983) vêm reforçar esta conceituação em função de que a maturação e o desenvolvimento do folículo ovulatório ocorre durante a fase folicular, período que é caracterizado por P_4 basal.

Na TABELA 3 são apresentados os dados de concentração de P_4 no dia 7, 13 e 24 após a IA, dos 62 animais das raças Charolesa e Caracú.

TABELA 2 – VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE O DIÂMETRO MAIOR DO CLCB E DO FD DO DIA 7 E 13 APÓS A IA, DO DIÂMETRO MAIOR DO CLA E DE SEU DIÂMETRO EM RELAÇÃO AO CLCB DO DIA 13 APÓS A IA EM VACAS. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).

	Tratamentos	Medias	Desvio-Padrão	Valor F	Coef. Variação
Diâmetro maior do CLCB no 7º dia após a IA.	hCG	21,28 ^a	4,40	0,128	21,798
	Controle	20,37 ^a	3,86		
Diâmetro maior do CLCB no 13º dia após a IA.	hCG	21,37 ^b	3,74	2,772	15,369
	Controle	19,88 ^{bc}	3,44		
Diâmetro maior do CLA.	hCG	18,36 ^c	3,72	4,120	22,238
	Controle	-	-		
Diâmetro maior do FD no 7º dia após a IA.	hCG	15,20 ^d	4,28	3,570	26,302
	Controle	13,42 ^d	3,19		
Diâmetro maior do FD no 13º dia após a IA.	hCG	13,70 ^e	3,19	0,888	27,229
	Controle	13,42 ^e	3,70		

^{a,b,c,d,e} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

CLCB = Corpo Lúteo do Cio Base.

CLA = Corpo Lúteo Acessório.

FD = Folículo Dominante.

IA = Inseminação Artificial.

Observa-se na TABELA 3 que as concentrações médias de P₄ plasmática no dia 7 (1,74 ng/mL e 1,56 ng/mL) não diferiram entre os grupos (P>0,05) tratado e controle, respectivamente, corroborando os resultados encontrados por SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992) e SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a). Contudo a concentração plasmática média de P₄ no dia 24 após a IA, diferiu (P<0,05) entre os animais do grupo tratado e controle (4,28 ng/mL e 2,64 ng/mL), corroborando os resultados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992), ao verificarem diferença na concentração de P₄ no dia 24 após a IA, para vacas holandesas em lactação tratadas com hCG e controle (14,0 ng/mL e 8,0 ng/mL) (P<0,001), respectivamente. No dia 13 após a IA, a concentração plasmática de P₄ diferiu

mais profundamente (P<0,0001) entre os animais do grupo tratado e controle (6,53 ng/mL e 2,86 ng/mL, respectivamente). Estes resultados confirmam os achados de MARQUES *et al.* (2002) os quais haviam observado diferença na concentração de P₄ no dia 13 após a IA, entre os animais do grupo tratado e controle (8,42 ng/mL e 4,83 ng/mL, respectivamente).

A maior concentração plasmática de P₄ no dia 13 e 24 em prol dos animais do grupo tratado deveu-se provavelmente à secreção adicional de P₄ pelo CLA, estando nossos resultados de acordo com os achados de MARTIN *et al.* (1990) e SCHMITT *et al.* (1996ab). FRICKE *et al.* (1993) relatam que neste estágio do ciclo estral, além da secreção adicional de P₄ pelo CLA, ocorre também a estimulação do CLCB.

TABELA 3 – VALORES MÉDIOS, DESVIO-PADRÃO, VALORES DE F E COEFICIENTE DE VARIAÇÃO REFERENTES AO EFEITO DO TRATAMENTO SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE PROGESTERONA (P₄) NO DIA 7, 13 E 24 APÓS A IA EM VACAS. PALMEIRA, (PR), 2003 (n = 62).

	Tratamentos	Medias	Desvio-Padrão	Valor F	Coef. Variação
Concentração de P ₄ no 7 ^o dia após a IA.	HCG	1,74 ^a	1,09	0,010	24,155
	Controle	1,56 ^a	1,03		
Concentração de P ₄ no 13 ^o dia após a IA.	HCG	6,53 ^b	3,85	14,473	32,196
	Controle	2,86 ^c	1,90		
Concentração de P ₄ no 24 ^o dia após a IA.	HCG	4,28 ^d	3,16	4,796	33,956
	Controle	2,64 ^e	1,83		

^{a,b,c} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si (P<0,0001).

^{d,e} letras diferentes na mesma coluna indicam valores que diferem estatisticamente entre si (P<0,05).

Conclusões

Frente aos resultados obtidos, o experimento possibilitou concluir que:

- O tratamento com o hCG foi eficaz em 96,87% na indução da ovulação do FD da primeira onda folicular.

- O CLA induzido pela ovulação do FD da primeira onda folicular pós estro, após o tratamento com hCG é menor do que o CLCB do mesmo ciclo, averiguado no 13^o dia após a IA (P<0,0001).

- Houve aumento significativo na concentração plasmática de P₄ nos dias 13 (P<0,0001) e 24 (P<0,05) após a IA para os animais tratados com o hCG no dia 7 após a IA em relação ao grupo controle.

Referências

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O. MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R.; BO, G. A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. **Theriogenology**, New York, v. 55, p. 355, 2001.

BELTRAN, M. P.; VASCONCELOS, J. L. M.; SANTOS, R. M.; DEMETRIO, D. G. B.; BARROS, C. M.; WECHSLER, F. S. Efeito do tratamento com GnRH ou hCG no dia 5 após a IA nas taxas de concepção em vacas Holandesas lactantes durante o verão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n. 3, p.440-442, Jul./Set., 2003.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 56, p. 1451-1463, 2001.

DE LOS SANTOS-VALADEZ, S.; SEIDEL JR, G. E.; ELSDEN, R. P. Effect of hCG on pregnancy rates in embryo transfer recipients. **Theriogenology**, New York, v.17, p. 85, 1982.

DIAZ, T.; SCHMITT, E. J. P.; DE LA SOTA, P. 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**, Savoy, v. 76, p. 1929-1936, 1998.

EUCLYDES, R. F. Sistema de análise estatística e genética (SAEG). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Central de Processamento de Dados, 1982. 68p.

- FRICKE, P. M.; REYNOLDS, L. P.; REDMER, D. A. Effect of human chorionic gonadotropin administered early in the estrous cycle on ovulation and subsequent luteal function in cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 71, p. 1242-1246, 1993.
- IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: changes in concentrations of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins in follicles. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 57, p.157-167, 1983.
- KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 47, p. 703-714, 1997.
- KUTZLER, M. A.; MOHAMMED, H. O.; LAMB, S. V.; MEYERS-WALLEN, V. N. Accuracy of canine parturition date prediction from the initial rise in preovulatory progesterone concentration. **Theriogenology**, New York, v. 60, p. 1187-1196, 2003.
- MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; BO, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian ultrasonography and plasma progesterone concentration in *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers administered different treatments on day 7 of the estrous cycle. **Theriogenology**, New York, v. 57, n.1, p. 548, 2002.
- MARTIN, T. L.; SWANSON, L. V.; APPELL, L. H.; ROWE, K. E.; STORMSHAK, F. Response of the bovine corpus luteum to the increased secretion of luteinizing hormone induced by exogenous gonadotropin releasing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, New York, v. 7, p. 27, 1990.
- NISHIGAI, M.; KAMOMAE, H.; TANAKA, T. Improvement of pregnancy rate in japanese black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. **Theriogenology**, New York, v. 58, p. 1597-1606, 2002.
- PIERSON, R. A.; KASTELIC, J. P. GINTHER, J. O. Basic principles and techniques for transretal ultrasonography in cattle and horses. **Theriogenology**, New York, v. 29, p. 3-20, 1988.
- SANTOS, J. E. P.; THATCHER, W. W.; POOL, L.; OVERTON, M. W. Effect of human chorionic gonadotrophin on luteal function and reproductive performance of high producing lactating Holstein dairy cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 79, p. 2881-2894, 2001.
- SCHMITT, E. J. P.; DIAZ, T.; BARROS, C. M.; DE LA SOTA, R. L.; DROST, M.; FREDRIKSSON, E. W.; STAPLES, C. R.; THORNER, R.; THATCHER, W. W. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 74, p. 1074-1083, 1996a.
- SCHMITT, E. J. P.; BARROS, C. M.; FIELDS, M. J.; DIAZ, T.; KLUGE, J. M.; THATCHER, W. W. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotrophin releasing hormone agonist or human chorionic gonadotrophin on day five of the estrus cycle. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 74, p. 1915-1929, 1996b.
- SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy rates in cows. **Theriogenology**, New York, v. 38, p. 85-96, 1992.
- SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R.; HARVEY-CLARK, C. Are corpórea lútea induced by human chorionic gonadotropin (hCG) given on day 7 of the bovine estrous cycle functional?. **Theriogenology**, New York, v. 41, p. 293, 1994.
- SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R. Effect of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on follicular dynamics and cycle length in cows. **Theriogenology**, New York, v. 45, p. 583-592, 1996a.
- SIANANGAMA, P. C.; RAJAMAHENDRAN, R. Characteristics of corpus luteum formed from the first wave dominant follicle following hCG in cattle. **Theriogenology**, New York, v. 45, p. 977-990, 1996b.

Recebido para publicação: 12/12/2003
Aprovado: 20/05/2004