

**GONADOTROFINA CORIÔNICA HUMANA (hCG) NA INDUÇÃO DE
CORPO LÚTEO ACESSÓRIO EM VACAS DA RAÇA CARACÚ
(Induction of accessory corpus luteum in caracu breed cows by
human chorionic gonadotropin)**

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

¹Mestrando em Patologia Animal, Medicina Veterinária -UFPR, Curitiba – Paraná – Brasil.
jorkaef@ig.com.br;

²Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias – UFPR;

³Curso de Medicina Veterinária – PUC-PR.

RESUMO – No período de setembro de 2003, 31 vacas da raça Caracu, com idade média de 5 anos, inseminadas artificialmente (AI) no estro base, foram divididas em dois grupos: G1 - grupo tratado (n=16) e G2 - grupo controle (n=15). No 7º dia após a IA, os animais dos G1 e G2 receberam respectivamente 2.500 UI de hormônio coriônico gonadotrófico (HCG) e 1,0 ml de solução fisiológica estéril intramuscularmente. Foram realizados monitoramentos ultra-sonográficos para verificação da localização e diâmetro do corpo lúteo (CL) do cio base e do folículo dominante (FD) da 1ª onda de desenvolvimento folicular no 7º dia após a IA. No 13º dia após a IA, um segundo exame ultra-sonográfico foi conduzido para se verificar a existência e o diâmetro do corpo lúteo acessório gerado do FD da primeira onda folicular e do CL. Das 16 vacas tratadas, 15 (93,7%) desenvolveram um CL acessório e destas, quatro (26,6%) demonstraram dois CL acessórios. Dos animais controles nenhum desenvolveu CL acessório. O diâmetro do CL proveniente do cio base mediu no 7º dia $20,6 \pm 4,3$ e $20,3 \pm 3,1$ mm nos grupos 1 e 2 respectivamente, e $21,1 \pm 2,8$ e $20,1 \pm 3,1$ mm no 13º dia após a IA, não diferindo estatisticamente entre os grupos ($P > 0,05$). O diâmetro do folículo dominante no 7º dia pós IA nos G1 e G2 foram respectivamente $13,1 \pm 2,7$ e $13,2 \pm 2,9$ mm. Ao se comparar o diâmetro do FD entre os grupos G1 e G2, no 13º dia pós IA (respectivamente $13,7 \pm 2,9$ e $11,5 \pm 1,7$ mm) ocorreu diferença ($P < 0,05$). Na comparação do diâmetro do CL acessório no 13º pós IA e o CL do cio base houve diferença ($P < 0,05$) entre os grupos ($18,4 \pm 3,8$ e $21,1 \pm 2,8$ mm respectivamente para G1 e G2). Concluiu-se que o tratamento com hCG no 7º dia após a IA induziu significativamente a formação do CL acessório em 93,7 % dos animais, através da ovulação do FD da primeira onda de desenvolvimento folicular em vacas da raça Caracú.

Palavras chaves: HCG, Caracú, corpo lúteo acessório, folículo dominante.

ABSTRACT – During the period of September of 2003, 31 cows of Caracú breed, average of 5 years of age, were artificially inseminated (AI) at the estrus, and divided in two groups: G1 – treated group (n=16) and G2 – control group (n=15). At the 7th day after the AI, groups G1 and G2 were given 2,500 IU of human chorionic gonadotropin (HCG) and 1.0 ml of intramuscular sterile physiologic solution, respectively. A series of ultrasound monitoring were performed to access the location and size of the corpus luteus (CL) of estrum and dominant follicle (FD) of the 1st wave of follicular development at the 7th day after the AI. At the 13th day after the AI, a second ultrasound examination was performed to verify the presence and diameter of the accessory CL produced from the DF of the 1st follicular wave and CL. Of the 16 cows treated, 15 (93.7%) developed an accessory CL, from which four (26.6%) showed two accessory CL. The diameter of the CL from the basis estrum measured at the 7th day 20.6 ± 4.3 and 20.3 ± 3.1 mm in the groups 1 and 2, respectively and 21.1 ± 2.8 and 20.1 ± 3.1 mm at the 13th after the AI; no statistical differences were found between groups ($P > 0.05$). The diameter of the dominant follicle at the 7th day after IA in the groups G1 and G2 were 13.1 ± 2.7 and 13.2 ± 2.9 mm, respectively. Statistical differences were found ($P < 0.05$) when the DF diameter was compared between groups G1 and G2 at the 13th day after AI (13.7 ± 2.9 and 11.5 ± 1.7 mm). When compared the diameter of accessory CL at the 13th after AI and the CL at the estrum basis, statistical difference

was found ($P < 0.05$) between groups (18.4 ± 3.8 and 21.1 ± 2.8 mm for G1 and G2, respectively). In conclusion, the treatment with HCG at the 7th day after the IA significantly induced the formation of accessory CL in 93.7% of the cows, through the DF ovulation of the 1st wave of the follicular development in cows of Caracú breed.

Key words: hCG, Caracú, accessory corpus luteum.

Introdução

Em bovinos e em outros mamíferos o estabelecimento e a manutenção da prenhez depende da contínua secreção de P4 pelo CL. Este processo deve continuar além do período quando a regressão luteal normalmente ocorre em ciclos reprodutivos sem a fecundação (WEISAK, 1989). Há ampla evidência, porém, sugerindo que significativo percentual de perda embrionária na maioria das espécies de mamíferos é atribuída a função luteal materna inadequada (LUKASZEWSKA e HANSEL, 1980; LAMMING, *et al.*, 1989).

Um fator que contribui para a perda de embriões é a função do CL (BULLMAN e LAMMING, 1978). Conseqüentemente, hormônios gonadotrópicos como o HCG tem sido usados para melhorar a função do CL inadequado em bovino (WILTBANK *et al.*, 1961; MORRIS *et al.*, 1976; EDUVIE e SEGUIN, 1982).

A função inadequada do CL é caracterizada por ciclos estrais de normal duração, mas com concentração de P4 que abaixo dos níveis limiares de aproximadamente 1.0 a 1.5 ng/ml. Para reduzir a incidência de perda embrionária precoce, a maioria causada por função inadequada de CL, muitas medidas corretivas tem sido sugeridas. Isto inclui, utilizar a progesterona (P4) (suplementação) (FLINT *et al.*, 1990; NORTHEY *et al.*, 1985; ROBINSON *et al.*, 1989); infusão uterina de vesículas embrionárias ou de seus produtos (BEAL *et al.*, 1981; HANLY, 1961); ou injeção de agentes luteotrópicos como o LH (DONALDSON e HANSEL, 1965), o GnRH (LEWIS *et al.*, 1990; NAKAO *et al.*, 1983) ou o hCG (ROBINSON *et al.*, 1989; PRICE e WEBB, 1989; WILTBANK, *et al.*, 1961).

Um método viável para o aumento da função do CL insuficiente tem sido o uso do HCG. Ele foi utilizado no passado, porém caracterizou-se

por resultados inconsistentes. Em trabalhos SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1992); RAJAMAHENDRAN e SIANANGAMA (1992) foi relatado um modelo para o tratamento da hipofunção do CL. Foi preconizado o uso de injeção intramuscular de hCG administrado no momento da IA (Dia 0), ou no dia 7 ou 14 após a IA. O momento da aplicação do HCG foi determinado (TAYLOR e RAJAMAHENDRAN, 1991) pela presença de folículos dominantes nesses momentos citados. O maior número de ovulações induzidas e altas taxas de gestação obtidas foi observada nos animais que receberam HCG no dia 7 após a AI (SIANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1992). As melhorias nas taxas de prenhez após o uso de hCG deveu-se a um possível mecanismo estimulante mediado pela progesterona (P4) advindo de produtos embrionários envolvidos nos mecanismos anti-luteolíticos. O aumento na secreção de P4, após o uso de HCG no dia 7, pode ser atribuído a estimulação do CL do cio base, indução do CL acessório, uma combinação de ambos os caminhos.

Relatos dos efeitos da administração de hCG sobre as concentrações de P4 variam consideravelmente. Alguns relatos mostram aumentos significativos das concentrações periféricas de P4 (BENNETT *et al.*, 1989; WALTON *et al.*, 1990), outros estudos tem falhado em demonstrar o aumento da concentração de P4 na circulação periférica (DE LOS SANTOS-VALADEZ *et al.*, 1982; SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1992).

O presente trabalho objetivou a formação do corpo lúteo acessório e outras características inerentes, tais como aumento na taxa de prenhez, através da ovulação do folículo dominante da primeira onda de desenvolvimento folicular após a inseminação artificial (AI) em vacas da raça Caracu, empregando-se o HCG como indutor desse processo.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na fazenda Guaraúna, no município de Palmeira (PR), sendo utilizadas 31 vacas da raça Caracú, com idade média de 5 anos. Estes animais foram divididos em dois grupos: grupo tratamento (n=16) que recebeu uma injeção intramuscular de 2.500 UI de hCG e um grupo controle (n=15) que recebeu uma injeção intramuscular de 1 ml de solução fisiológica estéril no 7º dia após a IA.

Os animais foram monitorados por ultrasonografia transretal, com um transdutor linear de 5 Mhz (Aloka), no 7º e 13º dia após a inseminação artificial (dia da IA = dia 0). No 7º dia, o primeiro exame ultrassonográfico foi realizado para a verificação e localização do diâmetro maior do corpo lúteo fisiológico do cio base e do folículo dominante da primeira onda de desenvolvimento folicular. Um segundo exame ultra-sonográfico, foi realizado no 13º dia após a IA, para a verificação da formação e do diâmetro maior do corpo lúteo acessório, do diâmetro maior do corpo lúteo do cio base e do

diâmetro maior do folículo dominante da segunda onda de desenvolvimento folicular, caso presente.

Os animais recebiam como fonte alimentar, pastagens de azevém e suplemento de sal mineral de acordo com a sua categoria de produção. Os resultados foram processados estatisticamente, utilizando-se o teste "t" de Student, e do teste do Qui-quadrado, segundo CAVALLI-SFORZA (1974).

Resultados e Discussão

Das 16 vacas do grupo tratado com hCG, 15 desenvolveram um corpo lúteo acessório (93,7%), e destas, quatro desenvolveram dois corpos lúteos acessórios (26,6%), resultantes da ovulação do folículo dominante da primeira onda de desenvolvimento folicular. Este achado coincide com os de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996b), que em seu experimento observaram a formação do corpo lúteo acessório em todos os animais tratados com hCG no 7º dia após a IA.

TABELA 1 – DIÂMETRO MAIOR DO CORPO LÚTEO DO CIO BASE E DO FOLÍCULO DOMINANTE NO 7º E 13º DIA APÓS A IA, DIÂMETRO MAIOR DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO E PORCENTAGEM DE FORMAÇÃO DO CORPO LÚTEO ACESSÓRIO EM VACAS DA RAÇA CARACÚ. PALMEIRA, PR, 2003. (n = 31).

Critérios	Tratamento (n=16)	Testemunha (n=15)
Ø maior do CL do cio base no 7º dia após a IA(mm)	20,68 ± 4,31	20,35 ± 3,12
Ø maior do FD no 7º dia após a IA(mm)	13,18 ± 2,71	13,25 ± 2,98
Ø maior do CL do cio base no 13º dia após a IA(mm)	21,12 ± 2,8 ^c	20,13 ± 3,18
Ø maior do FD no 13º dia após a IA(mm)	13,75 ± 2,96 ^a	11,5 ± 1,74 ^b
Ø maior do CL acessório no 13º dia após a IA(mm)	18,46 ± 3,85 ^d	-
% de vacas que desenvolveram um CL acessório.	93,7 (15/16)	-
% de vacas que desenvolveram dois CL acessório.	26,6 (4/15)	-

a : b p < 0,05 c : d p < 0,05

SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a) observaram que a administração de hCG no dia 7 resultou na ovulação do 1º folículo dominante em 5 vacas das 6 trabalhadas. As 5 vacas ovularam tanto o dominante quanto o segundo maior folículo e tiveram 2 CL espontâneos após o tratamento com hCG endovenosamente.

Relativamente aos nossos achados (TABELA 1), o diâmetro maior do CL do cio base no 7º e 13º dia após a IA e o diâmetro maior do folículo dominante (FD) no 7º dia após a IA não diferiram entre os grupos (P>0,05), confirmando os

achados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a). Contudo o diâmetro maior do FD no 13º dia após a IA diferiu entre os grupos (P<0,05), discordando dos achados de SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a), os quais observaram idêntico diâmetro nessa característica. O CL acessório foi detectado no dia 13 após a IA e foi distinguido do CL do cio base, devido ao diâmetro menor e ecogenicidade reduzida neste estágio de desenvolvimento. O diâmetro do CL induzido e do CL do cio base (respectivamente 18,46 ±

3,85 e 21,12 ± 2,8) diferiram significativamente nos animais tratados ($P < 0,05$) no 13º dia após a IA, corroborando os resultados encontrados por SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996a,b).

SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN (1996b) atribuíram diâmetro menor do CL induzido pelo hCG observado em seus trabalhos, ao desenvolvimento inadequado do folículo ovulatório. A maturação e o desenvolvimento do folículo ovulatório ocorre durante a fase folicular, um período que é caracterizado por P4 basal e o surgimento de concentrações de FSH e LH, muitos dias antes do surgimento de gonadotrofinas (IRELAND e ROCHE, 1983). A sincronia desses eventos tem um importante papel no crescimento, maturação final e ovulação do folículo dominante do proestro. Portanto, o aumento de P4 e a falta do aumento transitório de gonadotrofinas imediatamente antes da ovulação do folículo dominante da primeira onda pode explicar o menor diâmetro do CL induzido, comparado com o CL do cio base da mesma idade (SIANANGAMA e RAJAMAHENDRAN, 1996b).

Evidências indicam que o hCG influencia proporções relativas de células luteais esteroidogênicas constituintes do CL (FARIN *et al.*, 1988; WEISAK, 1989). Em estudos conduzidos em ovelhas (FARIN *et al.*, 1988) e em porcas (WEISAK, 1989), o hCG reduziu o número de células luteais pequenas que possuem maioria de receptores de LH e são mais responsivos ao estímulo luteotrópico (RODGERS e O'SHEA, 1982).

Concluiu-se que o tratamento com o HCG foi significativamente eficaz na indução da ovulação do folículo dominante da primeira onda folicular (7º dia após a IA), formando corpo lúteo acessório. Embora não constitua objetivo do trabalho, essa característica sinaliza ganhos na taxa de prenhez, pelo aumento da P4 circulante. O CL formado pela ovulação do folículo dominante da primeira onda, após o tratamento com HCG é menor do que o CL fisiológico do mesmo período (13º dia após a IA).

Referências

- BEAL, W.E.; LUKASZEWSKA, J.H.; HANSEL, W. Luteotropic effects of bovine blastocysts. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.52, p.567-574, 1981.
- BENNETT, W.A.; GONZALEZ, L.V.; STUART, M.J.; FUGUAY, J.W. Effects of human chorionic gonadotropin pretreatment on endocrine, cytological and prostaglandin F_{2a} receptor patterns of the bovine corpus luteum. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.19, p.179-189, 1989.
- BULLMAN, D.C; LAMMING, G.E. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing a cyclicity in dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.54, p.447-458, 1978.
- CAVALLI-SFORZA, L. **Biometry – grundzuge biologisch-medizinischer Statistik**. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1974. p.69-80.
- 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. Resumo.
- DONALDSON, L.E.; HANSEL, W. Prolongation of life span of the bovine corpus luteum by single injection of bovine luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.48, p.903-904, 1965.
- EDUVIE, L.O.; SEGUIN, B.E. Hábeas luteum function and pregnancy rates in lactating dairy cows given human chorionic gonadotropin at mid diestrus. **Theriogenology**, New York, v.17, p.415-422, 1982.
- FARIN, C.E; MOELLER, C.L; MAYAN, H.; GAMBONI, F.; SAWYER, H.R.; NISWENDER, G.D. Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. **Biology of Reproduction**, Madison, v.38, p.413-421, 1988.
- FLINT, A.P.F.; HEARN, J.P.; MICHAEL, A.E. The maternal recognition of pregnancy in mammals. **Journal of Zoology**, Cambridge, v.221, p.327-341, 1990.
- HANLY, S. Prenatal mortality in farm animals. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.2, p.182-194, 1961.
- 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.
- LAMMING, G.E.; DARWASH, A.O.; BACK, H.L. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.37, p.245-252, 1989.

Gonadotrofina coriônica humana (hCG) na indução de corpo lúteo acessório em vacas da raça Caracú

- LEWIS, G.S.; CALDWELL, D.W.; REXROAD JR, C.E.; DOWLEN, H.H.; OWEN, J.R. Effects of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on pregnancy rate in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.73, p.66-72, 1990.
- LUKASZEWSKA, J.; HANSEL, W. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.59, p.485-493, 1980.
- MORRIS, L.M.; GONZALEZ-PADILLA, E.; NISWENDER, G.D.; WILTBANK, J.N. Peripheral progesterone levels in pregnant and non-pregnant heifers following use of hCG. **Theriogenology**, New York, v.6, p.367-378, 1976.
- NAKAO, T.; NARITA, S.; TANAKA, K.; HORN, H.; SHIRIKAWA, J.; NOSHIRO, H.; SAGA, N.; TSUNODA, H.; KAWATA, K. Improvement of first-service pregnancy rate in cows with gonadotropin-releasing hormone analogue. **Theriogenology**, New York, v.20, p.111-119, 1983.
- NORTHEY, D.C.; BARNES, F.L; EYESTONE, W.H.; FIRST, N.L. Relationship of serum progesterone, luteinizing hormone and the incidence of pregnancy in bovine embryo transfer recipients. **Theriogenology**, New York, v.23, p.214, 1985. Resumo.
- PRICE, C.A.; WEBB, R. Ovarian response to hCG treatment during the estrous cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.86, p.303-308, 1989.
- RAJAMAHENDRAN, R.; SIANANGAMA, P.C. Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on dominant follicles in cows: formation of accessory corpora lutea, progesterone production and pregnancy rates. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.95, p.577-584, 1992.
- ROBINSON, N.A.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.72, p.202-207, 1989.
- RODGERS, R.J.; O'SHEA, J.D. Purification, morphology and progesterone production and content of three types of luteal cells isolated from the corpus luteum of sheep. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v.35, p.441-445, 1982.
- 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. 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.
- TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics and corpus luteum growth and function in pregnant versus non-pregnant dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.74, p.115-123, 1991.
- WALTON, J.S.; HOLBERT, G.W.; ROBINSON, N.A.; LESLIE, K.E. Effects of progesterone and human chorionic gonadotropin administration five days post insemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v.54, p.305-308, 1990.
- WEISAK, T. Effect of pregnancy, injection of estradiol benzoate or hCG on steroid concentration and release by pig luteal cells. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v.86, p.247-254, 1989.
- WILTBANK, J.N.; ROTHLSBERGER, J.A.; ZIMMERMAN, D.R. Effect of human chorionic gonadotropin on maintenance of the corpus luteum and embryo survival in the cows. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.20, p.827-829, 1961.

Recebido: 26/06/2003

Aprovado: 27/10/2003