

Uso da gonadotrofina coriônica eqüina em receptoras de embriões para avaliar o incremento da progesterona endógena no dia da inovulação e sua correlação com a taxa de prenhez

Egon José Fuck^{1*}, Gentil Vanini de Moraes², Elias Nunes Martins², Alencariano José da Silva Falcão³, Carlos Marins Rodrigues⁴, Rejane Machado Cardozo² e Ciro Moraes Barros⁵

¹Hospital Veterinário S.O.S. Animal, Av. Pres. J.K. de Oliveira, 1213, Zona 2, 87010-440, Maringá, Paraná, Brasil.

²Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil.

³Escola Superior de Ciências Agrárias, Guarapuava, Paraná, Brasil. ⁴Médico Veterinário autônomo. ⁵Instituto de Biociências, Depto de Farmacologia, Universidade Estadual Paulista, 18618-000, Botucatu, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. e-mail: cmbarras@ibb.unesp.br

RESUMO. O experimento foi realizado com a finalidade de avaliar a influência da administração de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) em receptoras de embrião na formação de corpos lúteos acessórios e a correlação com o índice de prenhez. Utilizaram-se 64 novilhas de 18 a 30 meses de idade, mestiças Simental, com peso médio de 400 kg, as quais foram avaliadas por palpação retal, entre os dias 7 e 12 após a manifestação do cio, considerado como cio base. Neste intervalo de 7 a 12 dias após o cio, definido como dia zero (D0), os animais que se encontravam com corpo lúteo fisiológico foram divididos, aleatoriamente, em 4 tratamentos, sendo que os animais do tratamento 1 (controle, n=21), receberam solução fisiológica, via intramuscular (IM); no tratamento 2 (n=14) receberam 200 UI de eCG (FOLLIGON® - Intervet), via IM; no tratamento 3 (n=16), receberam 400 UI de eCG, via IM; e no tratamento 4 (n=13), receberam 600 UI de eCG, via IM. Transcorridos 2 dias (D2) da aplicação do eCG, administrou-se 2 mL de prostaglandina F₂ alfa (PROSOLVIN® - Intervet) por animal. Em seguida, observou-se a manifestação de cio e, 7 dias após a sua detecção, avaliou-se os animais, por ultrassonografia, para seleção das fêmeas aptas a receber os embriões congelados. Vinte e três dias após a inovulação, procedeu-se ao diagnóstico de prenhez por ultrassonografia. Não houve diferença (P>0,05) para a taxa de prenhez. Concluiu-se que o uso de eCG em receptoras de embrião congelado não melhorou os índices de aproveitamento das receptoras nem a taxa de prenhez.

Palavras-chave: corpo lúteo, eCG, novilhas de corte, progesterona, receptoras, transferência de embrião.

ABSTRACT. Use of equine chorionic gonadotrophin in heifers embryo receptors to evaluate the increment of endogenous progesterone in the inovulation day in relation to pregnancy rate. The experiment was carried out to evaluate the influence of pregnant Mare Serum Gonadotrophin (eCG) administration in embryo receptors on the formation of accessory corpus luteum and correlation with the pregnancy rate. Sixty-four beef cattle heifers -18 to 30 months old were used, ½ Simental, with 400 kg of average live weight. The heifers were evaluated through rectal palpation between days 7 to 12 after heat detection, considered as heat base. In this interval from 7 to 12 days after the heat, defined as zero day (D0), the animals identified with physiological corpus luteum were divided in four treatments. The animals in treatment 1 (control, n=21) received physiologic solution intramuscle (IM); in treatment 2 (n=16) received 200 IU of eCG (FOLLIGON® - Intervet), IM; in treatment 3 (n=14) received 400 IU of eCG IM; and in treatment 4 (n=13) received 600 IU of eCG IM. Two days after (D2) eCG application all the animals received 2.0 mL of prostaglandin F₂ alpha (PROSOLVIN® - Intervet). Following, the animals' heat manifestation was observed, and, seven days after heat detection, the animals were evaluated for ultrasonography to select females able to receive frozen embryos. Twenty-three days after inovulation, the pregnancy diagnostic was detected through ultrasonography. There was no statistic difference (p>0.05) for pregnancy rate. These results show that eCG used in receptors of frozen embryos neither improved the receptors' performance rate, nor the pregnancy rate.

Key words: corpora luteum, eCG, beef cattle heifer, progesterone, receptors, embryo transfer.

Introdução

Atualmente, a transferência de embrião é uma das alternativas aplicadas no melhoramento bovino que possibilita retirar o máximo possível de descendentes de um animal de alto valor genético, tendo aplicações no melhoramento genético, na melhoria da eficiência dos testes de progênie e na diminuição dos custos. Facilita, também, os trâmites nas importações e exportações de material genético, evitando disseminação de doenças infecciosas, além de ser muito útil na pesquisa (Mapletoft, 1995).

Na transferência de embrião verifica-se que um fator importante nos custos está relacionado com a manutenção de grande número de receptoras por doadora e, portanto, com o índice de seleção e descarte das mesmas. Por isso, se for possível aumentar o aproveitamento da maioria das receptoras, poder-se-ia diminuir os custos fixos de manutenção de animais que não são aproveitados, bem como a perda de drogas usadas para sincronização de receptoras que não são aproveitadas.

O ótimo teor plasmático de progesterona e o bom equilíbrio estrógeno/progesterona é um fator importante para obter-se bom êxito na transferência de embrião (Genazzani *et al.*, 1980 e Oliva *et al.*, 1983, *apud* Degl'innocenti *et al.*, 1984; Catchpole, 1991).

A progesterona é um dos hormônios mais importantes no desenvolvimento embrionário em gestantes. As receptoras que apresentam teor sanguíneo de progesterona acima de 4ng/mL de plasma têm maior probabilidade de se tornarem prenhas, considerando-se embriões de mesma qualidade (Gregory *et al.*, 1986; Caldas *et al.*, 1996). Portanto, se forem usadas técnicas de manejo que melhorem os teores plasmáticos de progesterona, tem-se potencial para melhorar os índices de prenhez, barateando os custos totais nos programas de transferência de embrião.

Várias tentativas têm sido feitas para estimular a produção de progesterona endógena em programas de transferência de embrião (De Los Santos-Valdez *et al.*, 1982; Greve *et al.*, 1982; Massey *et al.*, 1983; Degl'innocenti *et al.*, 1984). Degl'innocenti *et al.* (1984) utilizaram gonadotrofina coriônica equina (eCG) em receptoras bovinas e mostraram, em relato preliminar, efeito favorável à elevação da progesterona circulante. A qualidade do corpo lúteo é um dos fatores mais importantes relacionados com a taxa de prenhez de receptoras em programas de transferência de embrião, pois está diretamente

correlacionada com a concentração de progesterona plasmática (Gregory *et al.*, 1986).

Pesquisas têm sido realizadas na intenção de avaliar o corpo lúteo na seleção de receptoras (Gambarini *et al.*, 1986; Viana *et al.*, 1995), encontrando boa correlação na palpação retal e na ultra-sonografia, mas com dificuldades para os casos de corpo lúteo inclusos, em que a ultra-sonografia é superior, porém sem avaliar a condição da progesterona circulante. Battochio *et al.* (1999) verificaram correlação de 72% entre a avaliação da qualidade do corpos lúteos por ultra-sonografia com o teor de progesterona plasmática, concluindo que é difícil classificar a funcionalidade do corpo lúteo baseado somente na ultra-sonografia. Estudos que demonstraram discordância parcial entre a avaliação física do corpo lúteo por ultra-sonografia ou por palpação retal e a concentração plasmática de progesterona foram observados por Gutiérrez *et al.* (1996), os quais evidenciaram que nem sempre o corpo lúteo presente produzia progesterona em quantidades elevadas.

Thibier e Nibart (1992) enfatizaram a importância da boa qualidade do corpo lúteo das receptoras para que o mesmo possa produzir progesterona necessária até que haja a completa placentação embrionária, pois a progesterona é a responsável pela manutenção da prenhez. A luteinização e a formação dos corpos lúteos deve-se à onda pré-ovulatória do hormônio luteinizante, o que gera mudanças bioquímicas e morfológicas, bem como a reorganização geral da luteinização das células foliculares dentro do corpo lúteo (Timothy *et al.*, 1994).

Em bovinos, o aumento da fertilidade tem sido associado à alta concentração de progesterona após a cobertura (Grumer e Carrol, 1991; Britt *et al.*, 1996). Além disso, tem sido observado, em alguns trabalhos com bovinos, que o aumento do número de corpos lúteos tem relação direta com o aumento do teor de progesterona (Hansel e Convey, 1983; Degl'innocenti *et al.*, 1984; Mapletoft, 1985) e que a concentração de progesterona tem relação com o índice de prenhez (Gregory *et al.*, 1986; Grygar *et al.*, 1997).

Degl'innocenti *et al.* (1984) verificaram que com o aumento do número de corpo lúteo ou da qualidade dos mesmos (forma, tamanho), o teor de progesterona era melhor. Rigolon *et al.* (1999) reportaram que o uso de 330 UI de eCG em receptoras de bovinos, usando embriões a fresco, aumentou em 12,8% a taxa de prenhez (68,9%, n=30) em relação ao grupo controle (56,0%, n=30)

e o dobro de corpos lúteos (2,1 versus 1,0, respectivamente).

Trabalho feito por Caldas *et al.* (1996), avaliando a concentração de progesterona plasmática em receptoras da espécie bovina, no dia da inovulação, verificaram que 100% das receptoras que apresentaram concentrações plasmáticas de progesterona maiores que 4ng/mL tornaram-se gestantes.

Segundo Greve *et al.* (1982), o eCG, por ter dupla atividade: estimula, com a fração folículo estimulante (FSH), a proliferação das células foliculares e tecais, elevando os teores sanguíneos de estrógenos e, com a fração luteinizante (LH), exerce influência na ovulação, induzindo à luteinização das células da granulosa com a conseqüente formação do corpo lúteo. A ação sinérgica do FSH e do LH gera aumento do nível do Monofosfato de Adenosina Cíclica (AMPc), na célula do corpo lúteo, favorecendo a transformação do colesterol em pregnenolona e deste em progesterona. As células grandes do corpo lúteo parecem produzir mais de 80% de progesterona secretada durante a fase luteal medial do ciclo estral (Niswender *et al.*, 1985). A estimulação de células luteais pequenas, com doses efetivas de LH, resultam em grande aumento da secreção de progesterona, enquanto similar exposição de células luteais grandes tem pouco ou nenhum efeito (Rodger e O'shea, 1982). Fitz *et al.* (1982), usando ovelhas superovuladas, observaram que as células luteais pequenas possuíam a maioria dos receptores para LH, e as células luteais grandes a maioria dos receptores para estradiol e prostaglandinas. Chegini *et al.* (1991), contudo, observaram, em vacas ciclando normalmente, número similar de receptores de LH em células luteais grandes e pequenas.

Farin *et al.* (1988) constataram que ovelhas tratadas com altas doses de LH ou com gonadotrofina coriônica humana (hCG), por 5 dias, resultaram em significativo aumento no número de células luteais grandes e concomitante decréscimo no número de células luteais pequenas. Os mesmos autores observaram que muitas células pareciam ser intermediárias entre células pequenas e grandes, o que não foi observado nos animais não-tratados. Esses dados podem indicar que células pequenas são convertidas em células grandes, mas não se sabe ainda se isso ocorre sob condições normais.

Hirako *et al.* (1995) administraram 500 UI de eCG em bovinos, no dia da ovulação (D0), para promover a formação de corpo lúteo (Grupo A; n=5) e, no dia 7, para estimular a função luteal (Grupo B; n=6) e observaram que o ciclo estral no

Grupo A foi mais curto e no Grupo B foi mais longo, quando comparado com o Grupo controle. As concentrações de 17 beta-estradiol foram significativamente aumentadas nos dois grupos, sem excessivo desenvolvimento folicular. Esses autores concluíram que a administração de eCG teve um efeito luteal adverso no Grupo A, pois não houve aumento da concentração de progesterona quando comparado com o Grupo B, que elevou a concentração de progesterona e manteve-se alto quando comparado com o Grupo controle.

Também é importante ressaltar que, em programas de manejo nutricional e reprodutivo, a condição corporal tem sido utilizada como ferramenta, em gado de corte e leite, para quantificar as reservas energéticas dos animais durante períodos produtivos. O escore é baseado em observações visuais e palpções em áreas específicas para avaliar-se, subjetivamente, os depósitos de gordura nos tecidos e músculos. A redução no consumo energético está associada a perdas no peso corpóreo, que, por sua vez, associam-se a mudanças na condição corporal, prejuízo na ovulação, decréscimo na atividade lútea e anestro (Spitzer, 1986).

A condição corporal tem sido relatada, em trabalhos, como aspecto importante em relação à seleção de receptoras (Elsden, 1985) e discutida sua influência sobre a reprodução (Spitzer, 1986).

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o incremento da progesterona endógena em receptoras bovinas de embriões, no dia da inovulação, com o uso de diferentes doses de gonadotrofina coriônica eqüina e sua correlação com a taxa de prenhez.

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido na Fazenda São João de Maringá, município de Jateí, Estado do Mato Grosso do Sul. Utilizaram-se 77 novilhas de 18 a 30 meses de idade, mestiças Simental, com peso médio de 400 kg, das quais foram aproveitadas 64, que foram distribuídas, aleatoriamente, em 4 tratamentos: a) Grupo 1 (controle) com 21 animais, que receberam solução fisiológica; b) Grupo 2, com 14 animais, que receberam 200 UI de eCG, via intramuscular (IM); c) Grupo 3, com 16 animais, que receberam 400 UI de eCG, via IM; d) Grupo 4, com 13 animais, que receberam 600 UI de eCG, via IM. Os animais foram pré-selecionados por exame ginecológico de palpação retal para descartar-se aqueles que apresentavam más condições reprodutivas do trato genital ou defeitos anatômicos. Os animais permaneceram em condições de campo com condição corporal entre 5 e 7 pontos (escala de 1 a 9 pontos), conforme Richards *et al.* (1986).

Os animais foram mantidos, durante todo o período do experimento, em piquetes de Tanzânia (*Panicum sp.*), em sistema rotativo, com livre acesso a sal mineral e água de boa qualidade.

Tratamentos

Os animais foram avaliados por palpação retal, entre os dias 7 e 12 após a manifestação do cio natural, considerado como cio base. Neste intervalo de 7 a 12 dias após o cio, definido como dia zero "D0", os animais que se encontravam com corpo lúteo fisiológico foram divididos, aleatoriamente, em 4 tratamentos, sendo que o tratamento 1 foi considerado o tratamento controle, cujos animais receberam solução fisiológica, via IM; os animais do tratamento 2 receberam 200 UI de eCG (FOLLIGON® - Intervet), via IM; os animais do tratamento 3 receberam 400 UI de eCG, via IM; e os animais do tratamento 4 receberam 600 UI de eCG, via IM. Para todos os grupos o volume foi padronizado para 3 mL utilizando-se seringa de volume total de 3 mL com agulha 40x12. Transcorridos dois dias (D2) da aplicação do eCG, foram aplicados 2mL de prostaglandina F₂ alfa (PROSOLVIN® - Intervet). Em seguida, observou-se a manifestação de cio dos animais e, 7 dias após a detecção do cio, os animais foram avaliados, por ultra-sonografia, com aparelho SSD 550 ALOKA, com probe linear de 5 Mhz, quanto ao número e à qualidade de corpos lúteos. Nesse momento também foi feita a colheita de amostras de sangue, em duplicata, por venopunção da jugular, usando tubos tipo vacutainer com anticoagulante. As amostras foram refrigeradas por, no máximo, 12 horas, até serem centrifugadas (3000 rpm por 15 minutos, equivalente a 1307 força g ($g=28,38 \times (\text{rpm} / 1000)^2 \times \text{raio em polegadas}$) e o plasma separado e identificado. As amostras de plasma foram congeladas e estocadas a -18°C (freezer) até serem feitas as análises de progesterona (P4), pela técnica de radioimunoensaio, conforme descrito por Willians (1989). Nessa data os animais foram inovulados, pelo método não-cirúrgico, com embrião importado, descongelado por 15s na temperatura ambiente e 20s a 35°C, tendo sido utilizado como crioprotetor o etilenoglicol 1,5 M (transferência direta). Cerca de 23 dias após a inovulação, todos os animais foram novamente avaliados, por ultra-sonografia, para efetuar o diagnóstico de prenhez.

A condição corporal foi feita por avaliação visual e por palpções em áreas específicas, como os processos transversos das vértebras lombares e a

fossa perianal, para avaliar os depósitos de gordura nos tecidos e músculos, atribuindo-se pontos de 1 a 9, conforme metodologia de Richards *et al.* (1986).

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado e os dados foram analisados por meio da metodologia de modelos lineares generalizados. As variáveis analisadas neste experimento foram o teor sanguíneo de progesterona, o número de corpos lúteos, a taxa de prenhez em função do tratamento (dose de eCG) e o teor de progesterona em função do número de corpos lúteos.

No presente experimento a distribuição para taxa de prenhez foi Binomial, para progesterona foi Normal, para corpos lúteos foi Gama e para progesterona em função do número de corpos lúteos foi Normal, cujas funções de ligação foram Logit, Identidade, Identidade e Identidade, respectivamente. Os elementos dessa função linear foram estimados por meio da metodologia de modelos lineares generalizados, desenvolvida por Nelder e Wedderburn (1972), usando-se o software GLIM 4.0.

Para a parte sistemática foi admitido um modelo linear que incluiu os efeitos de tratamento. Após o estudo descritivo dos dados, procedeu-se à análise de deviance, que é uma análise do ajustamento da função de distribuição dos dados sob diferentes modelos lineares admitidos para a parte sistemática η . Essa análise consistiu em aplicar o teste F, com nível de probabilidade de 5%, para verificar a significância da redução causada na verossimilhança devido à introdução no modelo da fonte de variação a ser testada.

Resultados e discussão

O número de corpos lúteos em função das aplicações dos níveis crescentes de eCG e o teor de progesterona plasmática em função do número de corpos lúteos apresentaram efeito ($P < 0,05$), porém a taxa de prenhez e o teor de progesterona em função das doses crescentes de eCG não apresentaram efeitos ($P > 0,05$). Os dados são apresentados na Tabela 1.

Os valores obtidos neste experimento, no grupo em que recebeu 200 UI de eCG, mostraram-se semelhantes aos de Rigolon *et al.* (1999), aplicando 330 UI de Gonadotrofina Sérica de Égua Prenha (eCG) em receptoras bovinas, que obtiveram 68,5% de prenhez no grupo tratado ($n=30$), contra 56,1% do grupo controle ($n=30$).

Tabela 1. Influência dos tratamentos de receptoras de embriões com 200 UI, 400 UI e 600 UI de gonadotrofina coriônica eqüina, aplicados entre os dias 7 e 12 do ciclo estral, sobre os índices médios de prenhez, número de corpos lúteos e teor médio de progesterona plasmática, mais o desvio padrão

Parâmetros	Tratamentos			
	Controle	200 UI	400 UI	600 UI
Nº. de receptoras (77)	25	17	19	16
Aprovcitamento (64)	21 (84%)	14 (82,3%)	16 (84,2%)	13 (81,2%)
Índice de prenhez (%)	52,4±0,51	71,4±0,47	56,2±0,51	53,8±0,52
Nº. médio de Cl	1,05±0,22a	1,28±1,07 ^a	2,20±2,34b	1,00±0,00a
Teor progesterona no plasma (ng/mL)	2,80±1,88	3,70±1,95	5,80±5,76	3,11±2,90

Cl = Corpo lúteo, Nº. = Número; Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem estatisticamente (P<0,05)

Apesar de não ter havido efeito de tratamento sobre o índice de prenhez, notou-se uma elevação numérica da taxa de prenhez, quando utilizou-se uma dose de 200 UI de eCG (71,4%) e uma redução nos tratamentos com 400 UI (56,2%) e com 600 UI de eCG (53,8%). Não se tem explicações fisiológicas claras para tal fato. Talvez o eCG promova algum tipo de modificação uterina que possa induzir a destruição de corpos lúteos antes que o interferon I seja secretado e assim neutralizar os efeitos da prostaglandina F₂ alfa sobre os corpos lúteos. Outro ponto de vista é o fato do eCG ter aproximadamente 25% de efeito luteinizante e, portanto, ter promovido uma baixa eficiência na ovulação de folículos no diestro devido aos mesmos estarem abaixo do tamanho sensível ao LH, pois, de acordo com Wiltbank (1998), somente os folículos acima de 10,5mm possuem uma melhor expressão dos receptores de LH das células da granulosa, em quantidades suficientes para haver capacidade ovulatória.

De acordo com a análise estatística realizada, observou-se efeito cúbico (P<0,05) para o número de corpo lúteo em função do tratamento e, pela equação de regressão, verificou-se que o número de corpos lúteos foi máximo (2,21 corpos lúteos) na dose de 420 UI, conforme ilustra a Figura 1.

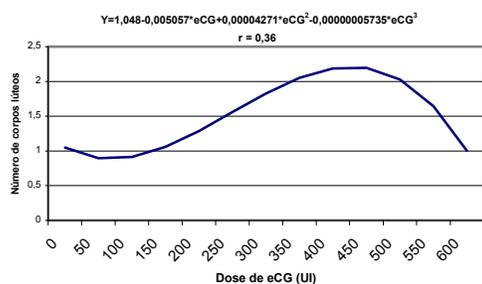


Figura 1. Comportamento do número de corpos lúteos em função da aplicação de diferentes níveis de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). P<0,05; r = correlação entre valores observados e estimativa

Resultados que se assemelham foram obtidos por Rigolon *et al.* (1999), que encontraram 2,1 corpos lúteos para animais tratados com 330 UI de eCG. Dados que sugerem aumento no número de corpos lúteos foram obtidos também por Picha *et al.* (1984), mas administrando 2000 a 3000 UI de eCG, em novilhas de leite. Ao aplicarem essa quantidade de gonadotrofina, os valores de progesterona passaram de 3,56 a 4,58 ng/mL de plasma para 11,02 ng/mL, 48 horas após. Greve *et al.* (1982), ao estudarem o efeito do eCG aplicado em novilhas, também notaram o aumento no número de corpos lúteos, fator atribuído aos efeitos da ação folículo estimulante e luteinizante existentes no eCG. Por outro lado, Hirako *et al.* (1995) administraram, em fêmeas de bovinos, 500 UI de eCG, no dia da ovulação (Grupo A) e no dia 7 após ovulação (Grupo B), e constataram efeito adverso na formação de corpos lúteos e, ao analisarem a concentração de progesterona, a mesma diminuiu com o tratamento no Grupo A, comparado aos do Grupo B e do Grupo controle.

Quanto ao teor plasmático de progesterona, observou-se, nas análises estatísticas, que ao utilizar-se uma distribuição normal apresentou significância (P<0,05), porém quando utilizou-se a distribuição Gama, não houve significância (P>0,05). Analisando os dados, não se rejeitou a hipótese de nulidade, uma vez que o erro padrão da análise, usando-se a distribuição Gama, foi menor (19%), quando comparado com a análise de distribuição Normal (26%).

Em um processo fisiológico normal esperar-se-ia que os tratamentos com eCG que promoveram a formação de maior número de corpos lúteos pudesse também elevar de forma significativa os teores de progesterona, conforme pode-se observar nos achados de Hirako *et al.* (1995), que notaram efeitos positivos da administração de 500 UI de eCG, no sétimo dia do ciclo estral sobre a concentração de progesterona. Também, Degl'innocenti *et al.* (1984), ao utilizarem eCG em receptoras bovinas, mostraram haver efeito favorável à elevação da concentração circulante de progesterona. Dentro da revisão efetuada, contudo, não foi possível encontrar trabalhos completos que pudessem ser utilizados para se comparar com os achados desta pesquisa.

Já para o nível de progesterona em função do número de corpo lúteo, observou-se efeito linear (P<0,05), como ilustra a Figura 2, e ao analisar-se a equação de regressão, verificou-se um aumento de 2,15ng/mL para cada corpo lúteo adicional promovido pelo eCG, estando em concordância com as observações de Hansel *et al.* (1983),

Degl'innocenti *et al.* (1984) e Mapletoft (1985), todos trabalhando com bovinos.

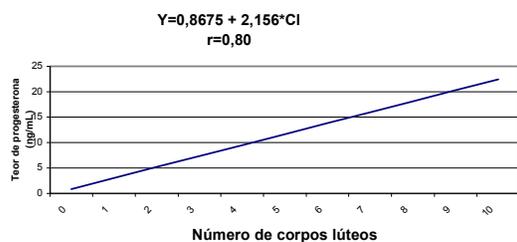


Figura 2. Comportamento do teor de progesterona em função do número de corpos lúteos (CI). $P < 0,05$; r = correlação entre valores observados e estimativa

De acordo com o número e a qualidade dos corpos lúteos analisados por palpação retal, constatou-se 84% de aproveitamento dos animais controle (21/25), 82,3% dos que receberam 200 UI de eCG (14/17), 84,2% dos que receberam 400 UI de eCG (16/19) e 81,2% dos animais que receberam 600 UI de eCG (13/16). Além disso, observou-se baixa correlação entre os níveis de progesterona e os corpos lúteos observados por palpação retal, os quais variaram de 1 a 10, tendo os valores de progesterona variado de menos de 0,2 ng/mL de plasma até 22,59 ng/mL, resultados que são semelhantes aos verificados por Battochio *et al.* (1999). Gutiérrez *et al.* (1996) também notaram baixa correlação entre a presença física de corpo lúteo observado por palpação retal ou por ultra-sonografia e a concentração plasmática de progesterona de novilhas, corroborando com os achados desta pesquisa.

Hirako *et al.* (1995) verificaram elevação dos teores plasmáticos de progesterona, ao aplicarem 500 UI, no dia 7 do ciclo estral, em bovinos, em comparação com os animais do grupo controle ou os que receberam eCG no dia da ovulação. Também, Gregory *et al.* (1996) e Caldas *et al.* (1996), ao estudarem o teor plasmático de progesterona de receptoras, constataram que animais com valores plasmáticos de progesterona acima de 4ng/mL tiveram maior probabilidade de prenhez, transferindo embriões de mesma qualidade. Neste trabalho não se verificou essa ocorrência, pois os índices de prenhez foram semelhantes nos de teores acima ou abaixo de 4 ng/mL de plasma, possivelmente, por fatores associados ao armazenamento e transporte das amostras para dosagem de progesterona, tendo em vista ter tido prenhez com nível de progesterona plasmático abaixo de 1ng/mL, o que caracterizaria um corpo lúteo não funcional.

Possivelmente, existam ocorrências endocrinológicas que precisam ser pesquisadas, visando tornar claro os fatores que interferem na inovulação, a fim de se obter índices mais elevados de prenhez. Dessa forma, pesquisadores como Fitz *et al.* (1982), Rodger e O'shea (1982), Niswender *et al.* (1985), Farin *et al.* (1988), Belapure *et al.* (1989) e Chegini *et al.* (1991) levantaram a possibilidade de se descobrir algum produto farmacológico que pudesse estimular a formação de receptores de LH nas células luteais pequenas e grandes, visando aumentar a secreção de progesterona. Catchpole (1991), contudo, salientou que a alteração da proporção entre progesterona e estradiol no período da passagem do embrião para dentro do útero resultou em aumento de morte embrionária.

Trabalhos têm demonstrado que morte celular programada (apoptose), devido à ação do FSH sobre as células da granulosa na fase folicular, ocorre antes da secreção do progesterona pelo corpo lúteo começar a declinar (Zeleznik *et al.*, 1989). Isso suportaria o conceito de que luteólise é pré-programada, em nível celular, iniciando ao redor do tempo da ovulação, o que poderia ser revertido pela ação direta do interferon trofoblástico sobre o corpo lúteo, uma vez iniciada a prenhez (Fisch *et al.*, 1989). Nesse caso, a luteólise pode ser visualizada como uma resposta padrão à perda de estimulação pelo interferon trofoblástico.

Pelos achados nesta pesquisa, em que se esperava aumento significativo da taxa de prenhez à medida que se aumentava a dosagem de eCG, mostrou-se ser interessante também desenvolver pesquisas que possam, não só avaliar os hormônios envolvidos no reconhecimento precoce da prenhez, tais como: o interferon trofoblástico, glicoproteínas, o EPF (*early pregnant factor*) e o PSPB (Glicoproteína Ácida Específica da Prenhez), atualmente considerados capazes de inibir as ações da prostaglandina F_2 alfa sobre a esteroidogênese (Timothy *et al.*, 1994), mas também aprofundar trabalhos em bovinos para estimular as células luteais pequenas com doses efetivas de LH, de acordo com as considerações de Rodger e O'shea (1982), que trabalharam com ovinos, para melhorar os níveis de progesterona plasmática.

Outro fator que pode influenciar no índice de prenhez, no momento da inovulação de receptoras, é a sua condição corporal. Foi constatado que receptoras com condição corporal de entre 5 e 7 pontos reduziram o índice de descarte. Resultados assim foram obtidos por Elsdén *et al.* (1985) e Spitzer (1986), que observaram que as receptoras com condição corporal entre 5 e 7 apresentaram maior

índice de manifestação de cio e também melhor resposta nos programas de sincronização, quando comparadas com animais entre 2 e 4 pontos de condição corporal. De acordo com esses autores, houve também um aumento no índice de prenhez. Neste trabalho obteve-se índices altos de aproveitamento das receptoras (acima de 80%), possivelmente pela boa condição corporal, pois 83% dos animais foram classificados na condição corporal com 6 pontos, 7% com 5 pontos e 10% com 7 pontos, índices que vêm corroborar com esses pesquisadores.

Nas condições em que o experimento foi realizado, concluiu-se que o uso de diferentes doses de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG), em receptoras de embriões congelados, aplicada entre 7 e 12 dias do ciclo estral, não melhoraram os índices de aproveitamento de receptoras nem a taxa de prenhez, embora tenha promovido aumento do número de corpos lúteos até a posologia estimada de 420 UI de eCG.

Agradecimento

Ao Sr. Wilson Pulzatto, proprietário da Fazenda São João de Maringá, por disponibilizar os animais para a realização deste experimento.

Referências

- BATTOCHIO, M. *et al.* Agreement between ultrasonographic classification of the CI and plasma progesterone concentration in dairy cows. *Theriogenology*, New York, v. 6, n. 51, p. 1059-69, 1999.
- BELAPURE, A.K. *et al.* Multiple classes of prostaglandin F2 alfa binding sites in subpopulations of ovarian luteal cells. *Biol. Reprod.*, Madison, v. 41, p. 385-92, 1989.
- BRITT, J.H. *et al.* Endogenous progesterone during luteal phase before insemination influences embryo recovery in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 74, n. 1, p. 225, 1996. (abstr.)
- CALDAS, M.C.S. *et al.* Concentração de progesterona plasmática em receptoras no dia da inovulação de embriões bovinos descongelados, um indicativo de futura prenhez. *Arq. Fac. de Vet. Univ. Fed. RS*, Porto Alegre, v.24, (Supl.), p. 33-37, 1996.
- CATCHOPOLE, H.R. Hormonal mechanisms in pregnancy and parturition. In: CUPPS, P.T. (Ed.) *Reproduction in domestic animals*. 4. ed. California: Academic Press, 1991. p. 361-382.
- CHEGINI, N. *et al.* Cellular distribution and cycle phase dependency of gonadotropin and eicosanoid binding sites in bovine corpora lutea. *Biol. Reprod.*, Madison, v. 45, p. 506-513, 1991.
- DE LOS SANTOS-VALDEZ, S. *et al.* Effect of hCG on pregnancy rates in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, New York, v.17, n.1, p. 85, 1982.
- DEGL'INNOCENTI, S. *et al.* Embryo transfer nei bovini: possibilità di incrementare il progesterone endogeno nelle riceventi. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.*, Pisa, v.38, p. 328-330, 1984. (Relato Preliminar).
- ELSDEN, P. Bovine embryo transfer. In: CURSO INTERNACIONAL DA STRACTA. Brasília, 1985, *Manual...*Brasília-DF:1985. cap. 13, p. 1-42.
- FARIN, C.E. *et al.* Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, Madison, v. 38, p. 413-21, 1988.
- FISCH, B. *et al.* Cellular basis of luteal steroidogenesis in the human ovary. *J. Endocrinol.* v. 122, p. 303-311, 1989.
- FITZ, T.A. *et al.* Characterization of two steroidogenic cell types in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, Madison, v. 27, p. 703-11, 1982.
- GAMBARINI, M.L. *et al.* Precisão da palpação retal do corpo lúteo como critério de seleção de receptoras de embriões em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 1, 1986, Jaboticabal, SP, *Anais...* Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 1986. p. 77.
- GREGORY, R.M. *et al.* Concentração de progesterona sérica e índice de gestação em vacas receptoras de embriões. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 1, 1986, Jaboticabal, SP, *Anais...* Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 1986. p. 98
- GREVE, T.; LEHL-JENSEN H. The effect of HCG administration on pregnancy rate following non surgical transfer of viable bovine embryos. *Theriogenology*, New York, v. 17, n. 1, p. 91, 1982
- GRUMMER, R.R.; CARROL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 69, p. 3838-3852, 1991.
- GRYGAR, I. *et al.* Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum with cavity. *Anim. Reprod. Sci.*, Amsterdam, v. 2-3, n. 49, p. 77-82, 1997.
- GUTIÉRREZ, A.C. *et al.* Predictive value of palpation per rectum detection of the CI in zebu cattle as evaluated by progesterone concentrations and ultrasonography. *Theriogenology*, New York, v. 46, n. 3, p. 471-479, 1996.
- HANSEL, W.; CONVEY, E.M. Physiology of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 57, Suppl. 2, p. 404-424, 1983
- HIRAKO, M. *et al.* Luteotropic effect of pregnant mare serum gonadotropin in cattle. *J. Vet. Med. Sci.*, Tokyo, v. 2, n. 57, p. 317-21, 1995.
- MAPLETOFT, R.J. The control of luteal function. In: CURSO INTERNACIONAL DA STRACTA. Brasília, 1985, *Manual...* Brasília-DF:1985. cap. 5, p. 1-85
- MAPLETOFT, R.J. The use of embryo transfer technology in the 21st century. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIONES, BIOTECNOLOGIA Y TECNOLOGIAS AVANZADAS. Montevideo, maio 1995. *Anais...*

- Montevideo, Facultad de Veterinaria. Depto de Reproduccion Animal: maio/1995. p.1-7.
- MASSEY, G.M. *et al.* Pregnancy rate following hCG treatment of bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, New York, v. 19, n. 1, p. 140. 1983
- NELDER, J.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. *J. Statist. Sci.*, Hayward, v. 135, p. 370-384, 1972.
- NISWENDER, G.D. *et al.* Regulation of luteal function in domestic ruminant: new concepts. *Rec. Prog. Horm. Res.*, v. 41, p. 101-51, 1985.
- PICHA, J. *et al.* Effect of pregnant mare serum on bovine luteal tissue. *Vet. Med.*, Lenexa, v. 8, n. 29, p. 465-72, 1984.
- RICHARDS, M.W. *et al.* Effects of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving of subsequent reproductive performance in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 62, p. 300, 1986 (suppl.).
- RIGOLON, L.P. *et al.* Utilização do PMSG na sincronização do cio em receptoras, no número de corpo lúteo e taxa de prenhez pós inovulação com embriões a fresco. Resultados preliminares. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, Porto Alegre, v 27, n. 1, 1999 (Resumo).
- RODGER, R.J.; O'SHEA, J.D. Purification, morphology, and progesterone production and content of three cell types isolated from the corpus luteum of the sheep. *Aust. J. Biol. Sci.*, Melbourne, v. 35, p. 441-45, 1982.
- SPITZER, J.C. Influences of nutrition on Reproduction in Beef Cattle. In: MORROW, D.A. (Ed.) *Current therapy in theriogenology*. Philadelphia: Saunders Co, 1986. p. 320-341.
- THIBIER, M., NIBART, M. Clinical aspects of embryo transfer in some domestic farm animals. *Anim. Reprod. Sci.*, Amsterdam, v. 28, p. 139-48, 1992.
- TIMOTHY, D.B. *et al.* Hormonal control of luteal function. In: FINDLAY, J.K. (Ed.). *Molecular biology of the female reproductive system*. California: Academic Press, p. 259-87, 1994.
- VIANA, J.H.M. *et al.* Comparação entre as técnicas de palpação retal e ultra-sonografia na avaliação do corpo lúteo em receptoras de embrião. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 10, 1995, Jaboticabal/SP, *Anais...*Jaboticabal, SP:1995. p. 120.
- WILLIAMS, G.L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J. Anim. Sci.*, Savoy, v. 67, p. 785-93, 1989.
- WILTBANK, M.C. Regulation of the ovary in cattle. In: CURSO DE NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2, 1998, Passos/MG, *Anais...*Passos, MG:1998, p. 1-13.
- ZELEZNIK, A.J. *et al.* Developmental expression of Ca/Mg sensitive endonuclease activity in rat granulosa and luteal cells. *Endocrinology*, New York, v. 125, p. 2218-2220, 1989.

Received on September 14, 2001.

Accepted on July 29, 2002.