

INFLUÊNCIA DA SINCRONIZAÇÃO DO
ESTRO COM CLOPROSTENOL NOS
NÍVEIS DE PROGESTERONA ENTRE O
17º E 23º DIA DE PREENHEZ*

TANIA GOES DE PINHO
Professor Assistente
Universidade Federal Fluminense

RAUL GASTAO MUCCILO
Professor Adjunto
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

PINHO, T.G. & MUCCILO, R.G. Influência da sincronização do estro com cloprostenol nos níveis de progesterona entre o 17º e 23º dia de prenhez. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 26(1):105-110, 1989.

RESUMO: Dezesseis vacas vazias Gir x Holandês foram divididas aleatoriamente em dois grupos: A - 10 vacas sincronizadas com minidose de Cloprostenol; B - 6 vacas que apresentaram estro espontâneo. Do grupo A, 3 animais não demonstraram sinais de cio e os de números 10 e 13 foram afastados do experimento por questões de manejo da propriedade. As vacas do grupo A que apresentaram cio e as do grupo B, foram inseminadas, sendo a de número 16 afastada do experimento por ter apresentado sinais de estro sete dias após o anterior. A concentração de progesterona foi determinada no plasma sanguíneo pelo método de radioensaio (RIA) em fase sólida, nos dias 17, 20 e 23 após a inseminação. Dos animais sincronizados, 70% apresentaram sintomatologia externa de cio até sete dias após o término do tratamento com Cloprostenol. O percentual de prenhez de animais sincronizados foi de 60%. Verificou-se não haver diferença estatisticamente significativa no nível plasmático de progesterona de animais inseminados e sincronizados (grupo A) e dos não sincronizados e inseminados (grupo B), no período compreendido entre o 17º e 23º dia após a detecção do cio.

UNITERMOS: Progesterona, níveis; Prostaglandinas; Inseminação artificial; bovinos; Prenhez, bovinos; Ciclo estral, sincronização

INTRODUÇÃO E LITERATURA

Muitos autores têm estudado os níveis de progesterona de diferentes espécies, em diferentes sistemas ecológicos, demonstrando que a inferência pura e simples de resultados não deve ser utilizada como base segura, pois existem diversas condições que podem alterar tais resultados. Assim, a determinação dos níveis desse hormônio, em animais criados em nossas condições climáticas e de manejo, reveste-se de importância capital.

A utilização de prostaglandina F₂ alfa e de seus análogos, para sincronizar o ciclo estral de bovinos, tem sido objeto de muitos trabalhos nas últimas décadas. O grau de fertilidade dos animais tratados com essa droga sempre preocupou os estudiosos que observaram o percentual de aparecimento de cio, o índice de prenhez e a existência ou não de possíveis alterações nas concentrações de progesterona de animais sincronizados.

LOUIS et alii, 9 (1974) verificaram não haver influência residual da PGF₂ alfa no ciclo estral de bovinos, subsequente à sincronização do estro, enquanto utilizaram, por infusão uterina, 5 mg da droga, obtendo sinais de cio 72 ± 5 horas após a aplicação. Já EDQVIST et alii, 6 (1975) utilizando 25 mg de PGF₂ alfa sob forma injetável (IM ou SC), observaram ocorrência de sintomas de cio 48 a 96 horas após o tratamento, sem que a ovulação e a gestação, após a inseminação artificial, sofressem qualquer alteração.

Trabalhando com gado de corte, DONALDSON, 5 (1977), empregou PGF₂ alfa sob forma injetável e de infusão, observando o percentual de aparecimento de cio no decorrer de sete dias, havendo prevalência nos dias 3 (42,3%) e 4 (22,4%). Verificou, também, que o percentual de vacas prenhes foi menor naquelas inseminadas em dias pré-determinados (3º dia). BARNABE et alii, 1 (1978), utilizando 0,5 mg de cloprostenol IM (intramuscular) em vacas mestiças (Zebu x Holandês), observaram que a ocorrência de cio foi de 54,9%, até o sétimo dia após o tratamento. CONOSCIUTO et alii, 3 (1979/80), por sua vez verificaram o início do estro entre 48 e 80 horas após a segunda aplicação, recomendando a inseminação artificial às 72 e 96 horas, empregando dose dupla de cloprostenol (0,5 mg, IM), com intervalo de onze dias.

COULSON et alii, 4 (1979) notaram queda nos níveis de progesterona 12 horas após a segunda aplicação de 25 mg de dinoprost (IM), quando atingiam concentrações abaixo de 0,4 ng/ml e indicando a inseminação artificial entre 75

* Este trabalho contou com auxílio financeiro da FAPESP e CNPq

e 96 horas após o término do tratamento. Já GLENCROSS & POPE, 7 (1981) verificaram que os teores de progesterona plasmática mostraram-se similares em animais inseminados após o cio, induzido ou não por cloprostenol. ONO et alii, 10 (1982) trabalharam com minidoses de PGF₂ alfa, injetadas na submucosa vulvar, obtendo 37,9% de animais em cio dentro dos primeiros sete dias, quando a dose aplicada foi de 2 mg e 78,6% com 6 mg. Pela mesma via de aplicação, utilizando 5 mg de dinoprost em vacas Charolesas e Hereford, SUNE et alii, 14 (1985) obtiveram maior número de fêmeas em cio, ao redor de 72 horas após a aplicação da minidose.

JIMENEZ et alii, 8 (1985) verificaram que os níveis de progesterona plasmática nos primeiros treze dias do ciclo estral foram significativamente mais altos nos animais que sofreram tratamento luteolítico, do que naqueles cujo cio foi obtido espontaneamente.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o de dosar os níveis de progesterona, utilizando o método de radioimunoensaio, durante o início da gestação em fêmeas bovinas, submetidas ou não a prévia sincronização.

MATERIAL E METODOS

Dezesseis vacas leiteiras, vazias, oriundas do cruzamento Gir x Holandês, procedentes do rebanho da Fazenda Nova Esperança, no Município de Volta Grande - MG, foram selecionadas após terem sido submetidas a prévio exame clínico e ginecológico, tendo sido consideradas sadias e possuidoras de ovários funcionais (com folículos e/ou corpo lúteo).

Constituição dos grupos experimentais:

Os animais foram divididos, aleatoriamente, em dois grupos: Grupo A - composto de 10 vacas (animais n.ºs 6, 7, 8, 9, 10, 13, 16, 17, 18 e 19), submetidas à sincronização do ciclo estral. Grupo B - composto de 6 animais (n.ºs. 1, 2, 3, 4, 5 e 11) que apresentaram estro espontâneo. Três animais do grupo A não apresentaram cio (animais n.ºs. 17, 18 e 19) e os de números 10 e 13 foram retirados do experimento por questões de manejo da propriedade. As vacas do grupo A que apresentaram cio e as do grupo B, foram inseminadas, sendo a de número 16 afastada do experimento por ter apresentado estro sete dias após o anterior.

* CIOSIN^R - ICI BRASIL S/A.

** E. MERCK DARMSTAD - ART. 8418.

*** COAT-A-COUNT^R - Progesterone products.

**** ABOIT, Modelo Auto-Logic.

***** Modelo Apple CCE.

***** GIANELLA, 1984.

Baseado nos trabalhos de SHEMESH et alii, 13 (1973); POPE & HODGSON - JONES, 12 (1975); WISHART et alii, 15 (1975); CHOI et alii, 2 (1976); PINHO, 11 (1987), foram considerados prenhes animais com mais de 2.0 ng de progesterona por ml de plasma nos dias 17, 20 e 23 após a inseminação artificial. A sincronização do ciclo estral foi conduzida injetando-se na sub-mucosa vulvar, 0,25 mg de cloprostenol* segundo esquema de dupla aplicação a intervalo de onze dias. A constatação do cio foi feita com base em duas observações diárias por ocasião das ordenhas da manhã e da tarde, procurando-se sinais clínicos e comportamento característico de uma fêmea em estro. Os animais foram inseminados aproximadamente 12 horas após a detecção do cio e a confirmação da prenhez, por toque retal, foi realizada aos sessenta dias após a inseminação artificial.

Amostras de sangue foram colhidas, com o auxílio de agulhas 40 x 20, através da punctura da veia jugular, em tubos de centrifuga (15 ml) contendo 0,1 ml de anti-coagulante (Titriplex ** a 25%), entre 9 e 11 horas da manhã, no 17º, 20º e 23º dias após a inseminação artificial.

Num prazo máximo de 1 hora após a colheita, o sangue foi centrifugado a 1610g durante 20 minutos, utilizando-se centrifuga comum não refrigerada. Por questões de segurança, cada amostra foi acondicionada em dois frascos com aproximadamente 3 ml de plasma, devidamente identificados e armazenados a -20°C até o momento de serem analisadas.

Dosagem de Progesterona:

Foi empregado o método de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-Count)*** para determinação da progesterona, sendo a leitura da radiação realizada com contador Gama**** e os resultados expressos em ng/ml, utilizando-se o programa de computador***** RIAKALK.*****

Controle de Qualidade:

Precisão - Apresentou coeficiente de variação intra-ensaio entre 5 e 9% e interensaio 17%.

Sensibilidade - De 0,14 ng/ml.

Especificidade - O soro anti-progesterona Coat-a-Count é altamente específico para progesterona, com baixa reação cruzada com outros esteróides presentes no soro sanguíneo, com exceção da 17 OH Progesterona.

Análise Estatística:

Foi utilizado o teste "t" de STUDENT para $\alpha = 0,05$ no confronto entre as médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sincronização: dos 10 animais que foram submetidos à sincronização do estro, 7 (70%) apresentaram sintomatologia externa de cio até sete dias após o término do tratamento com cloprostenol, sendo que 3 deles (42,86%) apresentaram cio no intervalo de tempo esperado de 48 a 96 horas e 4 (57,14%) apresentaram de 96 a 168 horas (Tab. 1).

Pode-se verificar que 10% dos animais sincronizados repetiram cio sete dias após o estro induzido, provavelmente anovulatório, ou mesmo devido a um erro de detecção (GLENCROSS & POPE, 7, 1981).

Os resultados do presente trabalho aproximam-se daqueles relatados por BARNABE et alii, 1 (1978) e ONO et alii, 10 (1982), quando foi realizada subdose de 2 mg de PGF₂ alfa, porém SUNE et alii, 14 (1985) obtiveram melhores resultados observando maior número de fêmeas em cio ao redor de 72 horas após o uso da droga luteolítica, na subdose de 5 mg de dinoprost.

Inseminação: o gado diagnosticado como prenhe (81,8%) pelo método de radioimunoensaio, nos dias 17, 20 e 23 após a inseminação artificial, foi confirmado por palpação retal aos sessenta dias após o cio. Dos animais inseminados dois deles repetiram cio: o n° 16, no 7º dia após a inseminação, razão pela qual foi afastado do restante do experimento, e o n° 8 que demonstrou cio no 23º dia (Tab. 2). O percentual de prenhez dos animais sincronizados foi de 60%. Sendo a inseminação realizada de 10 a 12 horas após o início do estro e de acordo com o observado por DONALDSON, 5 (1977), provavelmente teríamos obtido resultados menos favoráveis, caso a inseminação fosse praticada em horários pré-fixados após o uso da droga, como preconizaram CONOSCIUTO et alii, 3 (1979/80) e COULSON et alii, 4 (1979).

A partir dos valores encontrados nas Tab. 3 e 4, construiu-se gráfico comparativo dos níveis médios de progesterona nos dias 17, 20 e 23 dos animais sincronizados e inseminados e dos não sincronizados (Fig. 1). Porém quando se examina a Fig. 1, verifica-se que os animais inseminados que apresentaram estro espontâneo possuíam níveis de progesterona mais elevados que aqueles

sincronizados. Mediante análise estatística verificou-se não haver diferença significativa no nível de progesterona plasmática dos animais do grupo A e do grupo B, no período compreendido entre o dia 17 e 23 da detecção do cio, discordando dos achados de JIMENEZ et alii, 8 (1985) que verificaram níveis de progesterona mais elevados em animais sincronizados nos treze primeiros dias do ciclo estral.

A vista dos resultados obtidos e nas condições em que se desenvolveu esta pesquisa, parece não ter havido qualquer alteração de ovulação e gestação subsequentes dos animais observados e que foram previamente tratados com análogos da PGF₂ alfa (no caso o cloprostenol), o que está de acordo com os trabalhos de LOUIS et alii, 9 (1974); EDQVIST et alii, 6 (1975); GLENCROSS & POPE, 7 (1981).

CONCLUSÃO

A sincronização do cio não alterou o nível médio de progesterona plasmática de amostras colhidas entre os dias 17 e 23 após a inseminação artificial.

PINHO, T.G. & MUCCILOLO, R.G. Oestrous synchronization with cloprostenol. Influences on progesterone levels on days 17th-23rd of pregnancy. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 26(1):105-110, 1989.

SUMMARY: Sixteen non-pregnant Holstein-Gir cross bred cows were separated in two groups: Group A - 10 oestrous synchronized cows with double doses of 0.25 mg of cloprostenol, and group B - 6 spontaneous - oestrous detected cows. Three animals from group A did not show any signs of oestrous and the cows n° 10 and 13 were isolated from the herd. The remaining animals were inseminated. Plasma progesterone levels were deter-

Influência da sincronização do estro com cloprostenol

mined by a solid phase radioimmunoassay on days 17, 20 and 23 after artificial insemination (AI). Seventy percent of synchronized animals showed oestrous until 7 days after the last administration of cloprostenol and sixty percent became pregnant. No statistical difference between non synchronized and synchronized pregnant cows on days 17,

20 and 23 after A.I. was found.

UNITERMS: Progesterone Levels; Prostaglandins; Artificial insemination of cattle; Pregnancy of cattle; Oestrous cycle synchronization

TABELA 1 - Frequência de observação de cio, em função do tempo (horas) após a 2ª aplicação de cloprostenol em vacas. São Paulo, 1987.

Nº DO ANIMAL	TEMPO (HORAS)	FREQUENCIA RELATIVA (%)
6	48	14,3
7	72	14,3
18	96	14,3
8	120	14,3
9 e 13	144	28,6
10	168	14,3

Os animais nos 17, 18 e 19 não apresentaram manifestações externas de cio.

TABELA 2 - Diagnóstico de prenhez baseado no nível de progesterona plasmática (acima de 2,0 ng/ml) de vacas nos 17º, 20º e 23º dias após a inseminação e na palpação retal aos sessenta dias. São Paulo, 1987.

Nº do animal	Progesterona plasmática			Palpação retal (60 dias)
	17º dia	20º dia	23º dia	
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	-	-
9	+	+	+	+
11	+	+	+	+
16	*	*	*	*
%	90,9	90,9	81,8	81,8

+ prenhez positiva

- prenhez negativa

* não houve colheita do material por ter apresentado cio no 7º dia após a inseminação

Influência da sincronização do estro com cloprostenol

TABELA 3 - Valores médios de progesterona plasmática (ng/ml) no 17º, 20º e 23º dias após a inseminação de vacas sincronizadas. São Paulo, 1987.

Nº DO ANIMAL	DIAS		
	17º	20º	23º
6	4,25	4,80	3,73
7	3,38	3,75	4,01
8	2,98	3,65	0,08
9	4,04	3,98	5,02
\bar{x}	3,36	4,04	3,21
s	0,51	0,52	2,16

\bar{x} = média aritmética
s = desvio padrão

TABELA 4 - Valores médios de progesterona plasmática (ng/ml) no 17º, 20º e 23º dias após a inseminação de vacas não sincronizadas. São Paulo, 1987.

Nº DO ANIMAL	DIAS		
	17º	20º	23º
1	3,47	4,00	3,28
2	5,78	4,76	6,39
3	4,69	5,15	5,22
4	5,23	7,03	8,58
5	2,45	2,11	2,54
11	5,30	5,07	4,81
\bar{x}	4,49	4,69	5,77
s	1,27	1,61	2,18

\bar{x} = média aritmética
s = desvio padrão

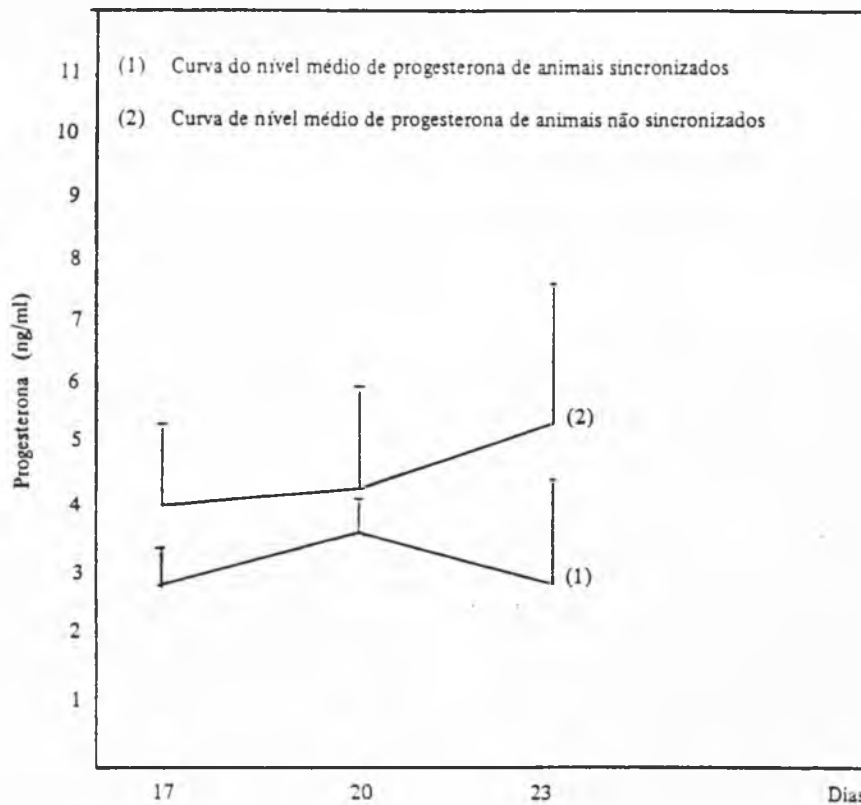


FIGURA 1 - Nível médio de progesterona em ng/ml com erro padrão da média de animais sincronizados e não sincronizados nos dias 17, 20 e 23 após a inseminação.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - BARNABE, R.C.; FEO, J.C.S.A.; MUCCIOLO, R.G. Sincronização e indução deaios com cloprostenol em vacas mestiças Zebu-Holandês em lactação. In: SIMPOSIO NACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 3., São Paulo, 1978. Anais. p.79.
- 2 - CHOI, H.S.; RITTAMANNSPERGER, P.; MAYER, P.; BAMBERG, R. Fröhträchtigkeitsdiagnose beim Rind mit Hilfe der Plasma-progesteronbestimmung. Wien. tierärztl. Mschr., 63:14-17, 1976.
- 3 - CONOSCIUTO, G.; ALBERIO, R.N.; CAROU, N.; SCHIERSMANN, G.C.S. Niveles hormonales plasmaticos en bovinos tratados con cloprostenol. Mem. Ass. Lat.-Amer. Prod. Anim., 14:116, 1979/80.
- 4 - COULSON, A.; NOAKES, D.E.; COCKRILL, T.; HAMER, J. Plasma progesterone and luteinising hormone levels in cattle after synchronisation of oestrus with dinoprost. Vet. Rec., 105:440-442, 1979.
- 5 - DONALDSON, L.E. Synchronisation of oestrus in beef cattle artificial breeding programs using prostaglandin F₂ alfa. Aust. vet. J., 53:72-77, 1977.
- 6 - EDQVIST, L.E.; SETTERGREN, I.; ASTROM, G. Peripheral plasma levels of progesterone and fertility after prostaglandin F₂ alfa induced oestrus in heifers. Cornell Vet., 65:120-131, 1975.
- 7 - GLENCROSS, R.G. & POPE, G.S. Concentrations of oestradiol - 17 β and progesterone in the plasma of dairy heifers before and after cloprostenol - induced and natural luteolysis and during early pregnancy. Anim. Reprod. Sci., 4:93-106, 1981.
- 8 - JIMENEZ, F.; GALINA, C.S.; RAMIREZ, B.; NAVARRO-FIERRO, R. Comparative study of the concentrations of peripheral progesterone before and after PGF₂ alfa injection between *Bos taurus* (Brown Swiss) and *Bos indicus* (Indubrazil) in the tropics. Anim. Reprod. Sci., 9:333-339, 1985.
- 9 - LOUIS, T.M.; HAFS, H.D.; MORROW, D.A. Intrauterine administration of prostaglandin F₂ alfa in cows: progesterone, oestrogen, LH, estrous and ovulation. J. anim. Sci., 38:347-353, 1974.
- 10 - ONO, H.; FUKUI, Y.; TERAWAKI, Y.; OHBOSHI, K.; YAMAZAKI, D. An intravulvosubmucous injection of prostaglandin F₂ alfa in anestrus cows. Anim. Reprod. Sci., 5:1-5, 1982.
- 11 - PINHO, T.G. Niveis de progesterona no plasma sangóineo durante o ciclo estral e inicio de prenhez em bovinos mestiços leiteiros (*Bos taurus* x *Bos indicus*). São Paulo, 1987. (Dissertação de mestrado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP)
- 12 - POPE, G.S. & HODGSON-JONES, L.S. Use of plasma progesterone levels in an assessment of embryonic loss in dairy cattle. Vet. Rec., 96:154, 1975.
- 13 - SHEMESH, M.; AYALON, N.; LINDNER, H.R. Early pregnancy diagnosis based upon plasma progesterone levels in the cow and ewe. J. anim. Sci., 36:726-729, 1973.
- 14 - SUNE, J.F.V.; GONÇALVES, P.B.D.; MORAES, J.C.F.; MACEDO, J.L.B. Inseminação artificial em gado de corte durante 10 dias utilizando uma minidose de prostaglandina. Rev. bras. Reprod. anim., 9:141-145, 1985.
- 15 - WISHART, D.F.; HEAD, V.A.; HORTH, C.E. Early pregnancy diagnosis in cattle. Vet. Rec., 96:34-38, 1975.

Recebido para publicação em 09/06/88
Aprovado para publicação em 09/05/89