

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ESTRÓGENO TOTAL E PROGESTERONA NO PLASMA SANGUÍNEO DE VACAS EM PARTOS DISTÓCICOS E SUA RELAÇÃO COM A ABERTURA DO CERVIX¹

CONCENTRATION OF TOTAL ESTROGEN AND PROGESTERONE IN THE COW PERIPHERAL PLASMA BY RADIOIMMOSSAY WITH DIFFICULT IN BIRTHS DILATION
RELATION TO THE CERVICAL

PROCI-1981.00039

SIL

1981

SP-1981.00039

A. E. D. Feliciano da Silva

RESUMO

As concentrações de estrógeno total e progesterona foram determinadas por radioimunoensaio (RIE) no plasma sanguíneo de 49 vacas em trabalho de parto, encaminhadas à Clínica Obstétrica e Ginecológica da Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover.

As coletas de sangue foram praticadas no momento do parto e, posteriormente, a cada seis horas até as 36 horas pós-parto.

Relacionando-se a concentração de estrógeno total no plasma durante o parto com a abertura cervical, verificou-se uma diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre os níveis hormonais de vacas com dilatação de 1º e 3º graus de cervix, ou seja, $5,47 \pm 2,80$ e $2,51 \pm 1,85$ nmol/l, respectivamente.

Por outro lado, os animais que apresentavam dilatação total da cervix ou parcial de 1º grau, registraram concentrações mais altas de estrógeno total ($4,47 \pm 3,06$ e $5,47 \pm 2,80$ nmol/l de plasma, respectivamente) do que as com abertura incompleta de 1º e 3º graus ($3,59 \pm 1,73$ e $2,51 \pm 1,85$ nmol/l de plasma, respectivamente).

Poder-se-ia concluir que, durante o parto, existe uma correlação positiva a nível de estrógenos totais e dilatação do canal cervical, já que ao mais alto nível desse hormônio corresponde uma maior dilatação da cervix.

Já os níveis de progesterona não indicam nenhuma correlação entre o nível deste hormônio e os diferentes graus de dilatação cervical.

SUMMARY

Total plasma estrogen and progesterone concentration were determined by radioimmunoassay in 48 cows that were brought to the Bovine Obstetrical and Gynaecological Clinic because of dystocia. Blood samples were taken from parturition to 39 hours postpartum at six hour intervals.

Comparison of the total estrogen concentration in plasma with the degree of cervical dilatation at parturition showed a significant difference ($P \leq 0,05$) between animals with a first degree cervical dilatation and those subjects with a third degree dilatation ($5,47 \pm 2,80$ and $2,51 \pm 1,85$ nmol/l, respectively).

Cows with complete cervical dilatation, or incomplete dilatation of the first degree, had higher total estrogen concentration ($4,47 \pm 3,06$ and $5,47 \pm 2,80$ nmol/l plasma, respectively). Than the animals with an incomplete second or third degrees dilatation ($3,59 \pm 1,73$ and $2,51 \pm 1,85$ nmol/l plasma, respectively). The higher the estrogen level, the greater the cervical dilatation. It was therefore concluded that a positive correlation exists between the estrogen level at parturition and the cervical dilatation.

Since progesterone levels did not differ in animals with various degree of cervical dilatation no correlation could be established between these factors.

- 1 Parte da Tese apresentada à Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover – Alemanha Ocidental, para a obtenção do grau de doutor em Medicina Veterinária.
- 2 Pesquisador doutor em Medicina Veterinária, lotado no Centro Nacional de Pesquisas de Caprinos, Sobral – CE.
- 3 Recebido para publicação em 30 de novembro de 1981

INTRODUÇÃO

A progesterona é importante para a manutenção de prenhez em bovinos, o que pode ser comprovado em animais com prenhez prolongada, onde não se observa qualquer queda da concentração da mesma no plasma, (HOLM & SHORT, 1962).

Para que ocorra o parto em bovinos é necessário que a concentração plasmática de progesterona decline algumas horas antes, existindo diferentes opiniões sobre o início da diminuição da mesma. Assim, ROBERTSON (1972) verificou uma queda da concentração de progesterona no período de 30 até seis dias antes do parto e SMITH et alii (1973) observaram um declínio no 15º dia antes do parto. A concentração da progesterona, que oscila entre um e três mg/ml nas últimas horas antes do parto, cai a valores abaixo de 0,5 mg/ml de plasma (STABENFELDT et alii, 1970; HOFFMANN, 1977).

Em ovelhas, segundo THORBURNO et alii (1972), ocorre a queda da concentração de progesterona no plasma durante os últimos 15 a cinco dias de prenhez, apresentando porém, esse declínio, grandes diferenças individuais (BASSET et alii, 1969). Em ovelhas não se sabe ainda, se a queda do nível da progesterona no plasma é condição prévia para o parto normal ou induzido. O emprego da progesterona, de 50 até 150 mg/dia entre o 11º e 130º dias de prenhez, não impediu o parto induzido por infusão intrafetal de dexametazona (1mg/24 horas). De forma semelhante, a administração de progesterona (150 mg/dia) no início das concentrações, impediu a abertura da cervix, assim como 200 mg/dia de progesterona não impediram a atividade do útero (LIGGINS, 1973). Perante estes resultados, LIGGINS (1973), sugeriu que a queda no nível plasmático da progesterona, não é uma condição prévia para o parto em ovelhas.

Quanto ao hormônio estrogênico, ao comparar-se a sua concentração entre bovinos (AGTHE & KOLM, 1975; HOFFMANN, 1977) e ovinos (CHALLIS, 1971; THORBURN et alii, 1972), observa-se que em ambos, existe um aumento evidente do mesmo antes do parto. Nos bovinos, durante os últimos meses de prenhez, a concentração de estrógeno aumenta na urina e cai a níveis basais logo após o parto (AHLERS, 1965; GRUNERT & AHLERS 1969).

No que diz respeito a concentração plasmática do estrógeno, esta parece alcançar os seus valores máximos de seis e dois dias antes do parto (SMITH et alii, 1973; ROBERTSON, 1975; STELLFLUG et alii, 1978). Estes valores máximos variam de experimento para experimento, oscilando desde 300 (SMITH et alii, 1973) até 500 pg/ml (STELLFLUG et

alii, 1978). As opiniões quanto ao início da queda do nível de estrógeno divergem. Assim, TSANG et alii (1975) observaram o início da queda de estrógeno algumas horas antes do parto, sendo semelhante ao resultado obtido por ROBERTSON & SARDA (1971) ao determinar o nível de estrona.

Com relação à abertura da cervix, nada foi encontrado na literatura, ressaltando-se apenas a importância do estrógeno com relação ao início das contrações uterinas (ZEROBIN, 1976).

Com base nos achados bibliográficos, o trabalho objetivou observar a influência dos hormônios estrógeno e progesterona sobre a abertura da cervix e, conseqüentemente, nos partos distócicos, já que a alteração das vias genitais dificulta os trabalhos do parto.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizadas 49 vacas de raça Holandesa em trabalho de parto, com idade entre 1,6 e seis anos. Esses animais foram internados na Clínica de Ginecologia e Obstetria de bovinos, da Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover, R.F.A.

Após exame clínico dos animais, verificou-se que todos apresentavam-se em trabalho de parto distócico. Observou-se principalmente, os diferentes graus de abertura da cervix, de acordo com o critério na referida Clínica:

1. Abertura completa; o canal cervical está completamente aberto.
2. Abertura de 1º grau: os membros e a cabeça do feto já possuem o canal cervical.
3. Abertura de 2º grau: somente os membros do feto se encontram na vagina.
4. Abertura de 3º grau: o canal cervical só permite a passagem de uma mão.

O sangue foi colhido em tubo heparinizado (15ml) através de punção da veia jugular. As amostras de sangue foram obtidas no momento do parto, isto é, durante a operação cesariana ou antes de iniciar nova tração ou fetotomias; e após, em intervalos de seis horas, até às 36 horas pós-parto.

O sangue colhido foi imediatamente centrifugado e o plasma transferido para frascos de quatro ml e armazenados em temperatura de -20°C até o momento do processamento.

A determinação de estrógeno total e de progesterona foi feita pelo método de radioimunoensaio (RIE), segundo HOFFMANN – (1977).

Determinação de Estrógeno Total e Progesterona

O hormônio foi determinado a partir de 100 ul de plasma após a extração com cinco ml de eter. Na amostra extraída, adicionaram-

se 100 ul de estrógeno marcado (^3H -estradiol - 17β , 8.000 Ip^m)¹, o anti-soro-específico² para o estrógeno total, na concentração de 1:35.000 e o estradiol - 17β não marcado³. Após atingido o equilíbrio, procedeu-se à separação dos esteróides livres ligados por meio de carvão mineral, sendo os esteróides ligados quantificados em cintilador MARK III⁴.

Para determinar a progesterona, o hormônio foi extraído de 40 ul de plasma pela adição de éter de petróleo. Na amostra extraída, foi adicionado o anti-soro⁵, numa proporção de 1:10.000, o hormônio marcado⁶ e a progesterona não marcada⁷. Para quantificação de progesterona foi utilizado o cintilador MARK III.

Os resultados foram gravados em fita, em impulsos por minutos, e os cálculos feitos com auxílio de um computador WANG 720, segundo programa desenvolvido por MARSCHNER et alii (1974). Os valores foram expressos em nmol/l, segundo novas determinações do "Système International d'Unités" e que corresponde a:

1 ng/ml de progesterona = 3.18 nmol/l
1 ng/ml de estrógeno = 3.70 nmol/l

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações foram também obtidas, embora de uma forma indireta por VANDEPLASSCHE & PAREDIS (1949). Assim como AEHNELT (1953). Esses autores solucionavam os casos clínicos de partos distócicos por incompleta abertura da cervix, pela aplicação de estrógeno.

Por outro lado, não deve ser confundida a falta da abertura das vias genitais moles, tendo como causa a má formação das mesmas, como aquelas que são a consequência de distúrbios hormonais.

Segundo OSINGA & AHZELEGER - (1979), a causa da deficiente concentração

plasmática do estrógeno na hora do parto, que provocaria falha na dilatação do cervix, poderia ser o genótipo dos bezerros. Eles observaram que existia uma relação entre os genótipos dos pais e conseqüentemente o dos filhos, com um maior número de partos distócicos ou mesmo mortes do produto. Neste último caso, a secreção do estrógeno foi muito prejudicada, o que levou os autores a pensar que o feto seria o responsável direto pelo aumento de produção de estrógenos na hora do parto. Por outro lado, HOFFMANN (1977) provou que a placenta é uma barreira natural para estrógenos e que na realidade, quantidade crescente deste hormônio é proveniente da placenta materna. Desta forma, conhece-se pouco em relação à magnitude da influência que o genótipo do feto poderia exercer nessas situações. Dos resultados obtidos pode-se afirmar que existe uma correlação entre o aumento do nível de estrógeno e a abertura do cervix. Níveis diminuídos desse hormônio durante o parto, resultariam em partos distócicos, embora o mecanismo de ação seja bem conhecido.

Com respeito à progesterona, embora existam pesquisas em ovelhas que demonstram que este hormônio é o responsável pela insuficiente dilatação do cervix (BENGTSSON & SCHOFIELD, 1963; ESTERGREEN et alii, 1967; LIGGINS et alii, 1972). O mesmo não pode ser observado em bovinos (OSING, 1970). Os resultados não revelaram correlação entre as concentrações de progesterona e os graus de dilatação do cervix.

Conclui-se, portanto, que existe uma correlação positiva entre o nível do estrógeno total no plasma durante o parto e a dilatação cervical, já que ao mais alto nível desse hormônio houve correspondência de uma maior dilatação cervical. Por outro lado, a progesterona não mostrou correlação entre o nível circulante e os diferentes graus de dilatação cervical.

1 ^3H -estradiol- 17β , New England Nuclear, Boston/Mass. USA.

2 SE-IE₂ - AK - 6, cedido por Prof. Jungblut do Max-Planck-Institut, Wilhelmshaven.

3 Estradiol - 17β (estradien - (1,3,5)(10) - dio - (3,7), Marck, Darmstadt 8964.

4 Mark III - Fa. Searle, Des Plaines, USA.

5 Do Instituto de Fisiologia, Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover.

6 ^5H - progesterona, New England Nuclear, Boston/Mass., USA.

7 Pregnan - (4) - diol - (3,20), Marck, Darmstadt.

TABELA 1 – NÍVEIS PLASMÁTICOS DE ESTRÓGENO TOTAL E PROGESTERONA E SUA RELAÇÃO COM A ABERTURA DO CERVIX.

Colheita das Amostras (0 = parto)	A B E R T U R A D O C E R V I X															
	MÁXIMA (NORMAL)				1º GRAU				2º GRAU				3º GRAU			
	Nº Anim.	Estrog. Total nmol/1	Prog. nmol/1	Est./Prog.	Nº Anim.	Estrog. Total nmol/1	Prog. nmol/1	Est./Prog.	Nº Anim.	Estrog. Total nmol/1	Prog. nmol/1	Est./Prog.	Nº Anim.	Estrog. Total nmol/1	Prog. nmol/1	Est./Prog.
0	21	4.47 ± 3.06	3.27 ± 2.20	1.36	12	5.47* ± 2.80	4.14 ± 2.18	1.31	13	3.59 ± 1.73	4.63 ± 3.27	0.77	3	2.51* ± 1.85	2.72 ± 0.78	0.92
6		1.85 ± 1.57	1.42 ± 0.97	1.30		2.18 ± 2.42	1.27 ± 0.80	1.71		1.50 ± 1.00	1.56 ± 0.93	0.96		0.90 ± 0.62	2.41 ± 1.46	0.37
+ 12		0.86 ± 0.90	1.09 ± 0.86	0.78		0.80 ± 0.46	0.93 ± 0.60	1.07		0.86 ± 0.49	1.28 ± 0.65	0.67		0.65 ± 0.51	1.58 ± 0.78	0.41
+ 18		0.51 ± 0.34	0.97 ± 0.71	0.52		0.57 ± 0.38	0.75 ± 0.53	0.76		0.55 ± 0.60	1.29 ± 0.78	0.42		0.22 ± 0.09	1.30 ± 0.70	0.16
+ 24		0.32 ± 0.29	1.02 ± 1.02	0.31		0.52 ± 0.32	1.23 ± 0.73	0.42		0.54 ± 0.66	1.08 ± 0.69	0.5		0.39 ± 0.29	0.74 ± 0.24	0.52
+ 30		0.30 ± 0.18	1.24 ± 0.96	0.24		0.30 ± 0.25	1.18 ± 0.81	0.25		0.48 ± 0.67	1.28 ± 0.96	0.37		0.47 ± 0.13	1.00 ± 0.70	0.47
+ 36		0.28 ± 0.18	1.02 ± 0.77	0.27		0.29 ± 0.13	0.97 ± 0.64	0.29		0.45 ± 0.74	1.16 ± 0.81	0.38		0.26 ± 0.19	1.16 ± 0.77	0.22

*P < 0,05

Estrógeno Total nmol/1 plasma

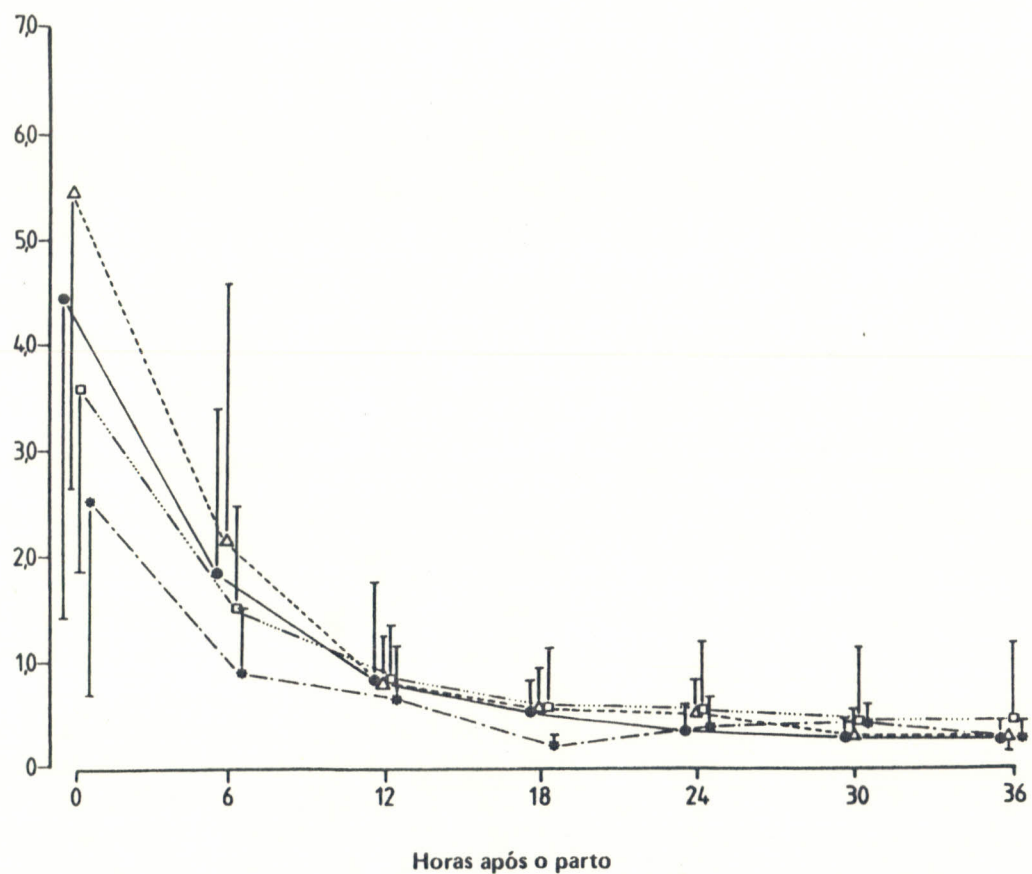


GRÁFICO 1 — Concentração de estrógeno total e de progesterona no plasma periférico de vacas em relação a abertura de Cervix: Completa (•) 1º grau (Δ) etc.

Progesterona nmol/1 plasma

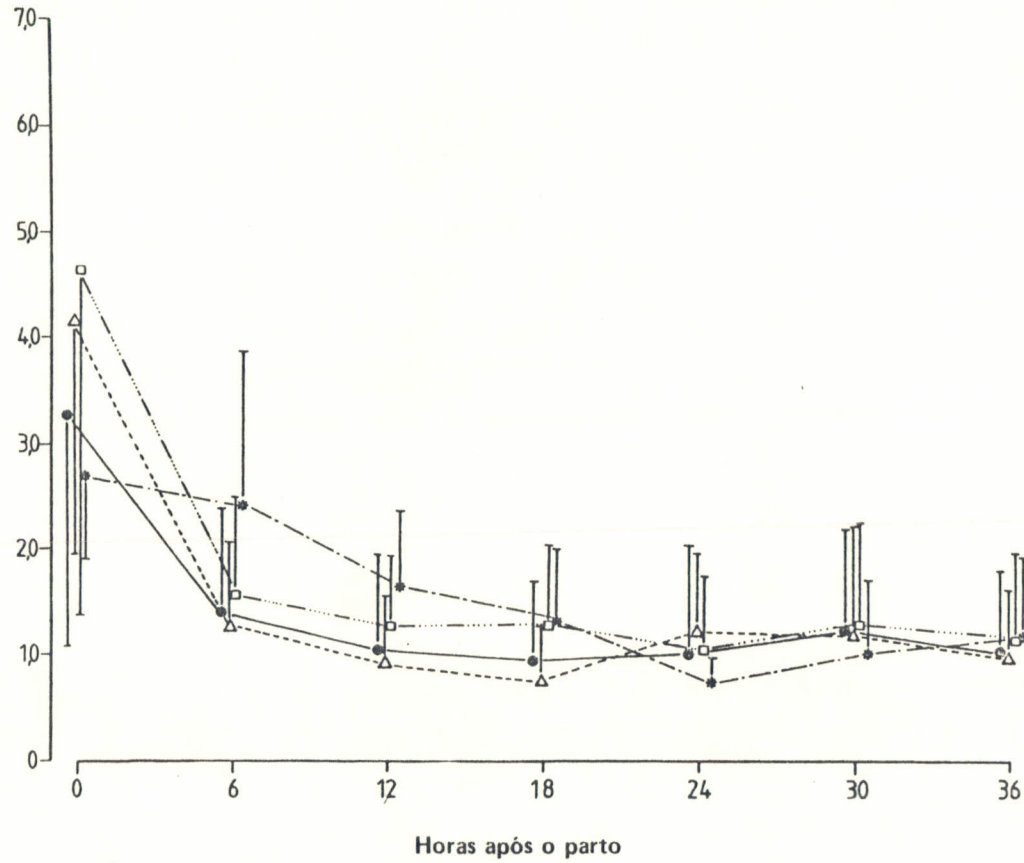


GRÁFICO 2 – Concentração de progesterona no plasma periférico de vacas em relação à abertura de cervix: Completa (•), 1º Grau (Δ), 2º Grau (◻) e 3º Grau (*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEHNELT, E. Die Anwendung von Stilben-Präparaten zur Erweiterung des Gebärmutterhalskanals beim Rinde *Dtsch Tierarztl. Wochenschr.* 60:89-92, 1953.
- AGTHE, D. & KOLM, H.P. Radioimmunologische Bestimmung physiologischer Östrogenkonzentrationen in Blutplasma von Kühen um den Geburtstermin. *Zuchthygiene*, 10:16-23; 1975.
- AHLERS, D. *Follikelhormonbestimmung in Harn weiblicher Rinder von 5 Trächtigkeit bis zur Geburt*. Hannover, Tierarztl. Hochschule. (Diss.) 1965.
- BASSET, J.M.; OXBORROW, T.J.; SMITH, I.D.; THORBURN, G.D. The concentration of progesterone in the peripheral plasma of the pregnant ewe. *J. Endocrinol.* 45:449-57, 1969.
- BENGTSSON, L.P. & SCHOFIELD, B.M. Progesterone and accomplishment of parturition in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 5:423-31, 1963.
- CHALLIS, J.R.G. Sharp increase in free circulating oestrogens immediately before parturition in the sheep. *Nature*, 229:208, 1971.
- ESTERGREEN, J.V.L.; FROST, O.L.; GOMES, W.R.; ERB, R.E.; BULLARD, J. F. Effect of ovariectomy on pregnancy maintenance and parturition in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 50:1293-5, 1967.
- GRUNERT, E. & AHLERS, D. Harnöstrogenbestimmung beim Rind zur Diagnose intrauterin abgestorbener Früchte. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 16:501-4, 1969.
- HOFFMANN, B. Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind. Entwicklung von Meßverfahren und physiologische Daten. In: *FORSCHRITTE DER VETERINÄRMEDIZIN BEIHEFTE ZUM ZENTRALBLATT FÜR VETERINÄRMEDIZIN*, 26., Berlin, P. Parey, 1977.
- HOLM, L.W. & SHORT, R.V. Progesterone in the peripheral blood of Guernsey and Friesian cows during prolonged gestation. *J. Reprod. Fertil.* 4:137-41, 1962.
- LIGGINS, G.D. Hormonal interactions in the mechanism of parturition. *Mem. Sci. Endocrinol.* 20:119, 1973.
- LIGGINS, G.D.; GRIEVES, S.A.; KENDALL, J.Z.; KNOX, B.S. The physiological roles of progesterone, oestradiol-17 β and prostaglandin F₂ - alpha in the control of bovine parturition. *J. Reprod. Fertil. (Suppl. 16)*:85-103, 1972.
- MARSCHNER, J.; DOBRY, H.; ERHARDT, F.; LANDESDORFER, POPP, B.B.; RINGEL, C.; SCRIBA, P.C. Berechnung radioimmunologischer Meßwerte Mittels Spline Funktionen. *Arztl. Lab.*, 20:184-91, 1974.
- OSINGA, A. *Oestrogens excretion by pregnant bovine and its relation with some characters of gestation and parturition*. Wageningen, Communication Agricultural University, 1970 (Thesis).
- OSINGA, A. & HAZELEGER, W. The influence of the sire on the oestrogen production of the bovine foetus-placental unit. In: HOFFMANN, B.; MASON, J.L.; SCHMIDT, J. eds. *Calving problems and early viability of the calf*. London, Martinus Nijhoff Publishers, 1979. p. 282-92.
- ROBERTSON, H.A. Changes in the concentration of unconjugated oestrogen, oestradiol 17 β and oestradiol 17 β in the maternal plasma of pregnant cow in relation to the initiation of parturition and lactation. *J. Reprod. Fertil.* 36:1-7, 1975.
- ROBERTSON, H.A. Sequential changes in plasma progesterone in the cow during the estrous cycle, pregnancy, at parturition, and postpartum. *Can. J. Anim. Sci.*, 52:645-58, 1972.
- ROBERTSON, H.A. & SARDA, J.R. A very early pregnancy test for mammals: its application to the cow, sow and sow. *J. Endocrinol.* 49:407-19, 1971.
- SMITH, V.P.; EDGERTON, L.A.; HAFS, H. D.; CONVEY, E.M. Bovine serum estrogens, progestins and glucocorticoids during late pregnancy, parturition and early lactation. *J. Anim. Sci.*, 36:391-1, 1973.
- STABENFELDT, G.H.; OSBURN, B.J., EWING, L.L. Peripheral plasma progesterone levels in the cow during pregnancy and parturition. *Am. J. Physiol.*, 218:571-5, 1970.
- STELLFLUG, J.N.; HAN, D.K.; RANDEL, R.D.; MOODY, E.L. Plasma estrogens in

- the periparturient cow. *Theriogenology*, 10:269-73, 1978.
- THORBURN, G.D.; BASSETT, J.M.; SHUTT, D.A., COX, R.I. Parturition in the goat and sheep: changes in cortecosteroids, progesterone, estrogens and prostaglandin F. *J. Reprod. (Suppl. 16)*:61-84, 1972.
- TSANG, C.P.W.; HACKET, A.G.; TURNER JUNIOR, E.M. Plasma levels of estrone sulfate estrone and estradiol-17 β in the cow around parturition. *Can. J. Anim. Sci.* 55: 509-12, 1975.
- VANDEPLASSCHE, & PAREDIS, F. Het te traag, of onvoldoende of nietlos loskomen von de cervix uteri bij de partus runderem en zijn behandeling. (Das zu Geburt. Zur Behandlung). *Vlaams Diergenesk, Tijdschr.* 18:25-36, 1949.
- ZEROBIN, K. Physiologie der forthlanzung. In: SCHEUNERT, A. & TRAUTMANN A. *Lehrbuch der Veterinar - Physiologie*. Berlin, P. Parey, 1976. p. 710-67.

Med - ...
Tereza Barbosa
Med - ...