

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE ESTROGENO TOTAL E PROGESTERONA, DETERMINADA POR RADIOIMUNOENSAIO, EM VACAS EM TRABALHO DE PARTO, RELACIONADA COM O TIPO DE INTERVENÇÃO OBSTÉTRICA¹

EMÍDIO D. FELICIANO DA SILVA²

ABSTRACT.- Silva E.D.F. 1982. [Plasma concentrations of total estrogen and progesterone as determined by radioimmunoassay in cows at parturition, in relation to the type of obstetrical intervention.] Concentração plasmática de estrógeno total e progesterona, determinada por radioimunoensaio em vacas em trabalho de parto, relacionada com o tipo de intervenção obstétrica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 3(1):25-28. Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, Embrapa, Sobral, Ceará 62100, Brazil.

Plasma concentrations of total estrogen and progesterone were determined by radioimmunoassay in 49 cows that were brought to the Bovine Obstetrical and Gynecological Clinic, College of Veterinary Medicine of Hannover. Blood samples were taken at parturition and until 36 hours post partum at six hour intervals. At parturition, the average total estrogen concentration in the plasma of animals that underwent cesarian section, forced extraction or fetotomy were 5.05 ± 2.88 , 4.68 ± 2.44 and 2.34 ± 1.93 nmol/liter, respectively. Large individual variations were detected. The average total estrogen concentration detected in cows in the fetotomy treatment group was significantly different from the concentration in cows subjected to cesarian section or forced extraction at the time of parturition ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively) and 6 hours later ($P < 0.001$ for both). After delivery, all cows showed a sharp decline in the total estrogen level in the plasma, with average values of than 1 nmol/l of plasma being measured at 12 hours and thereafter. No significant differences in progesterone concentrations were detected in the plasma of cows at any time, regardless of the type of obstetrical intervention.

INDEX TERMS: Hormones, estrogen, progesterone, radioimmunoassay, cattle, parturition, obstetrical intervention.

SINOPSE.- As concentrações de estrógeno total e progesterona foram determinadas pelo método RIE (radiomunoensaio) no plasma sanguíneo de 49 vacas da raça "Holstein Friesien", 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 completar 36 horas. As médias das concentrações de estrógeno total, no plasma de animais que sofreram cesariana, tração forçada ou fetotomia, no momento do parto, foram $5,05 \pm 2,88$, $4,68 \pm 2,44$ e $2,34 \pm 1,93$ nmol/l, respectivamente. Observaram-se grandes variações individuais nos valores obtidos. A média de concentração de estrógeno total detectada em animais que sofreram fetotomia, apresentou diferença estatisticamente significativa em relação àquela en-

contrada nas vacas que foram submetidas a cesarias ou a partos traçados tanto no momento do parto ($P < 0,01$ e $P < 0,05$, respectivamente), com 6 horas após ($P < 0,001$ para ambos). Após o parto houve um declínio brusco de estrógeno total e, em média, 12 horas depois registraram-se valores plasmáticos inferiores a 1 nmol/l. Independentemente das condutas obstétricas, não foi registrada diferença estatisticamente significativa nas concentrações de progesterona encontradas durante e após o parto.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Hormônios, estrógeno, progesterona, radioimunoensaio, vaca, parto, obstetrícia.

INTRODUÇÃO

Observações clínicas mostram o crescente número de animais com partos distócicos, cujas causas, na maioria das vezes, são atribuídas a distúrbios hormonais, e cuja conduta obstétrica leva a cesarianas, fetotomias ou trações do bezerro. No decorrer do parto ocorrem várias modificações na concentração hormonal, tanto no organismo materno como no do próprio produto. Com respeito a esta idéia, é conhecida a importância da presença do feto para início do parto (Liggins 1973), sendo a secreção fetal de ACTH a que provoca o aumento do nível

¹ Aceito para publicação em 13 de julho de 1982.

Trabalho elaborado na Clínica de Obstetrícia e Ginecologia de Bovinos (Diretor: Prof. Dr. E. Grunert) e no Instituto de Fisiologia (Então Diretor: Prof. Dr. H. Hill) da Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover, Alemanha Ocidental; parte da Tese apresentada àquela Escola para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

² Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, EMBRAPA, Sobral, Ceará 62100.

de estrógenos no plasma materno, que por sua vez provavelmente parecem estimular a síntese de prostaglandinas (Hafez 1974). Por outro lado, pouco antes do parto, ocorre uma caída do nível plasmático da progesterona, sendo os níveis encontrados bastante diferentes de um autor para outro. Esta diferença torna-se visível, principalmente, 24 horas antes do parto, quando os valores encontrados oscilam de 1 a 3 ng/ml de plasma (Stabenfeldt et al. 1970, Edquist et al. 1973, Smith et al. 1973, Hoffmann 1977), caindo em seguida para menos de 0,5 ng/ml.

Se o baixo nível de progesterona, que ocorre nos últimos dias de prenhez, parece ser imprescindível para o início do parto (Hoffmann 1977, Smith et al. 1973), a mesma afirmação não pode ser feita a respeito do aumento da concentração dos estrógenos, que nem sempre foi observado antes (Hoffmann 1977), chegando a ser detectado apenas após o desencadear do parto (Hoffmann 1977, Agthe & Kolm 1975).

Com base nestas últimas observações e lembrando da importância do feto para o início do parto, conduziu-se o presente trabalho tendo como finalidade observar possíveis variações na concentração plasmática de estrógenos totais ou progesterona, em partos realizados por fetotomia, tração ou cesária, onde o bezerro nascido, na maior parte das vezes, já se encontra morto.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usadas 49 vacas em trabalho de parto, com idade entre 1,6 – 6 anos, da raça Holstein-Friesien. Esses animais foram internados na Clínica de Obstetrícia e Ginecologia de Bovinos da Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover, Alemanha Ocidental.

Realizou-se exames clínicos antes, durante e após o parto, em todas as novilhas e vacas, em trabalho de parto distócico.

Quanto à conduta do parto, os animais foram distribuídos em três grupos, de acordo com o tipo de intervenções necessárias: a) Tração do feto; b) Cesariana e c) Fetotomia.

O sangue foi extraído em tubo heparinizado (15 ml) através da veia jugular. As amostras de sangue foram obtidas no momento do parto, isto é, durante a Cesária, ou antes de iniciar a tração ou fetotomia e após, com intervalos de 6 horas, até completarem 36 horas pós-parto.

O sangue coletado foi imediatamente centrifugado e o plasma sobrenadante transferido para frascos (4 ml) e armazenado em baixa temperatura (-20°C) até o momento do processamento.

A determinação dos hormônios, estrógeno total e progesterona no plasma foi feita pelo método de radioimunoensaio (RIE) segundo Hoffmann (1977), sofrendo apenas algumas adaptações.

Teste de determinação de estrógeno e progesterona

O hormônio a ser determinado obteve-se de 100 μl de soro pela adição de 5ml de éter. À amostra extraída, adicionaram-se 100 μl de estrógeno marcado com o isótopo Tritium, ^3H -oestradiol-17 β^3 (ca. 8.000I_pM) e o anti-soro específico para o estrógeno total (SE - 1E₂ - AK - 6)⁴ na concentração de 1:35.000 e o estradiol-17 β não marcado⁵. Após ser atingido o equilíbrio *in vitro*, procedeu-se

à separação de esteróides livres (sedimentos) e esteróides ligados, ^3H -esteróide-AC-esteróides + AC, como sobrenadante, por meio de impulsos no cintilador Mark III⁶.

Para se determinar a progesterona, o hormônio foi extraído de 40 μl de soro por meio de éter de petróleo. O anti-soro⁷ foi usado na proporção de 1:10.000 e como hormônio marcado foram utilizados 100 μl de ^3H -Progesterona⁸ e progesterona não marcada⁹. A progesterona foi determinada no soro em teste pelo cintilador Mark III⁶.

Os resultados do soro testado foram gravados em fita em impulsos por minuto e os cálculos das provas desconhecidas foram feitos com auxílio de um computador Wang 720, baseado em programa desenvolvido por Marschner et al. (1974).

Os valores, expressos em nmo1/1 segundo novas determinações do "Système International d'Unités", tem a seguinte correspondência: 1 ng/ml de progesterona = 3,18 nmo1/1, 1 ng/ml de estrógeno = 3,70 nmo1/1.

RESULTADOS

Os valores obtidos da determinação de estrógeno total e progesterona plasmática estão expostos no Quadro 1 e graficamente nas Fig. 1 e 2.

Quadro 1. Médias dos níveis de estrógeno total e progesterona em relação às medidas de intervenções obstétricas

Momento de extração do soro em relação ao parto (horas)	Estrógeno total (nmo1/1)	Progesterona (nmo1/1)	Relação estrógeno-progesterona
Cesariana: 22 animais			
0	5,05 ^(a) \pm 2,88	4,12 \pm 2,61	1,22
+ 6	2,06 ^(a) \pm 1,41	1,66 \pm 1,01	1,24
+12	0,84 \pm 0,42	1,22 \pm 0,70	0,68
+18	0,51 \pm 0,33	1,17 \pm 0,75	0,43
+24	0,52 \pm 0,32	1,08 \pm 0,71	0,48
+30	0,33 \pm 0,25	1,38 \pm 0,88	0,23
+36	0,30 \pm 0,26	1,16 \pm 0,77	0,86
Tração: 17 animais			
0	4,68 ^(b) \pm 2,44	2,99 \pm 1,94	1,56
+ 6	2,05 ^(b) \pm 1,57	1,54 \pm 1,02	1,33
+12	0,97 \pm 0,94	1,22 \pm 0,91	0,79
+18	0,66 \pm 0,58	0,99 \pm 0,72	0,66
+24	0,50 \pm 0,63	1,05 \pm 1,11	0,47
+30	0,44 \pm 0,58	1,26 \pm 1,04	0,34
+36	0,44 \pm 0,63	0,91 \pm 1,24	0,48
Fetotomia: 10 animais			
0	2,34 ^(b) \pm 1,93	4,48 \pm 2,93	0,52
+ 6	0,72 ^(b) \pm 0,53	1,01 \pm 0,70	0,71
+12	0,57 \pm 0,67	0,77 \pm 0,50	0,74
+18	0,31 \pm 0,20	0,76 \pm 0,57	0,40
+24	0,23 \pm 0,14	0,92 \pm 0,41	0,25
+30	0,28 \pm 0,19	0,69 \pm 0,45	0,40
+36	0,28 \pm 0,14	1,16 \pm 0,73	0,24

No Parto: a) Cesariana x Fetotomia P < 0,01
b) Tração x Fetotomia P < 0,05

+ 6 horas: a) Cesariana x Fetotomia P < 0,001
b) Tração x Fetotomia P < 0,001

³Hormônio marcado: ^3H -estradiol-17 β da Firma New England Nuclear, Boston/Mass., U.S.A.

⁴Anti-soro: SE - 1 E₂ - AK - 6, cedido por Prof. Jungblut, do Max-Planck Institut, Wilhelmshaven.

⁵Hormônio não marcado: oestradiol-17 β (oestradien-(1, 3, 5) (10)-dio-(3,17) da Firma Merck, Darmstadt 8964.

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE ESTRÓGENO E PROGESTERONA, EM VACAS

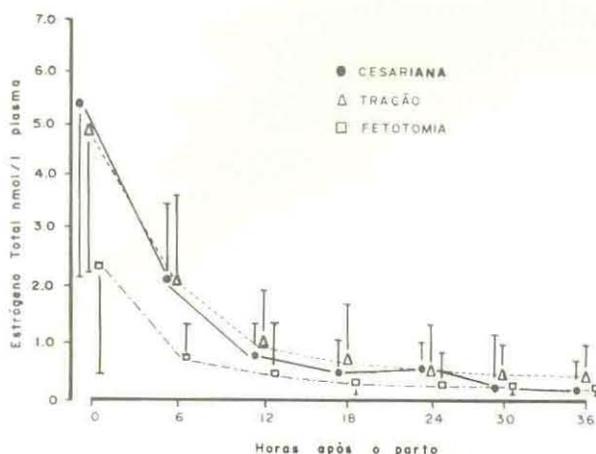


Fig. 1. Níveis de estrógeno total no soro periférico de vacas com relação à medidas obstétricas.

Observa-se semelhança nos valores plasmáticos de estrógeno total nos grupos de animais submetidos a cesariana e tração do feto. Assim, no momento do parto, encontrou-se uma concentração plasmática de estrógenos totais de $5,05 \pm 2,88$ e $4,68 \pm 2,44$ nmol/l respectivamente. Depois do parto, os níveis plasmáticos dos referidos grupos caíram abruptamente, chegando 12 horas depois a valores abaixo de 1 nmol/l, e 36 horas após à média de $0,30 \pm 0,26$ e $0,44 \pm 0,63$ nmol/l.

Os animais em que se realizou fetotomia apresentaram, no momento do parto, comparados aos cesariados e por tração fetal, baixo nível de estrógenos totais, ou seja, $2,34 \pm 1,93$ nmol/l ($P < 0,05$). Da mesma forma que nos grupos anteriores, o nível hormonal baixou logo após o parto, chegando a valores de $0,72 \pm 0,53$ nmol/l nas primeiras 6 horas e de $0,57 \pm 0,67$ nmol/l após 12 horas. Este fato deve-se à grande variação individual observada no desvio ao redor das médias expostas na Fig. 1. Estes últimos valores são também inferiores, quando comparados aos outros grupos ($P < 0,01$ e $P < 0,05$). A partir deste momento, os valores plasmáticos de estrógenos totais passam a ser semelhantes para os três grupos, não existindo uma diferença estatisticamente significativa.

Observou-se ainda uma grande variação individual, sendo as médias obtidas, principalmente as do momento do parto, o resultado de valores individuais de 11,3 até 0,53 nmol/l.

Com referência ao hormônio progesterona, o grupo submetido a fetotomia acusou, no momento do parto, a maior concentração plasmática, atingindo $4,48 \pm 2,93$ nmol/l, seguido dos animais cesariados com $4,12 \pm 2,61$ nmol/l e dos animais cujos fetos foram tracionados, com $2,99 \pm 1,94$ nmol/l. Estatisticamente, no entanto, não houve diferença significativa. Após o parto o nível de progesterona abaixou, alcançando, com 12 horas, concentrações em cerca de 1 nmol/l para todos os grupos examinados.

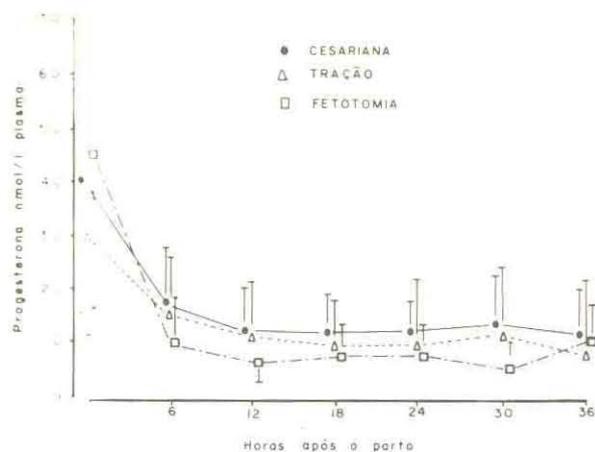


Fig. 2. Níveis de progesterona no soro periférico de vacas com relação à medidas obstétricas.

DISCUSSÃO

As condutas obstétricas nos partos distócicos basearam-se na maioria das vezes, no estado do próprio feto, isto é, posição ou sobrevivência.

Neste último caso é conhecida a importância do feto para o início do parto, levando provavelmente a morte dele a alterações hormonais maternas, uma vez que a secreção de ACTH fetal conduz ao aumento da concentração dos estrógenos plasmáticos maternos necessários para o desencadear do parto (Liggins et al. 1972, Liggins 1973).

Pelo acima exposto, já se esperavam concentrações baixas nos animais em que se realizou fetotomia e elas realmente foram estatisticamente menores do que nos outros grupos ($2,99 \pm 1,94$ nmol/l), o que vem fortalecer a teoria de Liggins (1973) com respeito à importância do feto, no final da prenhez. A morte deste seria, provavelmente, a principal responsável pela baixa concentração plasmática de estrógeno materno, uma vez que este quadro provocaria bloqueio da secreção estrogênica da placenta (Grunert & Ahlers 1969).

O fato de ser a concentração plasmática materna de estrógeno total encontrada nos grupos cesariados e com fetos tracionados apenas com 5 nmol/l inferior à considerada normal, 7-11 nmol/l (Henricks et al. 1972, Hoffmann 1977), leva novamente a ressaltar o acima exposto ou seja, a importância do feto vivo às modificações hormonais da matriz, no momento do parto.

Após o parto, os níveis de estrógenos caíram de maneira idêntica às descritas por Robinson et al. (1970), Edquist et al. (1973), Robertson (1974) e Agthe e Kom (1975), que os determinaram em animais em partos normais, embora os valores do presente trabalho sejam algo mais baixos. Deve-se no entanto lembrar que houve grandes variações individuais e que muitos dos animais já se encontravam em trabalho de parto. Quanto às variações nas concentrações plasmáticas estrogênicas, estas já foram descritas em partos normais por Robinson et al. (1970), Robertson (1974) e Agthe e Kom (1975).

Ao que diz respeito ao nível plasmático da progesterona, o seu comportamento em nada desviou do encontrado na literatura para o parto normal, tanto no momento como após o

⁶Mark III: Firma Searle, Des Plaines/U.S.A.

⁷Anti-soro progesterona: do Instituto de Fisiologia da Escola Superior de Medicina Veterinária de Hannover, Alemanha Ocidental.

⁸³H-progesterona: da Firma New England Nuclear, Boston/Mass, U.S.A.

⁹Pregnan: (4)-dion-(3,20) da Firma Merck, Darmstadt.

parto (Stabenfeldt et al. 1970, Donaldson et al. 1970, Smith et al. 1973, Hoffmann 1977). Tampouco foi encontrada uma diferença significativa entre as concentrações plasmáticas dos três grupos examinados.

A necessidade da caída do nível plasmático deste hormônio para o início do parto tem sido já discutida, levando Thorburn et al. (1977) a afirmar que é evento desejável, porém não necessário.

CONCLUSÕES

A comparação das médias das concentrações de estrógeno total no plasma evidenciou que os animais que sofreram fetotomia apresentaram nível hormonal significativamente inferior aos dos outros animais. Estes achados contribuem para confirmar o distúrbio hormonal como causa de parto distócico e o papel do feto para o início do parto.

Com referência à concentração plasmática da progesterona, não se observaram alterações que possam ser consideradas como prováveis causas de um parto distócico, sendo os valores obtidos semelhantes aos que ocorrem em parto normal.

REFERÊNCIAS

- Agthe O. & Kolm H.P. 1975. Radioimmunologische Bestimmung physiologischer Oestrogenkonzentrationen im Blutplasma von Kuehen um den Geburtstermin. *Zuchthygiene* 10:16-23.
- Donaldson L.E., Basset J.M. & Thorburn G.D. 1970. Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, oestrus cycles, pregnancy and lactation and the effect of under nutrition or exogenous oxytocin on progesterone concentration. *J. Endocrinol.* 28: 599-614.
- Edquist L.E., Ekman L., Gustafsson B. & Johansson E.D.B. 1973. Peripheral plasma levels of oestrogens and progesterone during late ovine pregnancy. *Acta Endocrinol.* 72:81-88.
- Grunert E. & Ahlers D. 1969. Harnöstrogenbestimmung beim Rind zur Diagnose intrauterin abgestorbener Fruechte. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 76:501-504.
- Hafez E.S.E. 1974. *Reproduction in farm animals*. 3rd ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Henricks D.M., Dickey J.F., Hafez J.R. & Johnston W.E. 1972. Plasma estrogen and progesterone levels after mating during late pregnancy and postpartum in cows. *Endocrinology* 90:1336-1342.
- Hoffmann B. 1977. Bestimmung von Steroidhormonen beim weiblichen Rind. Entwicklung von Messverfahren und physiologische Daten, S. 166. In: *Fortschritte der Veterinaermedizin, Beihefte zum Zentralblatt fuer Veterinaermedizin* 36. Paul Parey, Berlin.
- Liggins G.D. 1973. Hormonal interactions in the mechanism of parturition. *Mem. Soc. Endocrinol.* 20:179.
- Liggins G.D., Grieves S.A., Kendall J.Z. & Knox B.S. 1972. The physiological roles of progesterone, oestradiol-17 β and prostaglandin. F2 in the control of bovine parturition. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.)* 16:85-103.
- Marschner J., Dobry H., Erhardt F., Ladesdorfer T., Popp B., Ringel C. & Scriba P.C. 1974. Rechnung radioimmunologischer Messwerte mittels Spline-Funktionen. *Aerztl. Lab.* 20:184-191.
- Robertson H.A. 1974. Changes in the concentration of unconjugated oestrone-17 β and oestradiol-17 β in the maternal plasma. Pregnant cow in relation to the initiation of parturition and lactation. *J. Reprod. Fertil.* 36:1-7.
- Robinson R., Barer R.D., Anastassiadis P. & Common R.H. 1970. Estrone concentrations in the peripheral blood of pregnant cows. *J. Dairy Sci.* 53:1595.
- Smith V.G., Edgerton L.A., Hafs H.D. & Convey E.M. 1973. Bovine serum estrogens, progestins and glucocorticoids during late pregnancy, parturition and early lactation. *J. Anim. Sci.* 36:391-396.
- Stabenfeldt G.H., Osburn B.J. & Ewing L.L. 1970. Peripheral plasma progesterone levels in the cow during pregnancy and parturition. *Am. J. Physiol.* 218:571-575.
- Thorburn G.D., Challis J.R.C. & Bruce Currie W. 1977. Control of parturition in domestic animals. *Biol. Reprod.* 16:18-27.