

Superovulação em caprinos da raça Moxotó com FSH-p

Superovulation in Moxotó goats with FSH-p

Alice ANDRIOLI¹; Aurino Alves SIMPLÍCIO¹; José Antônio VISINTIN²;
Adriana Trindade SOARES³

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Alice ANDRIOLI
Laboratório de Biotecnologia de
Embrões
EMBRAPA – CNPC
Caixa Postal D-10
62011-970 – Sobral – Ceará
e-mail: simplic@crpc.embrapa.br

1-Laboratório de Biotecnologia de
Embrões – EMBRAPA – CNPC
2-Departamento de Reprodução Animal
da Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP – SP
3-Bolsista CNPq

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as taxas de manifestação de sintomas de estro, de resposta superovulatória e de recuperação de embriões em 20 cabras da raça Moxotó em três tratamentos consecutivos, em intervalos de 56 dias. O ciclo estral das fêmeas foi sincronizado com esponjas vaginais contendo 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MGA) durante 11 dias e com 100 µg de cloprostenol (PGF_{2α}) administrado no nono dia. Neste dia, iniciou-se o tratamento superovulatório com 250 UI de FSH-p por cabra, fracionadas em oito doses decrescentes, com intervalo de 12 horas. A repetição do tratamento superovulatório com FSH-p diminuiu a taxa de manifestação de sintomas de estro, porém não afetou a taxa de ovulação e reduziu a taxa de regressão prematura de corpos lúteos. A taxa de recuperação de embriões foi influenciada pela ocorrência de regressão prematura de corpos lúteos e pela ação das repetidas colheitas de embriões sobre o genital. Não foi possível avaliar o efeito das repetidas superovulações sobre a taxa de recuperação de embriões.

UNITERMOS: Caprino; Superovulação; FSH-p.

INTRODUÇÃO

A colheita de embriões é usualmente precedida por tratamentos de sincronização do estro e pela superovulação, a qual é obtida pela administração de altas doses de hormônios gonadotróficos. Diferentes gonadotrofinas são utilizadas para a superovulação em caprinos, como as de origem hipofisária (FSH e LH), coriônica (eCG) ou da menopausa humana (hMG).

A grande variabilidade de tipos de gonadotrofinas aliada a outros fatores como a idade, a raça, a condição sanitária e nutricional do animal, o fabricante, a partida e, até mesmo, o tempo de estocagem da droga superovulatória e a influência ambiental são responsáveis pela imprevisível resposta ovariana em ruminantes à administração exógena de gonadotrofinas^{8,11}.

Além desta imprevisibilidade dos resultados, tem sido relatada pelos autores, em caprinos, a diminuição da resposta ovariana após repetidos tratamentos superovulatórios^{2,4,6,9,12,14}.

Na raça ovina Texel, AI-Kamali *et al.*¹ observaram queda significativa na manifestação de sintomas de estro e no número de ovelhas que ovularam, assim como diminuição não-significativa na taxa de ovulação após o segundo tratamento superovulatório com extrato da

pituitária anterior equina, administrado a intervalo de 55 a 76 dias. Da mesma forma, Hepburn⁹ relata que a repetição do tratamento superovulatório com FSH em cabras Angorá, após cinco semanas, resultou em baixa porcentagem de fêmeas que apresentaram sintomas de estro.

Tratamentos superovulatórios por duas a cinco vezes consecutivos, com FSH de origem suína (FSH-p), a intervalos de 42-55 dias, têm resultado em diminuição da resposta ovariana em caprinos^{2,12,14} e em ovinos¹⁷. No entanto, Vallet *et al.*¹⁹ não observaram diferença na resposta superovulatória em caprinos após quatro tratamentos consecutivos com FSH-p.

A repetição do tratamento com FSH-p pode resultar na formação de anticorpos contra esse hormônio, e, desta forma, a diminuição da resposta superovulatória estaria ligada ao aumento do nível de anticorpos contra essa glicoproteína em caprinos^{3,6,14}. Segundo Baril *et al.*⁴, a administração repetida de FSH de origem caprina ou ovina não determina diminuição na resposta superovulatória em pequenos ruminantes.

A regressão precoce de corpo lúteo é observada com grande frequência em caprinos, no momento da colheita de embriões, comprometendo a produção de embriões^{13,15,18}, pois está associada à diminuição da progesterona, três a quatro dias após o estro^{7,13}.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as taxas de manifestação de sintomas de estro, de resposta superovulatória e de recuperação de embriões em fêmeas caprinas durante três tratamentos consecutivos com FSH de origem suína.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido na Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (CNPC), localizado no município de Sobral - CE.

Foram utilizadas 20 cabras da raça Moxotó, pluríparas, mantidas em sistema semi-extensivo, aproveitando-se a pastagem nativa como suporte forrageiro e suplementadas com milho e sal mineral.

Os tratamentos de sincronização do estro e de superovulação foram repetidos, nas mesmas fêmeas, três vezes consecutivas, com intervalos de 56 dias. Os estros foram sincronizados com esponjas vaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona*, durante 11 dias e 100 mg de cloprostenol**, por via intramuscular, no nono dia após a colocação da esponja. Neste dia, foi iniciado o tratamento superovulatório com 250 UI de FSH-p*** por cabra, fracionadas em oito doses decrescentes (62,5 - 62,5; 31,25 - 31,25; 15,63 - 15,63 e 15,63 - 15,63UI), com intervalo de 12 horas.

Doze horas após a remoção das esponjas vaginais, as fêmeas foram colocadas com machos, comprovadamente férteis, para a detecção dos sinais de estro e a realização da cópula. A avaliação da atividade ovariana e a colheita dos embriões foram realizadas por laparoscopia entre o quinto e o sexto dia após o último acasalamento.

Para a colheita dos embriões, utilizaram-se a sonda de três vias**** e 40 ml de PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline), acrescido de 1% de soro fetal bovino, a 37°C, para cada doadora, administrando-se 20 ml por corno uterino.

As cabras foram contidas em decúbito dorsal em mesa cirúrgica para pequenos ruminantes, com inclinação de 45° em relação ao solo, permanecendo a cabeça posicionada em nível mais baixo e os membros estendidos.

Foram realizadas três incisões na pele ($\pm 1,5$ cm), sendo a primeira e a segunda equidistantes 2 cm da linha média e 5 cm do úbere e a terceira sobre a linha média e a 8 cm do úbere. Pelas incisões, a musculatura da parede abdominal foi perfurada com trocarte até atingir a cavidade. Pela primeira e segunda incisões, foram introduzidos o endoscópio e a pinça atraumática, permitindo avaliação da atividade ovariana.

Para a colheita dos embriões, o útero foi pinçado próximo à bifurcação dos cornos uterinos e perfurado com trocarte de 3 mm de diâmetro, que fora introduzido pela terceira incisão. Após retirado o trocarte, introduziu-se a sonda para a colheita de embriões, inflando-se o balão com 3 ml de ar. O útero foi liberado, pinçando-se em seguida a porção cranial do corno uterino para evitar a perda da solução pela trompa. O PBS foi administrado pela segunda via da sonda, recuperando-se o líquido com os embriões pela terceira via.

Após a colheita, foram administrados 100 μ g de cloprostenol, para lisar os corpos lúteos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância e à comparação de médias pelo teste *t* de Student. Os dados não-paramétricos foram analisados pelo teste do *Qui-quadrado*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de fêmeas que manifestaram sintomas de estro após o segundo e o terceiro tratamentos diminuiu ($p < 0,05$) em relação ao primeiro (Tab. 1), sendo que resultados análogos foram observados por Hepburn⁹ em caprinos e por AI-Kamali *et al.*¹ em ovinos. Além disso, a porcentagem de fêmeas que apresentaram sintomas de estro após a segunda e a terceira superovulações esteve abaixo dos valores relatados na literatura para caprinos tratados com progestágenos e FSH de origem suína¹⁶.

Tabela 1

Taxas de estro nos três tratamentos consecutivos de sincronização do estro e de superovulação. Sobral, 1997.

Superovulação	N	N	%
1 ^a	20	16	80,0 ^{a*}
2 ^a	20	8	40,0 ^b
3 ^a	19	9	47,4 ^b

N = número total de animais;

n = número de animais que apresentaram sintomas de estro;

% = porcentagem de animais que apresentaram sintomas de estro;

* letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Após o primeiro tratamento superovulatório, 25% das cabras apresentaram sintomas de estro 12 horas após a retirada das esponjas, 43,7% após 24 horas e 25% após 36 horas. Estes resultados mostraram tendência de as fêmeas apresentarem sintomas de estro um pouco mais cedo do que o descrito na literatura, a qual menciona o início entre 24 e

* Promorte E - Upjhon.

** Ciosin - Coopers.

*** Pluset - Serono.

**** Ovicap IMV.

48 horas após a retirada das esponjas^{13,16}. Na segunda superovulação, 25% das cabras apresentaram sintomas de estro às 24 horas e 50% às 36 horas, enquanto na terceira superovulação não houve concentração dos estros, sendo que estes se manifestaram entre 12 e 60 horas após a retirada das esponjas (Tab. 2).

Tabela 2

Taxas de estro (%) em diferentes períodos (h) após a retirada das esponjas vaginais nos três tratamentos consecutivos de sincronização do estro e de superovulação. Sobral, 1997.

Superovulação	12h	24h	36h	48h	60h
1 ^a	25,0	43,7	25,0	-	6,3
2 ^a	-	25,0	50,0	12,5	12,5
3 ^a	11,1	33,3	22,2	11,1	22,2

As porcentagens de fêmeas que ovularam após a 1^a, 2^a e 3^a superovulações foram de 65,0; 45,0; e 42,1%, e os números de ovulações por fêmea foram de 8,2; 11,0; e 8,9 (Tab. 3), respectivamente, não ocorrendo diferença significativa ($p > 0,05$) após repetidos tratamentos, o que está de acordo com Vallet *et al.*¹⁹ e contrário em relação a outros autores^{2,12,14}, que observaram diminuição na resposta superovulatória após repetidos tratamentos em caprinos.

Houve queda significativa na porcentagem de corpos lúteos regredidos precocemente, entre a 1^a (86,0%) e as 2^a e 3^a superovulações (42,4 e 16,9%), respectivamente ($p < 0,05$), conforme mostra a Tab. 3. Embora as causas da luteólise prematura não sejam conhecidas, a administração de inibidor da síntese de prostaglandina (flunixin meglumine) diminui a frequência deste fenômeno em caprinos^{5,15,18}. Alguns autores^{5,10} sugeriram que a regressão precoce de corpos lúteos pode ser

Tabela 3

Atividade ovariana nos três tratamentos consecutivos de sincronização do estro e de superovulação. Sobral, 1997.

Superovulação	N	n (%)	Corpos Lúteos totais (n)	Corpos Lúteos regredidos (%)	Número de ovulações / fêmea
1 ^a	20	13 (65,0)	107	92 (86,0) ^{a*}	8,2
2 ^a	20	9 (45,0)	99	42 (42,4) ^b	11,0
3 ^a	19	8 (42,1)	71	12 (16,9) ^c	8,9

N = número total de animais;

n (%) = número e porcentagem de animais que apresentaram superovulação;

* letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$);

(n) número de corpos lúteos.

Tabela 4

Taxa de recuperação de embriões em relação aos corpos lúteos totais (CLT - funcionais e regredidos) e aos corpos lúteos funcionais (CLF) nas três consecutivas superovulações e colheitas de embriões por laparoscopia. Sobral, 1997.

Superovulação	N	nº de embriões	nº de CLT	Taxa de recuperação de embriões / CLT	nº de CLF	Taxa de recuperação de embriões / CLF
1 ^a	20	10	107	9,35 ^{a*}	15	66,67 ^{a*}
2 ^a	20	43	99	43,43 ^b	57	75,44 ^a
3 ^a	19	12	71	16,90 ^a	59	20,34 ^b

N = número total de animais; * letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Tabela 5

Qualidade dos embriões após três superovulações consecutivas e colheitas de embriões por laparoscopia. Sobral, 1997.

Superovulação	N	nº de embriões	Embriões viáveis (grau 1 a 3)	Embriões não viáveis (grau 4 e degenerado)
1 ^a	20	10	7 (70%)	3 (30%)
2 ^a	20	43	28 (65%)	15 (35%)
3 ^a	19	12	5 (42%)	7 (58%)

N = número total de animais.

devido aos elevados níveis circulantes de estrógeno de origem folicular, que desencadeariam precocemente a liberação de prostaglandina endógena provocando a regressão dos corpos lúteos. Como o número de fêmeas manifestando sintomas de

estro após o segundo e o terceiro tratamentos diminuiu significativamente em relação ao primeiro, reduzindo, possivelmente, o nível de estrógeno circulante, é provável ser esta a causa da queda na ocorrência de regressão de corpos

lúteos após a segunda superovulação.

A avaliação da repetição do tratamento hormonal sobre a taxa de recuperação de embriões (Tab. 4) e sua viabilidade (Tab. 5) foi prejudicada pela ocorrência de regressão prematura de corpos lúteos e pela repetição da técnica de colheita de embriões.

Após a 1ª superovulação, observou-se que a taxa de recuperação de embriões, considerando-se o número de corpos lúteos totais (regredidos e funcionais) foi menor (9,35) em relação aos corpos lúteos funcionais (66,67), conforme a Tab. 4. Isto concorda com os autores^{7,13,15,18} que afirmam que regressão precoce de corpo lúteo interfere negativamente na taxa de recuperação de embriões.

Houve queda significativa na taxa de recuperação de embriões em relação ao número de corpos lúteos

funcionais na 3ª superovulação ($p < 0,05$), provavelmente devido à presença de aderências no trato genital, em decorrência da repetição da técnica de colheita de embriões.

CONCLUSÃO

A taxa de recuperação de embriões foi influenciada pela ocorrência de regressão prematura de corpos lúteos e pelo efeito das repetidas colheitas de embriões sobre o genital.

Não foi possível avaliar o efeito das repetidas superovulações sobre a taxa de recuperação de embriões.

Constatou-se que a repetição dos tratamentos superovulatórios fez diminuir a taxa de manifestação de sintomas de estro, porém não afetou a taxa de ovulação e reduziu a taxa de corpos lúteos regredidos.

SUMMARY

The aim of the work was to evaluate the rates of estrous, superovulatory response and embryos recovery in Moxotó goats after three treatments with porcine FSH. Twenty goats were synchronised with medroxyprogesterone acetate sponges (60 mg for 11days) and cloprostenol (100 µg on ninth day). The animals were superovulated with 250 IU of FSH-p in 8 decreasing doses at intervals of 12 hours. The repetition of superovulatory treatment decreased estrous symptoms, but didn't affect the ovulation rate and decreased the regressed corpus luteum rate. The embryos recovery was affected by regressed corpus luteum and embryo collection technique.

UNITERMS: Goat; Superovulation; FSH-p.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AL-KAMALI, A.A.; BOLAND, M.P.; CROSBY, T.F.; GORDON, I. Reduced superovulatory response in the ewe following repeated gonadotropin treatment. **Veterinary Record**, v.116, n.7, p.180-1, 1985.
- 2- BARIL, G.; CASAMITJANA, P.; PERRIN, J.; VALLET, J.C. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. **Zuchthygiene**, v.24, p.101-15, 1989.
- 3- BARIL, G.; CHOUVET, C.; DUFOUR, R.; REMY, B.; VALLET, J.C.; CHUPIN, D.; SAUMANDE, J.; BECKERS, J.F. Are decreased superovulatory responses in goats related to porcine follicle stimulating hormone antibodies? In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 6., Lyon, 1990. **Proceedings**. Lyon, 1990. p.122.
- 4- BARIL, G.; REMY, B.; LÉBOEUF, B.; VALLET, J.C.; BECKERS, J.F.; SAUMANDE, J. Comparison of porcine FSH, caprine FSH and ovine FSH to induce repeated superovulation on goats. In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 8., Lyon, 1992. **Proceedings**. Lyon, 1992. p.126.
- 5- BATTYE, K.M.; FAIRCLOUGH, R.J.; CAMERON, A.W.N.; TROUNSON, A.O. Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, n.2, p.425-30, 1988.
- 6- BECKERS, J.F.; BARIL, G.; VALLET, J.C.; CHUPIN, D.; REMY, B.; SAUMANDE, J. Are porcine follicle stimulating hormone antibodies associated with decreased superovulatory response in goat? **Theriogenology**, v.33, n.1, p.192, 1990.
- 7- BORQUE, C.; PINTADO, B.; PEREZ, B.; GUTIERREZ, A.; MUNOZ, I.Y.; MATEOS, E. Progesterone levels in superovulatory Murciana goats with or without successful embryo collection. **Theriogenology**, v. 39, n.1, p.192, 1992.
- 8- BRAILEANU, G.T.; ALBANESE, C.; CARD, C.; CHEDRESE, P.J. FSH bioactivity in commercial preparations of gonadotropins. **Theriogenology**, v.49, n.15, p.1031-7, 1998.
- 9- HEPBURN, J. Successful embryo transfer in Angora goats. In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 3., Lyon, 1987. **Proceedings**. Lyon, 1987. p.155-7.
- 10- ISHWAR, A.K.; MEMON, M.A. Embryo transfer in sheep and goats: a review. **Small Ruminant Research**, v.19, p.35-43, 1996.
- 11- MAPLETOFT, R.J.; BO, G.; MURPHY, B.D. The effect of biological activity of gonadotropins on superovulation in the cow. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, p.74-92, 1991. Suplemento 3.
- 12- NUTI, L.C.; MINHAS, B.S.; BAKER, W.C.; CAPEHART, J.S.; MARRACK, P. Superovulation and recovery of zygotes from Nubian and Alpine dairy goats. **Theriogenology**, v.28, n.4, p.481-8, 1987.

- 13- OLIVEIRA, V.S. **Efeitos do hormônio folículo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em cabras (*Capra hircus*, LINNAEUS, 1758) utilizadas em transferência de embriões.** São Paulo, 1992. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- 14- REMY, B.; BARIL, G.; VALLET, J.C.; DUFOUR, R.; CHOUVET, C.; SAUMANDE, J.; CHUPIN, D.; BECKERS, J.F. Are antibodies responsible for a decreased superovulatory response in goats which have been treated repeatedly with porcine follicle stimulating hormone? **Theriogenology**, v.36, n.3, p.389-99, 1991.
- 15- SOARES, A.T.; SIMPLÍCIO, A.A.; PINHEIRO-ANDRIOLI, A.; SALES, H.O.; MOURA-SOBRINHO, P.; SOARES, B.A.; WANDERLEY, K.O. Use flunixin meglumine to impede premature regression of corpus luteum superovulation in goats. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.11, n.2, p.113, 1995.
- 16- TANEJA, M.; PAWSHE, C.H.; GURON, C.S.; SINGH, G.; TOTTEY, S.M.; TALWAR, G.P. Superovulation of Barbari goats with Folltropin: the effect of dose. **Theriogenology**, v.35, n.1, p.280, 1991.
- 17- TORRES, S.; SEVELLEC, C. Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. **Reproduction Nutrition Development**, v.27, p.858-63, 1987.
- 18- TRALDI, A.S.; VISINTIN, J.A.; SILVA, E.C.; MIZUTA, K.; DELA LIBERA, A.M.P.; RODRIGUES, P.H.M. Eficácia de tratamento antiprostaglandínico na prevenção da regressão prematura dos corpos lúteos em caprinos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v.24, p.220, 1996. Suplemento.
- 19- VALLET, J.C.; BARIL, G.; ROUGIER, F.; CHUPIN, D.; PROCUREUR, R.; CORTEEL, J.M. Feasibility and repeatability of embryos recoveries from dairy goats under laparoscopy. *In: SCIENTIFIC MEETING OF EUROPEAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION*, 3., Lyon, 1987. **Proceedings**. Lyon, 1987. p.159.

Recebido para publicação: 21/11/1997
Aprovado para publicação: 20/09/2000