

Avaliação do uso de Hormônio Luteinizante (LH) como indutor da ovulação em porcas

Assessment of the Luteinizing Hormon (LH) use in ovulation induction in sows

Pedro Henrique CANDINI¹;
Aníbal de Sant'Anna MORETTI¹;
Eraldo Luis ZANELLA²;
Paulo Roberto Souza da SILVEIRA³;
Carlos Henrique Cabral VIANA¹;
Renato VALENTIM⁴

1- Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo - SP
2- Faculdade de Medicina Veterinária de Passo Fundo, Passo Fundo - RS
3- EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves, Concórdia - SC
4- TECNOPEC, São Paulo - SP

Resumo

A pesquisa, desenvolvida num sistema de produção de suínos, estudou a efetividade do hormônio luteinizante (LH) na indução das ovulações. Vinte e quatro fêmeas constituíram o grupo controle e trinta e duas receberam a injeção intramuscular de 600 UI de eCG (Novormon 5000[®]), 24 h após a desmama e 5 mg de LH (Lutropin - V[®]), 56 h após a injeção de eCG, caracterizando o grupo tratado. O estro foi observado 2 vezes ao dia, a ovulação detectada por ultra-sonografia transcutânea e taxa de ovulação (TO) determinada por contagem de corpos lúteos. O intervalo desmama-estro (IDE) foi reduzido ($P = 0,01$) pelo tratamento (87,4 vs 98,5 horas). As ovulações ocorreram entre 32 e 48 h ($37,25 \pm 3,65$) após LH e foi diferente ($P < 0,0001$) do controle ($63,67 \pm 20,22$, variando de 32 a 104 h). A TO do tratamento foi semelhante ($P = 0,2$) à do controle ($23,16 \pm 12,19$ vs $20,08 \pm 5,19$, respectivamente).

Palavras-chave:
LH.
Sincronização.
Ovulação.
Gonadotrofinas.
Suínos.

Correspondência para:

PEDRO HENRIQUE CANDINI
Departamento de Reprodução Animal
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP
Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87
Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira
05508-270 - São Paulo - SP
phcandini@uol.com.br

Recebido para publicação: 08/09/2003
Aprovado para publicação: 25/03/2004

Introdução

Esquemas mais aperfeiçoados de inseminação artificial (IA) podem ser implementados, determinando-se um tempo fixo para possibilitar a presença de espermatozóides viáveis em quantidade suficiente para fecundar os oócitos. No entanto, a elevada variabilidade na duração do estro¹ e no intervalo entre o início do estro e ovulação², dificulta a melhor definição de um esquema eficiente para a IA, uma vez que, o momento ideal para inseminar possui estreita relação com a ovulação. Além disto, os programas atuais de inseminação baseiam-se no intervalo médio de ocorrência da ovulação para sua realização, resultando em inseminações tardias ou precoces em relação

à ovulação.

Procurando minimizar essa variabilidade, métodos para sincronizar o estro em rebanhos suínos têm sido desenvolvidos³, gerando questionamentos sobre a possibilidade de identificação de algum preditor do momento da ovulação e estimulando a realização de inúmeras pesquisas. Neste raciocínio, os potenciais preditores para ovulação, como o início do estro^{4,5,6}, intervalo desmama - estro², condutividade do muco vaginal⁷, temperatura vaginal⁸ e diâmetro folicular⁹, não foram efetivos para precisar o momento da ovulação.

O emprego de gonadotrofinas na indução e sincronização da ovulação, em fêmeas suínas, visando a realização da IA num

momento pré-determinado, caracteriza-se em prática facilitadora no manejo reprodutivo que possibilita o sucesso no processo de fecundação.^{3,10,11} A mais adequada combinação hormonal é aquela que proporciona efeito positivo e desejável na qualidade do oócito e menor diferencial de recrutamento de folículos.¹²

O padrão da onda de LH parece ser um parâmetro endocrinológico determinante do momento da ovulação, uma vez que a relação dos níveis de LH com a ovulação apontam a ocorrência desta após 44 ± 3 horas do início da onda de LH. O intervalo médio entre o pico de LH e ovulação é de 30 ± 3 horas, sendo relativamente constante entre porcas (26 a 34 horas).¹

Por outro lado, o momento do pico de concentração de LH está relacionada com a ocorrência da ovulação, mas não ao início do estro. Deste modo, o pico de LH pode ocorrer entre 10 horas antes e 36 horas após o início do estro e essa variabilidade entre o pico pré-ovulatório de LH e o início do estro, impossibilita o uso desse parâmetro como preditor da ovulação.^{1,13,14}

A aplicação de 750 - 800 UI de eCG, 24 horas após a remoção dos leitões, é capaz de promover crescimento folicular suficiente para ocorrência do estro após 3 ou 4 dias, valores estes, desejáveis para uma elevada performance reprodutiva.^{10,11}

Essa estimulação do estro com eCG, pode ser complementada pela aplicação da gonadotrofina coriônica humana (hCG), ou do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Esta avaliação tem o objetivo de controlar ou mimetizar a liberação pré-ovulatória de LH, possibilitando a predição do momento da ovulação e permitindo que a IA seja realizada em tempos fixos, estabelecidos para atingir o período de máxima fecundação.^{10,11,15,16} Classicamente, para a sincronização da ovulação, aplica-se a injeção de eCG após 24 horas da desmama e a de hCG ou GnRH, 72 horas após aplicação de eCG.¹⁶

As ovulações acontecem, em média, 37 horas (24 a 40 horas) e 36 horas (33 a 40

horas) após injeção de 500 UI de hCG e de 300 UI de hCG associadas a 300 µg de GnRH, respectivamente⁶. Resultados semelhantes são relatados quando se induz a ovulação com 50 µg de GnRH ($35,1 \pm 4,8$ horas e 36,4 horas, variando entre 29 e 38,5 horas)^{15,17} ou com 750 UI de hCG (40 ± 1 horas).⁹

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi verificar, através da análise do momento da ovulação, diagnosticada por ultra-sonografia transcutânea, e determinação da taxa de ovulação, a efetividade da aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e hormônio luteinizante (LH) suíno purificado na sincronização das ovulações, até então desconhecida em protocolos de indução de ovulações.

Materiais e Métodos

Utilizaram-se 56 fêmeas Camborough 22 (PIC[®]) após desmama dos leitões, 24 no grupo controle e 32 tratadas com aplicação intramuscular profunda de 600 UI de eCG (Novormon 5000[®], Syntex S.A., Argentina), 24 horas após a desmama e de 5 mg de LH porcino (Lutropin - V[®], Vetrepharm Canadá Inc., Canadá), 56 horas após a aplicação de eCG.

O estro, definido pelo teste de tolerância positivo na presença do macho adulto, foi observado 2 vezes ao dia, em intervalos de 12 horas. O momento da ovulação foi detectado por exames ultra-sonográficos transcutâneos (Concept-Dynamic Imaging, na frequência de 5 MHz), realizados em intervalos de 8 horas, iniciando-se após 12 horas da aplicação do LH até o momento de detecção da ovulação. A ovulação foi determinada quando, ao exame ultra-sonográfico, nenhum folículo foi encontrado ou o número de folículos foi menor que no exame anterior. O momento da ovulação constituiu no período de tempo médio entre exames até a ocorrência da ovulação.

Cerca de 44 horas após a aplicação do LH, as fêmeas que tiveram a ovulação diagnosticada pela ultra-sonografia foram

abatidas para determinação da taxa de ovulação, por meio da contagem de corpos hemorrágicos e corpos lúteos. As que não ovularam até este momento, continuaram sendo examinadas até a detecção da ovulação, sendo abatidas na semana posterior.

Análise estatística

No presente experimento, em delineamento experimental inteiramente casualizado, empregou-se o programa computacional Statistical Analysis System.¹⁸ As médias do intervalo desmama - estro (IDE), do intervalo entre aplicação do LH e a ovulação (LH - OV) e da taxa de ovulação (TO), em fêmeas tratadas e controles, foram comparadas pelo teste t de Student. A homogeneidade de variâncias nas

características IDE e LH - OV foi testada pelo Teste de Hartley. O nível de significância foi de 5% para todos os testes realizados.

Resultados

Os resultados demonstraram IDE significativamente reduzido ($P = 0,01$) pela aplicação de gonadotrofinas (87,4 vs 98,5 horas, grupos tratados e controle, respectivamente) observando-se menor dispersão nos valores do tratamento hormonal (Tabelas 1 e 2). As ovulações das 32 fêmeas tratadas com os hormônios ocorreram entre 32 e 48 horas ($37,25 \pm 3,65$) após a aplicação do LH sendo diferentes ($P < 0,0001$) dos resultados do momento de ovulação para as 24 fêmeas do grupo controle

Tabela 1

Médias, desvios padrão e variação do intervalo desmama - estro (IDE), da taxa de ovulação (TO) e do intervalo entre a aplicação de LH e ovulação (LH - OV) em fêmeas tratadas e controles. Faxinal dos Guedes - SC, 2000

Variáveis	Tratadas (n = 32)	Controles (n = 24)
	Média e desvio padrão (variação)	Média e desvio padrão (variação)
IDE (horas)*	87,4 \pm 9,4 ^a (74 a 110)	98,5 \pm 16,0 ^b (77 a 137)
TO (n° de CLs)**	23,2 \pm 12,2 (2 a 76)	20,1 \pm 5,2 (7a 30)
LH-OV (ho±as)***	37,3 \pm 3,7 ^a (32 a 48)	63,7 \pm 20,2 ^b (32 a 112)

Médias seguidas por letras sobrescritas diferentes, dentro do mesmo item e mesma linha diferem estatisticamente (* $P = 0,01$; ** $P = 0,2$; *** $P < 0,0001$)

Tabela 2

Distribuição do número e percentual de fêmeas tratadas (T) e controle (C) de acordo com o momento da ovulação em relação à aplicação do LH, nos exames ultra-sonográficos (US) realizados a cada 8 horas. Faxinal dos Guedes - SC, 2000

Momento da ovulação (h após LH) intervalo entre US (média)	T (n = 32)		C (n = 24)	
	%	n	%	n
24 a 32 (28)	0	0	0	0
32 a 40 (36)	37,5	12	4,2	1
40 a 48 (44)	62,5	20	16,7	4
56 a 64 (60)	0	0	37,5	9
64 a 72 (68)	0	0	4,2	1
72 a 80 (76)	0	0	12,5	3
80 a 88 (84)	0	0	8,3	2
88 - 96 a 104 - 112 (92 a 108)	0	0	16,7	4

(63,67 ± 20,22, com variação entre 32 e 104 horas). A TO constatada em fêmeas que receberam o tratamento com gonadotrofinas foi semelhante (P = 0,2) à do grupo controle (23,16 ± 12,19 vs 20,08 ± 5,19, respectivamente).

Discussão e Conclusões

O experimento realizado teve por objetivo, colher informações sobre os efeitos do LH suíno purificado, por ainda não ter sido testados em protocolos de sincronização e indução de ovulações.

Apesar da dose recomendada de eCG, como estimulador do desenvolvimento folicular e iniciador do ciclo estral, em protocolo tradicional, ser de 750 - 800 UI^{10,11}, o uso de 600 UI de eCG, dose mínima recomendada para múltiparas, demonstrou efetividade, nas condições do presente trabalho.

Assim sendo, o IDE médio observado neste experimento reduziu-se nas fêmeas tratadas com gonadotrofinas (87,4 horas ± 9,45) em relação à do controle (98,5 ± 16,01 horas) (P = 0,01), notando - se, inclusive, menor dispersão nos valores e maior concentração dos estros. A redução do IDE relaciona-se ao estímulo do desenvolvimento folicular provocado pela utilização da eCG^{10,11,17} e assume destaque no que concerne à diminuição dos dias improdutivos nas granjas.

O valor médio do IDE do grupo controle (98,5 ± 16 horas, variando entre 77 e 137) assemelha-se às 92 ± 13 (64 - 134) horas relatadas por Nissen et al.⁴ em 118 fêmeas com ordem de parto de 2 a 9, e às 93 ± 18 (65 - 153) horas mencionadas por Soede et al.⁵.

Os valores de IDE das fêmeas controle, mesmo sendo maiores do que os do tratamento hormonal (P = 0,01), encontram-se dentro dos parâmetros desejáveis para um bom desempenho reprodutivo^{11,19,20,21}, ressaltando-se, em particular, a homogeneização de fêmeas para formação dos grupos experimentais, não

considerando, nesse caso, fêmeas com intervalos menores que 3 e maiores que 6 dias. A aplicação desse hormônio em criações com falhas reprodutivas relacionadas à IDE longos ou anestros pós-desmame, talvez seja de interesse, uma vez que interferem na maximização da produtividade.

O valor médio da TO não diferiu do valor encontrado nas fêmeas controle (23,16 ± 12,19 e 20,08 ± 5,19, respectivamente no T1 e T2; P = 0,2). Os valores foram semelhantes aos dos estudos de Viana et al.²², após o uso dos mesmos hormônios e da mesma maneira demonstrada por Soede et al.⁵ e Nissen et al.⁴, em fêmeas ciclando naturalmente.

As ovulações induzidas com hormônios ocorreram no período entre 32 e 48 horas (37,3 ± 3,7) após a aplicação do LH, enquanto que, no grupo que estava ciclando naturalmente, aconteceram entre 32 e 112 horas (63,7 ± 20,2), assim, todas as ovulações foram concentradas em um intervalo de 16 e 80 horas, respectivamente nas fêmeas tratadas e controle, evidenciando a sincronização da ovulação promovida pela aplicação de LH.

O intervalo entre aplicação de LH e a ovulação, por outro lado foi próximo aos da indução com hCG e GnRH^{9,10,15}, ressaltando-se o desvio padrão de apenas 3,65 h para o tempo médio de ovulação após a aplicação de LH.

As informações observadas quanto a ação das gonadotrofinas na mimetização dos padrões hormonais endógenos, em fêmeas desmamadas, demonstram a eficiência da utilização do LH suíno na técnica de indução e sincronização de ovulações. No presente trabalho, através dos valores de LH-OV, verificou-se 100 % das ovulações ocorrendo no período entre 32 e 48 h após LH.

O uso da combinação hormonal desenvolvida no Laboratório de Pesquisa em Suínos, tem cunho não terapêutico, servindo de prática de manejo que trará, num futuro próximo, além de sincronizações

efetivas, a facilitação nas programações das granjas, quanto a formação de grupos de fêmeas e consequentes produtos, de forma homogênea, sem a variabilidade comum e constante encontrada na maioria das criações.

Além disso, o elevado grau de sincronização das ovulações pode ajudar nos estudos científicos sobre intervalo entre inseminação e ovulação, através da pré - determinação do tamanho amostral dos tratamentos, já que, até então, pesquisas trabalharam com ovulação espontânea, não sendo possível a equalização dos grupos de acordo com o intervalo entre inseminação e

ovulação. Tornam-se interessantes, futuros estudos sobre IA em tempo fixo com reduzido número de doses inseminantes, IA em tempo fixo com sêmen congelado, IA intra-uterina e sincronização para transferência de embriões.

Agradecimentos

Agradecemos às empresas SADIA S.A. e TECNOPEC pelo apoio para realização desse experimento e à FAPESP por seu apoio financeiro.

Abstract

The research, developed in a swine production system, examined the effectivity of luteinizing hormone (LH) in ovulation induction. Twenty four sows compose the control group and thirty two sows received intramuscular application of 600 IU of eCG (Novormon 5000[®]), 24 h after weaning and 5 mg of LH (Lutropin - V[®]), 56 h after eCG injection (treated group). Oestrus were observed twice a day, the ovulation detected by transcutaneous ultrasonography and ovulation rate (OR) determined by corpora lutea counting. The weaning-to-oestrus interval (WEI) were reduced ($P=0,01$) by treatment (87,4 vs 98,5 h). The ovulations occurred among 32 and 48 h ($37,25 \pm 3,65$) after LH and were different ($P < 0,0001$) of control ($63,67 \pm 20,22$, range: 32 - 104 h). The OR of treatment was similar ($P = 0,2$) on the control ($23,16 \pm 12,19$ vs $20,08 \pm 5,19$, respectively).

Key-words:

LH.
Synchronization.
Ovulation.
Gonadotrophins.
Sows.

Referências

1. SOEDE, M. N.; HELMOND, F. A.; KEMP, B. Periovalutary profiles oestradiol, LH and progesterone in relation to oestrus and embryo mortality in multiparous sows using transrectal ultrasonography to detect ovulation. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, p. 633-641, 1994.
2. WEITZE, K. F.; WAGNER-RIETSCHER, H.; WABERSKI, D.; RICHTER, L.; KRIETER, J. The onset of heat after weaning, heat duration, and ovulation as major factors in IA timing in sows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 29, p. 433-443, 1994.
3. DAY, B. N. Sincronização controlada do estro e ovulação em suínos. In: 7. SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM SUÍNOS, 2000, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** 2000.
4. NISSEN, A. K. et al. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter in sows, as investigated by ultrasonography. **Theriogenology**, v. 47, p. 1571-1582, 1997.
5. SOEDE, N. M. et al. Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, p. 99-106, 1995.
6. TERQUI, M. et al. Relationship between peri-oestrus progesterone levels and time of ovulation by echography in pigs and influence of the interval between ovulation and artificial insemination (AI) on litter size. **Reproduction Nutrition and Development**, v. 40, p. 393-404, 2000.
7. STOKHOF, S.; SOEDE, N. M.; KEMP, B. Vaginal mucus conductivity as measured by Walsmeta MKIV does not accurately predict the moment of ovulation or the optimum time for insemination in sows. **Animal Reproduction Science**, v. 41, p. 305-310, 1996.
8. SOEDE, M. N.; HAZELINGER, W.; BROOS, J.; KEMP, B. Vaginal temperature is not related to the time of ovulation in sows. **Animal Reproduction Science**, v. 47, p. 245-252, 1997.
9. NISSEN, A. K. et al. Follicular development and

- ovulation in sows: effect of hCG and GnRH treatment. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 36, p. 123-143, 1995.
10. HÜHN, U.; JÖCHLE, W.; BRÜSSOW, K. P. Techniques developed for the control of estrus, ovulation and parturition in the east german pig industry : a review. *Theriogenology*, v. 46, p. 911-924, 1996.
 11. WÄHNER, M.; HÜHN, U. New aspects of the management of reproduction in pig. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 31, p. 477-482, 1996.
 12. CARBONE, A. **Emprego de gonadotrofinas exógenas na indução e sincronização da puberdade em marrãs**. 2002. 60 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
 13. DALIN, A. M. et al. Ovarian activity at naturally attained oestrus in the sow. An ultrasonographic and LH study. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 36, p. 377-382, 1995.
 14. MBURU, J. N.; EINARSSON, S.; DALIN, A. M.; Rodriguez-Martinez, H. Ovulation as determined by transretal ultrasonography in multiparous sows: relationships with oestrous symptoms and hormonal profiles. *Journal of Veterinary Medicine Association*, v. 42, p. 285-292, 1995.
 15. BRÜSSOW, K. P.; JÖCHLE, W.; HÜHN, U. Control of ovulation with a GnRH analog in gilts and sows. *Theriogenology*, v. 46, p. 925-934, 1996.
 16. ZIECIK, A. J. et al. Induction of fertile estrus in prepuberal gilts and weaned sows. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 31, p. 469-472, 1996.
 17. ESTIENNE, M. J.; HARTSOCK, T. G. Effect of exogenous gonadotropins on the weaning-to-estrus interval in sows. *Theriogenology*, v. 49, p. 823-828, 1998.
 18. SAS Institute Inc. 1990; **SAS/STAT® User's guide: version 6**. 2 ed. Cary, NC, USA: SAS, 1990.
 19. KEMP, B.; SOEDE, N. M. Relationship of weaning-to-estrus interval to timing of ovulation and fertilization in sows. *Journal Animal Science*, v. 74, p. 944-949, 1996.
 20. LEMAN, A. D. Mate sows once 3-5 days after weaning. *Journal of Reproduction and Fertility*, p. 3-17, 1990. Suppl. 40.
 21. LEMAN, A. D. Optimizing farrowing rate and litter size and minimizing nonproductive sow days. *Veterinary Clinics of North America*, v. 8, p. 609-621, 1992.
 22. VIANA, C. H. C. et al. Taxa de fecundação, viabilidade embrionária e número de espermatozóides acessórios em porcas submetidas a diferentes intervalos inseminação-ovulação. In: 10. CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Associação Brasileira de Veterinários Especialistas em suínos, 2001. v. 1, p. 275-276.