

A SOMATOTROFINA BOVINA RECOMBINANTE SOBRE A OVULAÇÃO, CONDIÇÃO CORPORAL E NÍVEIS SÉRICOS DE COLESTEROL E GLICOSE EM OVINOS¹

BOVINE RECOMBINANT SOMATOTROPIN ON OVULATION, BODY CONDITION SCORE AND CHOLESTEROL AND GLUCOSE SERUM LEVELS IN SHEEP

Andréa Azevedo Pires de Castro² Mirela Noro³ Marcelo Cecim⁴

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi o de avaliar o efeito da somatotrofina bovina recombinante (BSTr) sobre a taxa de ovulação após a indução, sobre o metabolismo intermediário do colesterol e da glicose em ovelhas, e no o ganho de peso de cordeiros lactentes cujas mães foram tratadas com BSTr bem como as variações do peso e escore corporal das mesmas. Utilizou-se para tanto 3mg/kg de BSTr em formulação de liberação prolongada em dose única para o primeiro experimento e, 4mg/kg para o segundo. No primeiro experimento, os resultados obtidos mostraram que a incidência de estro foi de 100% nos grupos controle e tratado, onde o número de corpos lúteos encontrados foi de $0,9 \pm 0,18$ no grupo controle e $1,18 \pm 0,12$ no grupo tratado, não sendo diferentes estatisticamente. Também não houve diferenças entre os grupos quanto aos níveis de colesterol e glicose. No experimento 2, houve uma diminuição na condição corporal das ovelhas do grupo tratado entre os dias 1 e 10 e seu aumento entre os dias 10 e 20, ($p < 0,05$). O peso dos cordeiros, das ovelhas e a variação do escore corporal entre os dias 1 e 20 não diferiram estatisticamente. Conclui-se que a somatotrofina bovina recombinante não interfere na taxa de ovulação em ovelhas, bem como no metabolismo intermediário do colesterol e da glicose destes animais. O seu uso afeta os escores corporais dos animais tratados alguns dias após o início do tratamento.

Palavras-chave: ovelhas, cordeiros, progesterona, somatotrofina, taxa de ovulação, glicose, colesterol, ganho de peso, escore corporal.

SUMMARY

The aim of the present study was to investigate if the rBST was able to improve ovulation rates in ewes synchronized with progesterone, to verify its effects on cholesterol and glucose metabolism (experiment one) and to evaluate weight gain in lactating ewes and their products (experiment two). Ewes were treated with 3mg/kg of rBST in the first experiment and 4mg/kg in the second. Ovulation rates were 0.9 ± 0.18 for the control group and 1.18 ± 0.12 for the treated group, and were not statistically different. Additionally, no differences between the groups were found in glucose and cholesterol serum levels in the first experiment. On the second experiment, body conditions scores in the treated group were decreased between days 1 to 10, then, increased between days 10 to 20 ($p < 0.05$). Weight gain of lambs and ewes and body condition scores variations between days 1 and 20 were not different. In conclusion, rBST is not able to affect ovulation rates or energy metabolism in ewes. However, its use can affect ewes body condition scores at the beginning of the treatment.

Key words: ewes, lambs, prostaglandin, somatotropin, ovulation rates, glucose, cholesterol, weight gain, body score.

INTRODUÇÃO

As ovelhas possuem uma atividade reprodutiva sazonal e só começam a ciclar após ao solstício de verão que atua através do aumento da secreção pineal de melatonina, que é maior nos períodos de menor luminosidade (BOLAND *et al.*,

¹Extraído da dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária da primeira autora, apresentada na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

²Médico Veterinário, Mestre (UFSM).

³Médico Veterinário, autônoma.

⁴Médico Veterinário, PhD., Professor de Clínica de Grandes Animais, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: mcecim@lince.hcv.ufsm.br. Autor para correspondência.

1990). Autores como YEATS (1949) estabelecem que o principal fator no desencadeamento do estro é o fotoperíodo sendo que os dias mais longos da primavera levam à interrupção do período reprodutivo e os dias mais curtos do outono são associados ao aparecimento do estro.

Devido a isso, HENDERSON *et al.* (1984) defendem que a sincronização do estro oferece ao produtor um grande número de vantagens práticas e, segundo esses autores, as ovelhas sincronizadas estarão em um estado similar de produção. Portanto, seu manejo, bem como um melhor aproveitamento de recursos como pastagens, utilização do macho e posterior comercialização dos produtos, torna-se mais fácil.

De acordo com BOLAND *et al.* (1990), existem vários meios de se manipular a estação reprodutiva em ovelhas, dentre elas são citadas a manipulação do fotoperíodo, a administração de melatonina, progesterona, prostaglandina, GnRH, a imunização contra hormônios ovarianos e a introdução de carneiros reprodutores em grupos de ovelhas previamente isoladas do “efeito macho”. Esses autores consideram que o único método de sincronização de estro durante a estação reprodutiva a encontrar ampla aplicação prática é o uso de progesterona. Nessa perspectiva, afirmam que é possível obter-se um controle satisfatório do estro em ovelhas utilizando-se progesterona em dispositivos intravaginais levando-se assim a um alto grau de sincronização, com a entrada de até 95% das ovelhas do rebanho em estro 24 a 48 horas após a retirada do pessário intravaginal.

As ovelhas que manifestam cio precocemente, pós-sincronização, têm, provavelmente, uma taxa de ovulação superior em relação às outras (BINDON *et al.*, 1979). Segundo KILLEN & MOORE (1970), o uso de gonadotrofina coriônica equina (eCG) provoca um aumento da taxa ovulatória e uma antecipação da ovulação, em relação ao início do cio, por duas a três horas. No hemisfério norte, a utilização de eCG na dose de 25 UI em ovelhas sincronizadas com progesterona proporciona índices de prenhez significativamente superiores à utilização de 500 a 750 UI de eCG (HACKETT, 1982). Na estação reprodutiva, MAXWELL *et al.* (1984) aconselham a utilização de 400UI de eCG, enquanto EVANS & MAXWELL (1987) sugerem a utilização de 400 a 500UI de eCG.

Em bovinos, as técnicas de ablação folicular revelaram-se métodos eficientes de sincronização das ondas foliculares, sendo que o tratamento com BSTr, nesta espécie, mostrou-se capaz de aumentar a população de folículos antrais ovarianos (GONG *et al.*, 1996, KIRBY, 1997).

BURATINI *et al.* (1999) demonstram que as técnicas de ablação folicular representam um método eficiente de sincronização folicular e que o tratamento com BSTr aumenta a população de folículos antrais em novilhas Nelore. Segundo esses autores, o aumento na população de folículos antrais, após tratamento com rBST, tem sido repetidamente relatados em *Bos taurus taurus* nos últimos dez anos. Assim, em seus experimentos, foram observados um aumento do número de folículos pequenos (< 5mm) acompanhados de aumentos nas concentrações plasmáticas da somatotrofina (ST) e do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1). Também, aumentos das concentrações plasmáticas da ST e IGF-1 têm sido relatados após o tratamento com BSTr, o que sugere a participação dessas substâncias no mecanismo pelo qual o BST estimula o desenvolvimento folicular (GONG *et al.*, 1996; KIRBY, 1997).

De um lado, o aumento dos níveis de IGF-1 tem sido atribuído ao estímulo à produção hepática de IGF-1, sendo que o fígado é reconhecido como o principal sítio de síntese de IGF-1 e expressa grande quantidade de receptores para BST como também produz IGF-1 em resposta ao tratamento com BST (GLUCKMAN *et al.*, 1987; PEEL & BAUMAN, 1987). Por outro lado, os folículos ovarianos têm sido reconhecidos como um sítio importante para a ação do IGF-1 por expressarem uma quantidade considerável de receptores para esse fator de crescimento (SPICER & ECHTERNKAMP, 1995).

Recentemente, a importância para o desenvolvimento folicular foi demonstrada por ZHOU *et al.* (1997) que observaram a redução da expressão gênica dos receptores para FSH e da aromatase associada à incapacidade dos folículos em se desenvolver normalmente além da fase antral inicial em camundongos com deleção do gene codificador do IGF-1. Anteriormente a esse estudo, a capacidade do IGF-1 de aumentar a sensibilidade às gonadotrofinas e de estimular a proliferação e a esteroidogênese em células cultivadas da granulosa já havia sido repetidamente relatada (SPICER & ECHTERNKAMP, 1995; ADASHI *et al.*, 1998).

Finalmente, CHASE *et al.* (1998), estudando novilhas com deficiência de receptores de ST, demonstraram evidências *in vivo* da importância do IGF-1 para a fisiologia ovariana, uma vez que a produção de IGF-1 depende da ação do GH. Os animais estudados apresentaram níveis sistêmicos de IGF-1 anormalmente baixos, acompanhados por uma diminuição drástica da população de folículos pequenos (2 a 5mm). BURATINI *et al.* (1999) observaram aumento nas concentrações plasmáticas

de ST e IGF-1 que acompanharam o efeito positivo do BST sobre o desenvolvimento folicular. O aumento das concentrações plasmáticas de ST foi detectado no primeiro dia após o tratamento com 320mg de BST/novilha, indicando sua pronta absorção. A somatotrofina possui também ações que afetam o metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios, o que comprova o seu envolvimento com o balanço energético do organismo.

Em ruminantes, a somatotrofina estimula a lipólise e a resistência periférica à insulina (DUQUETTE *et al.*, 1985 e WALTON & ETHEBERTON, 1986). Estas ações da somatotrofina acabam por poupar glicose para ser utilizada pelo cérebro, placenta e pela glândula mamária durante a lactação. Quanto às influências do BST sobre a lactação em ovelhas, SANDLES *et al.* (1988) propõem que inicialmente o BST afeta a distribuição de nutrientes possibilitando um maior aporte dos mesmos para a glândula mamária, o que resultaria em aumento da produção. Para os mesmos autores, a longo prazo, seu efeito seria o de aumentar o consumo de alimentos, proporcionando nutrientes adequados para a manutenção da produção. Em um sentido geral, a somatotrofina antagoniza a ação da insulina, porém, algumas vezes, sua ação é exercida de modo indireto via IGF-1, receptores e proteínas ligantes. Metabolicamente a somatotrofina é inibida pela hiperglicemia, por níveis crescentes de ácidos graxos e pela obesidade (NORMAN & LITWACK, 1987; MALOZOWSKI *et al.*, 1995).

Nos experimentos realizados, objetivou-se estudar os efeitos da somatotrofina recombinante bovina (BSTr) na taxa de ovulação, no ganho de peso e no escore corporal das ovelhas e de cordeiros lactentes cujas mães receberam tratamento com BSTr, bem como analisar seus efeitos nos níveis séricos de glicose e colesterol nos animais tratados.

MATERIAL E MÉTODOS

No experimento 1, realizado em fevereiro de 2000, foram utilizadas vinte e uma ovelhas mestiças Texel e Ile de France, hípidas, selecionadas mediante exame clínico. No dia 0 do experimento, os animais foram identificados com brincos, vermifugados e separados em grupo controle (G1), com 10 animais e grupo tratado (G2), com 11 animais. Nesse dia, procedeu-se a introdução de pessários intravaginais impregnados com progesterona em todos os animais. No dia 5 do experimento, foram administrados 3mg/kg de BSTr^a no grupo tratado e realizada a primeira dentre três coletas de sangue para quantificação dos níveis séricos de glicose^b e colesterol^c nos dois grupos por

análise colorimétrica. No dia 11 do experimento, procedeu-se à retirada dos pessários intravaginais, a aplicação de 0,06mg/kg de prostaglandina^d por animal e realizada a segunda coleta de sangue para dosagem dos níveis séricos de glicose e colesterol. Entre os dias 11 e 14 do experimento, foram introduzidos carneiros nos grupos de ovelhas e anotadas as ovelhas marcadas. No dia 18 do experimento, realizou-se laparoscopias exploratórias com incisões nas regiões para-mamárias direita e esquerda, localização dos ovários e contagem dos corpos lúteos para a avaliação das taxas de ovulação dos animais, bem como a terceira coleta de sangue para a avaliação dos níveis séricos de colesterol e glicose.

Para o segundo experimento, realizado durante os meses de julho e agosto de 2000, foram utilizadas dezenove ovelhas Suffolk, não primíparas, com cria ao pé e com partos não gemelares separadas em grupo controle (G1) e grupo tratado (G2). Cada conjunto ovelha-cordeiro foi introduzido no estudo no décimo quarto dia após o nascimento do produto. Nesse dia, foram realizadas a primeira pesagem do cordeiro e da ovelha, a primeira tomada do escore corporal da mãe, pelo método de GNAD *et al.* (2000) e a aplicação de 4mg/kg de BSTr nas ovelhas do grupo G2. As pesagens e as tomadas dos escores corporais foram repetidas após 10 e 20 dias do início do estudo para cada animal. Os resultados obtidos nos dois experimentos foram submetidos à análise estatística utilizando-se o teste T de Student.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, os resultados obtidos com a laparoscopia pela contagem de corpos lúteos para a verificação das taxas de ovulação não demonstraram existir diferença estatística significativa entre o grupo controle e o tratado com somatotrofina bovina recombinante (Figura 1). Esses resultados estão de acordo com os apresentados por DAVIS & GLUCKMAN (1990); ECKERY *et al.* (1994) e SCARAMUZZI *et al.* (1999), que utilizaram respectivamente 5mg de rbBST por via intramuscular, 3mg de BSTr por via subcutânea e 0,89mg de somatotrofina ovina (OST), a cada oito horas durante 80 horas começando trinta e duas horas após a retirada dos pessários intravaginais sem observarem aumentos nas taxas ovulatórias em ovelhas tratadas com rbBST.

Já SCARAMUZZI *et al.* (1999) utilizaram ovelhas com estro sincronizado com progesterona e administração de eCG e/ou BSTr e determinaram que o BSTr não foi eficiente em aumentar as taxas de ovulação das mesmas e nem

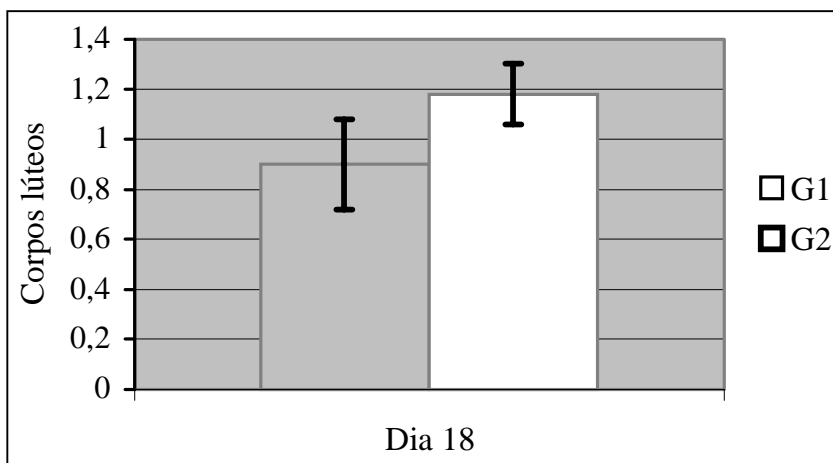


Figura 1 - Número médio (\pm epm) de corpos lúteos, no dia 18 do experimento 1, de fêmeas ovinas tratadas (G2, n= 11) ou não (G1, n= 10) com somatotrofina recombinante bovina, em fevereiro de 2000.

contribuiu na superovulação induzida com eCG. Além disso, DEEVER & BRYAN (1999) demonstraram em seus estudos que o uso de BSTr em ovelhas e novilhas aumenta o número de folículos antrais pequenos, mas não aumenta as taxas de ovulação nesses animais. BISTER *et al.* (1999) encontraram um aumento no número total de folículos antrais visíveis e na taxa de ovulação das ovelhas tratadas com 6mg/kg de BSTr em duas aplicações diárias durante a estação reprodutiva. Mesmo não havendo diferença estatística nas taxas de ovulação entre os grupos no experimento 1, é importante ressaltar que 100% dos animais entraram em estro, que todas as ovelhas do grupo tratado ovularam e duas ovelhas do grupo tratado e uma do controle apresentaram dupla ovulação.

Não houve diferenças nos níveis séricos de glicose e colesterol entre o grupo tratado e o controle, o que sugere que a somatotrofina recombinante bovina não exerceu influência importante sobre o metabolismo intermediário da glicose e de lipídios nestes animais. Mesmo assim, ocorreram aumentos transitórios não significativos nos níveis de glicose e redução nos níveis de colesterol em 80% dos animais do grupo tratado pós aplicação de BSTr.

Quanto ao segundo experimento, a comparação das diferenças entre os escores corporais das ovelhas controle e tratadas entre os dias 1 a 10 e 10 a 20 foram estatisticamente significantes considerando-se um nível de 5%, sendo que as ovelhas do grupo tratado inicialmente perderam condição corporal, voltando a ganharem entre os dias 10 a 20. Esses resultados indicam a provável ocorrência de uma resposta bifásica ao BSTr como a cogitada por SANDLES *et al.* (1988),

segundo os quais inicialmente o BSTr afeta a distribuição dos nutrientes e possibilita um maior aporte dos mesmos para a glândula mamária, resultando em maior produção de leite (aumento da síntese) e a longo prazo o BSTr aumenta o consumo de alimentos proporcionando nutrientes suficientes para a manutenção da elevada produção de leite. Quanto aos cordeiros, acreditamos que a não ocorrência de ganho de peso após o uso da BSTr, talvez se deva ao fato de que, no manejo utilizado, mesmo os cordeiros do grupo controle apresentaram

pesos vivos próximos aos máximos para o padrão da raça no período avaliado.

CONCLUSÕES

A somatotrofina recombinante bovina não interfere na taxa de ovulação em ovelhas, nem nos níveis séricos do colesterol e da glicose desses animais. O seu uso afeta os escores corporais dos animais tratados alguns dias após o início das injeções de BSTr, sendo que nos primeiros 10 dias os animais perdem condição corporal, voltando a ganhar durante os próximos 10 dias.

FONTES DE AQUISIÇÃO

^aBoostin. Coopers. SP

^bGlicose. Quibasa. Química Básica Ltda. MG

^cColesterol Cod Clin. Quibasa Química Ltda. MG

^dLutalyse. Rhodia-Mérieux Veterinária. SP

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADASHI, E.Y., RESNICK, C.E., HERNANDEZ, E.R. Insulin-like growth factor-I as an amplifier of follicle-stimulating hormone action: studies on mechanism (s) and site (s) of action in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*, v.122, p.1583-1591, 1998.
- BINDON, B.M., BLANC, M.R., PELLETIER, J., *et al.* Periovarian gonadotropin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *Journal Reprod Fert.* v.55, p.15-25, 1979.
- BISTER, J.L., NOËL, B., PERRAD, B., *et al.* Control of ovarian follicles activity in the ewe. *Domestic Animal Endocrinology*, v.17, p.315-328, 1999.
- BOLAND, M.P., CROSBY, F., O'CALLAGHAN, D. Artificial control of the breeding season in ewes. *Irish Veterinary Journal*, v.43, p.2-6, 1990.

- BURATINI, J., PRICE, C.A., BO, G.A. Os efeitos do BST e da ablação do folículo dominante sobre o desenvolvimento folicular. **Arq Fac Vet UFRGS**, v.27, p.147-170, 1999.
- CHASE, JR., KIRBY, C.J., HAMOND, A.C. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. **J Anim Sci**, v.76, p.212-219, 1998.
- DAVIS, S.R., GLUCKMAN, P.D. Effects of growth hormone injections on ovulation rate in ewes. **Reproduction Fertility Development**, v.2, p.173-178, 1990.
- DEAVER, D.R., BRYAN, K.A. Effects of exogenous somatotropin on gonadal function in ruminants and swine. **Domestic Animal Endocrinology**, v.17, p.287-297, 1999.
- DUQUETTE, P.F., SCANES, C.G., MUIR, L.A. Effects of ovine growth hormone and other anterior pituitary hormones on lipolysis of rat and ovine adipose tissue in vitro. **J Anim Sci**, v.58, p.1191-1197, 1985.
- ECKERY, D.C., MOELLER, C.L., NETT, T.M. Recombinant bovine somatotropin does not improve superovulatory response in sheep. **J Anim Sci**, v.72, p.2425-2430, 1994.
- EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. Sydney : Butterworths, 1987, p.194.
- GLUCKMAN, P.D., BREIER, B.H., DAVIS, S.R. Physiology of the somatotropic axis with particular reference to the ruminant. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.442-466, 1987.
- GNAD, D.P., VAN METRE, D.C., ANGELOS, S.M., *et al.* Diagnosing weight loss in sheep: a practical approach. **Comp Cont Educ Pract Vet**, v.22, n.1, p.16-23, 2000.
- GONG, J.G., CAMPBELL, B.K., BRAMLEY, T.A., *et al.* Treatment with recombinant somatotrophin enhances ovarian follicle development and increases the secretion of insulin-like growth factor 1 by ovarian follicles in ewes. **Anim Reprod Sci**, v.41, p.13-26, 1996.
- HACKETT, A.J. Effect of dose of pregnant mares serum gonadotropin on the reproductive performance of ewes synchronized for estrus and housed in total confinement. **Can J Animal Sci**, v.62, p.291-294, 1982.
- HENDERSON, D.C., DOWNING, J.M., BECK, N.F.G., *et al.* Oestrus synchronization in ewes: a comparison of prostaglandin F₂± than salt with a progestagen pessary. **Anim Prod**, v.39, p.229-233, 1984.
- KILLEN, I.D., MOORE, N.W. The effect of pregnant mare serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin on ovulation and fertility in the ewe. **Aust J Agric Res**, Austrália, v.21, n.5, p.807-814, 1970.
- KIRBY, C.J. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolytic dose of prostaglandin F₂α. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.286-294, 1997.
- MALOZOWSKI, J., PARTNER, T.G., TROJAN, S., *et al.* Growth hormone (GH) modulates insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and type 1 IGF receptor mRNA levels in the ovary of prepubertal GH-deficient rats. **Eur J Endocrinol**, v.132, p.497-501, 1995.
- MAXWELL, W.M.C., WISON, H.R., BUTLER, L.C. Fertility of ewes after intrauterine insemination with frozen semen. **Animal Production in Australia**, v.15, p.448-451, 1984.
- NORMAN, A.W., LITWACK, G. **Hormones**. San Diego : Academic, 1987. Anterior pituitary hormones : p.183-210.
- PEEL, C.J. BAUMAN, D.E. Somatotropin and lactation. **Journal of Dairy Science**, v.70, p.474-486, 1987.
- SANDLES, L.D., SUN, Y.X., D'CRUZ, A.G. Responses of lactating ewes to exogenous growth hormone: short and long-term effects on productivity and utilization of key metabolites. **Aust J Biol Sci**, v.41, n.3, p.357-370, 1988.
- SCARAMUZZI, R.J., MURRAY, J.F., DOWNING, J.A., *et al.* The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. **Domestic Animal Endocrinology**, v.17, p.269-277, 1999.
- SPICER, L.J., ECHTERNKAMP, S.E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with on emphasis on animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, p.223-245, 1995.
- WALTON, P.E., ETHERTON, T.D. Stimulation of lipogenesis by insulin in swine adipose tissue: antagonism by porcine growth hormone. **J Anim Sci**, v.62, p.1584-1595, 1986.
- YEATS, N.T.M. The breeding season of the sheep with particular reference to its modification by artificial light. **Journal of Agricultural Science**, v.39, p.1-43, 1949.
- ZHOU, J., KUMAR, T.R., MATZUK, M.M., *et al.* Insulin-like growth factor 1 regulates gonadotropin responsiveness in the murine ovary. **Molecular Endocrinology**, v.11, p.1924-1933, 1997.