

# Perfil plasmático de progesterona e taxa de prenhez de bovinos Nelore sincronizados com novo dispositivo intravaginal de progesterona (Biocowgest®)

*Plasmatic level of progesterone and pregnancy rate of Nelore cattle synchronized with a new intravaginal P4 progesterone device (Biocowgest®)*

Ernesto Cristovam da Silveira<sup>[a]</sup>, Luciano Aparecido Bortolotti<sup>[a]</sup>, Fábio Morotti<sup>[b]</sup>, Marcelo Marcondes Seneda<sup>[c]</sup>

<sup>[a]</sup> Médicos-veterinários, Laboratório Biológica, Londrina, PR - Brasil, e-mail: ercris@bol.com.br

<sup>[b]</sup> Médico-veterinário, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR - Brasil, e-mail: fabiomorotti@hotmail.com

<sup>[c]</sup> Docente de Teriogenologia de Grandes Animais da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR - Brasil, e-mail: mseneda@uel.br

## Resumo

Este estudo avaliou o perfil de liberação de progesterona (P4) e sua relação com a taxa de prenhez de fêmeas bovinas sincronizadas com novo dispositivo intravaginal de progesterona (Biocowgest®). No Experimento I, novilhas ovariectomizadas receberam, por 8 dias, dois dispositivos intravaginais de P4 diferentes, Sincrogest® (n = 2), Biocowgest® (n = 4) e Placebo (n = 2). Nos grupos Sincrogest® e Biocowgest®, as concentrações plasmáticas de P4 atingiram valores acima de 5ng/mL 6h após a inserção, e apresentaram padrões de liberação e manutenção de P4 semelhantes durante o período de tratamento ao se comparar com o placebo (p < 0,05). No Experimento II, 210 vacas Nelore foram divididas aleatoriamente em dois grupos (Sincrogest® vs. Biocowgest®) de 105 animais e submetidas ao protocolo convencional de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Obteve-se taxa de prenhez semelhante entre os tratamentos Sincrogest® (51,4%, 54/105) e Biocowgest® (53,3%, 56/105) (p > 0,05). Conclui-se que o Biocowgest® apresenta perfil plasmático de P4 e taxa de prenhez à IATF semelhante ao outro dispositivo intravaginal comercial, podendo ser empregado em programas de IATF em bovinos.

**Palavras-chave:** *Bos indicus*. Novilha. Ovariectomia. IATF. Tratamento hormonal.

## Abstract

*This study evaluated the release profile of progesterone (P4) and its relationship with pregnancy rate of cows synchronized with a new intravaginal progesterone device (Biocowgest®). On Experiment I, ovariectomized heifers received different intravaginal P4 devices for 8 days, namely Sincrogest® (n = 2), Biocowgest® (n = 4) and Placebo (n = 2). Sincrogest® and Biocowgest® groups had plasma concentrations of P4 above 5ng/mL 6h*



after insertion and showed similar patterns of release and maintenance of P4 during the treatment period when compared to the placebo group ( $p < 0,05$ ). On Experiment II, 210 Nelore cows were randomly divided into two groups (Sincrogest® vs. Biocowgest®) containing 105 animals submitted to the conventional protocol of fixed-time artificial insemination (TAI). Similar pregnancy rates were found for Sincrogest® (51.4%, 54/105) and Biocowgest® (53.3%, 56/105) ( $p > 0.05$ ). In conclusion, Biocowgest® use results in plasmatic profile of P4 and pregnancy rate to TAI similar to another commercial intravaginal device and it can be employed in TAI programs for cattle.

**Keywords:** Bos indicus. Heifer. Ovariectomy. TAI. Hormonal treatment.

## Introdução

Há muito tempo é conhecida a ação da progesterona (P4) na sincronização do ciclo estral dos bovinos (GORDON, 1976; LAMOND, 1964; ULBERG; LINDLEY, 1960). Nos primeiros estudos, os animais recebiam doses diárias de P4 por períodos de até 20 dias. Isso resultava em sincronização do ciclo estral, mas com baixa taxa de fertilidade devido ao desenvolvimento de folículos persistentes. Além disso, o manejo era trabalhoso por causa das aplicações diárias (MACMILLAN; PETERSON, 1993).

No início dos anos 60 ocorreu o desenvolvimento do acetato de melengestrol (MGA), um análogo da P4 com bom efeito sobre a inibição do ciclo estral (DUNCAN et al., 1964). Por causa da praticidade de administração oral, o MGA se tornou o progestágeno mais utilizado no controle do ciclo estral, mas o efeito dependia de um consumo individual adequado, o que se tornou sua principal limitação.

Posteriormente, outros métodos de administração de P4 foram desenvolvidos e atualmente existe uma variedade de produtos eficientes que liberam a P4 com o objetivo de sincronizar o estro ou a ovulação. Seja na forma de implantes auriculares ou dispositivos intravaginais, esses produtos permanecem nos animais por um período de 7 a 12 dias e, mimetizando a fase luteínica do ciclo estral, liberam P4 que bloqueia o pico de hormônio luteinizante (LH), evitando a ovulação (BARUSELLI et al., 2004a).

Os dispositivos intravaginais contêm P4 natural que atinge concentrações sanguíneas em torno de 4 a 5 ng/mL durante o período de tratamento. Embora essa concentração promova o bloqueio do

pico de LH, ela não impede o crescimento de ondas foliculares (BARUSELLI et al., 2004a). Em vacas cíclicas, a regressão do corpo lúteo pode ocorrer pela administração de estradiol no início do tratamento com P4 ou por prostaglandinas administradas na retirada do dispositivo (BÓ et al., 2003).

Estudos têm demonstrado que o uso de P4 associado à aplicação de estrógenos provoca a atresia do folículo dominante e induz à emergência de uma nova onda de crescimento folicular três a quatro dias após o início do tratamento (BÓ et al., 1995). Essa aplicação do estrógeno em associação com o tratamento de P4 impede a formação de folículos persistentes, o que interferia negativamente na taxa de fertilidade. Além disso, o uso do estrógeno em associação a P4 favorece a ação luteolítica porque aumenta os níveis de prostaglandinas e promove a regressão do corpo lúteo (KESLER; FAVERO, 1995).

Dentre os inúmeros protocolos de IATF disponíveis no mercado, um dos mais utilizados combina uma fonte de P4 (implante auricular ou dispositivo intravaginal) a uma fonte de estrógeno em um dia aleatório do ciclo estral para promover novo recrutamento folicular e sincronização dos animais. Embora existam diversos dispositivos e implantes de P4 com eficácia já comprovada, a elaboração de novos produtos tem significativa importância por tornar o mercado mais competitivo e proporcionar uma opção de escolha a mais ao produtor.

O presente estudo objetivou: (1) avaliar o nível plasmático de progesterona em novilhas ovariectomizadas durante o tratamento com novo implante de P4 (Biocowgest®), comparando os resultados com um produto existente no mercado (Sincrogest®); (2) comparar a taxa de prenhez à

IATF de vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas com diferentes dispositivos intravaginais de progesterona (Sincrogest® vs. Biocowgest®).

## Material e métodos

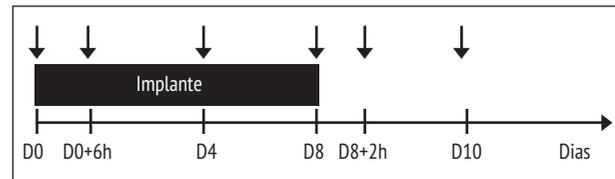
Experimento I - Perfil plasmático de progesterona durante o tratamento com Sincrogest®, Biocowgest® e Placebo.

O experimento I foi realizado em uma propriedade localizada no município de Londrina, Paraná, durante o mês de abril de 2012. Foram utilizadas quatro novilhas Nelore (*Bos indicus*) ovariectomizadas, com escore de condição corporal (ECC) > 3, em uma escala de 1 a 5 (WILDMAN et al., 1982). Para ovariectomia, foram selecionados animais de acordo com o exame clínico e ginecológico, sendo utilizadas somente as novilhas em condições reprodutivas e clinicamente saudáveis. O procedimento cirúrgico foi realizado por laparotomia pelo flanco esquerdo segundo a técnica descrita por Fubini e Ducharme (2004). O experimento I se iniciou 15 dias após completa cicatrização da ferida cirúrgica e, durante todo o período experimental, os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria* sp. sob pastoreio contínuo, com sal mineral e a água *ad libitum*.

Foram constituídos três grupos de animais, sendo um o grupo Sincrogest®, composto por duas novilhas que receberam um dispositivo contendo 1 g de P4 (Sincrogest®, Ourofino, Brasil); no outro grupo Biocowgest®, quatro novilhas receberam um dispositivo com 1,25 g de P4 (Biocowgest®, Laboratório Biológica, Brasil); e, no grupo Placebo, duas novilhas receberam o dispositivo intravaginal de silicone sem P4 (Laboratório Biológica, Brasil).

Em um dia (D) aleatório (D0) foi realizada a inserção dos dispositivos intravaginais contendo P4 (Biocowgest ou Sincrogest) ou sem P4 (placebo), os quais permaneceram até o D8. Amostras de sangue foram coletadas de todos os animais em diferentes momentos do tratamento hormonal para determinar a concentração plasmática de P4. Os momentos das coletas foram determinados da seguinte forma: antes da inserção dos dispositivos (D0), com 6 horas após a inserção dos dispositivos (D0 + 6h), com 96 horas após a inserção dos dispositivos (D4), na

remoção dos dispositivos (D8), 2 horas após a remoção dos dispositivos (D8 + 2h) e no momento da IATF (D10) (Figura 1).



**Figura 1** - Apresentação esquemática das coletas de sangue (↓) realizadas durante o período experimental

Fonte: Dados da pesquisa.

As amostras foram obtidas por punção da veia caudal média em tubos de Vacutainer heparinizados para se determinar a concentração plasmática de P4. Imediatamente, os tubos foram centrifugados durante 15 minutos a 3.500 rpm, alíquotas do plasma foram recolhidas e armazenadas em microtubos a -20 °C para ensaios posteriores. As concentrações de P4 no plasma foram determinadas por radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, utilizando o Coat-A-Count Progesterone® (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, EUA). Essa análise foi realizada no Laboratório de Endocrinologia Animal da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba-SP.

## Análise estatística

Variável com distribuição normal (paramétrica) foi expressa em média e desvio padrão da média (média ± dpm) e analisada por análise de variância (ANOVA) com medidas repetidas no tempo no programa SigmaStat - Statistical Analysis Software. O nível de significância estatística foi considerado quando  $p \leq 0,05$ .

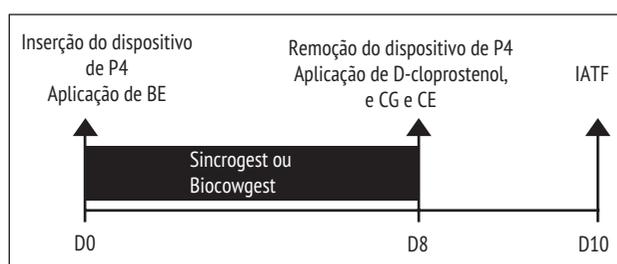
Experimento II - Taxa de prenhez à IATF de vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas com dois dispositivos intravaginais de P4 - Sincrogest® vs. Biocowgest®.

Para o experimento II, foram sincronizadas 210 vacas Nelore (*Bos indicus*) pluríparas entre 40 e 65 dias do pós-parto, com ECC entre 2 e 3 (escala de 1 a 5; WILDMAN et al., 1982), mantidas em pastagem de *Brachiaria* sp. sob pastejo

contínuo, com disponibilidade de sal mineral e a água *ad libitum*.

Na fazenda I, as vacas (n = 90) foram divididas aleatoriamente em dois grupos, Sincrogest® e Biocowgest®. No grupo Sincrogest®, 45 vacas receberam em um dia aleatório do ciclo estral, denominado de D0, um dispositivo intravaginal contendo 1 g de P4 (Sincrogest®, Ourofino, Brasil) e 2 mg de benzoato de estradiol (BE) (Gonadiol®, MSD Saúde Animal, Brasil) por via intramuscular (IM). Oito dias depois (D8), o dispositivo foi removido e 150 µg de D-cloprostenol (Veteglan luteolítico®, Hertape Calier, Brasil), 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) (Novormon®, MSD Saúde Animal, Brasil) e 1 mg de cipionato de estradiol (CE) (E.C.P.®, Pfizer Saúde Animal, Brasil) foram aplicados por via IM. A IATF foi realizada no D10 (Figura 2). No grupo Biocowgest®, 45 vacas foram submetidas ao mesmo protocolo de sincronização descrito, com exceção do dispositivo, que foi utilizado o Biocowgest® com 1,25 g de P4 (Biocowgest®, Laboratório Biológica, Brasil) (Figura 2).

Na fazenda II, as vacas (n = 120) também foram divididas aleatoriamente em dois grupos. No grupo Sincrogest®, 60 vacas foram submetidas ao protocolo de sincronização com o Sincrogest®; no grupo Biocowgest®, 60 vacas receberam o protocolo com Biocowgest®, semelhantemente ao que foi descrito para a fazenda I.



**Figura 2** - Apresentação esquemática do protocolo de IATF utilizado nas vacas do grupo Sincrogest ou Biocowgest

Fonte: Dados da pesquisa.

Em ambas as fazendas e grupos, a inseminação artificial foi realizada pelo mesmo inseminador e com a mesma partida de sêmen congelado. A taxa de prenhez foi determinada no 35º dia após a IATF por

ultrassonografia transretal (Ultrassom Shimadzu, modelo SDU 350 XL equipado com transdutor linear de 8 MHz Shimadzu, Tóquio, Japão).

#### Análise estatística

A análise estatística foi realizada pelo Teste do Qui-Quadrado no programa SigmaStat - Statistical Analysis Software adotando nível de significância quando  $p < 0,05$ .

## Resultados

A concentração plasmática de P4 nos grupos Sincrogest® e Biocowgest® apresentou um pico em 6h após a inserção do dispositivo; posteriormente, ambas caíram gradativamente e com 2h após a remoção dos dispositivos, a concentração foi inferior a 1 ng/mL (Gráfico 1). Os dados de prenhez de acordo com os diferentes dispositivos intravaginais encontram-se na Tabela 1.

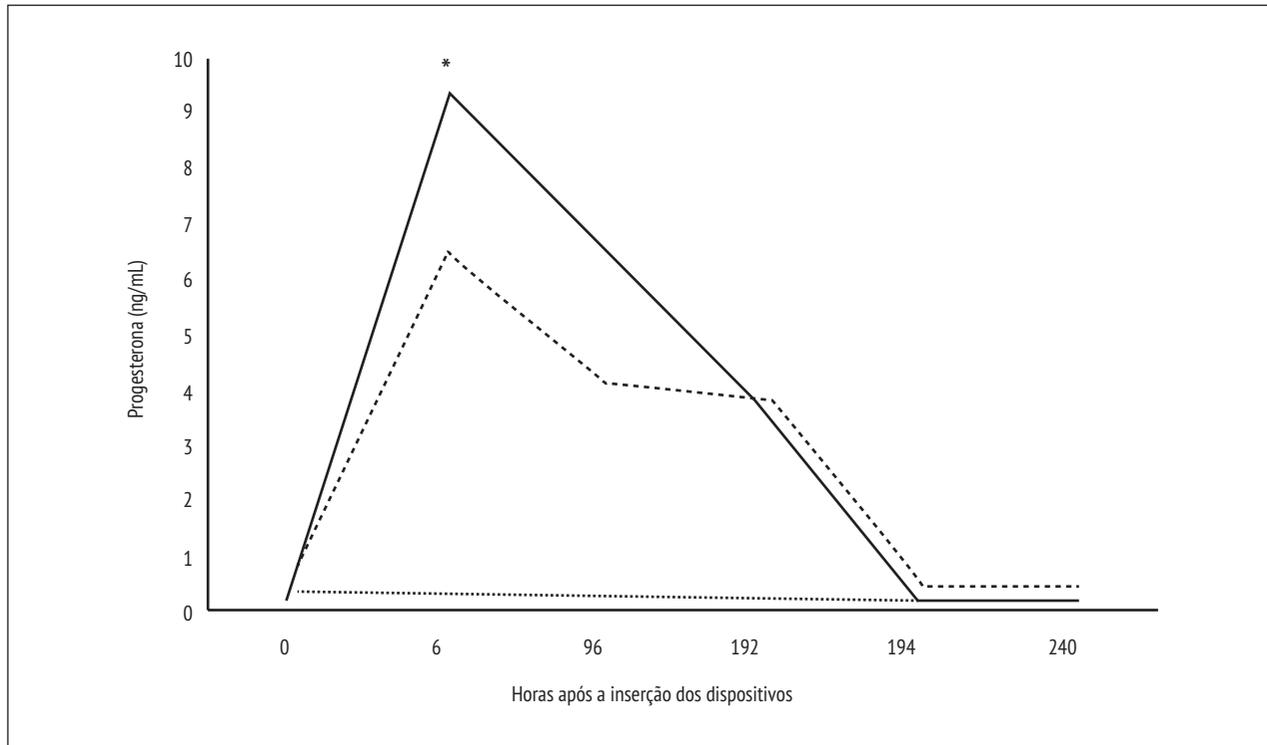
**Tabela 1** - Taxa de prenhez conforme o dispositivo intravaginal de P4 em vacas Nelore (Bos indicus) inseminadas em tempo fixo, Jardim Olinda - PR (Fazenda I) e Nova Andradina - MS (Fazenda II).

Grupos	Taxa de prenhez (%)		Prenhez % (n)	P
	Fazenda I	Fazenda II		
Sincrogest®	53,3% (24/45)	50% (30/60)	51,4% (54/105)	0,782
Biocowgest®	55,5% (25/45)	51,7% (31/60)	53,3% (56/105)	

Fonte: Dados da pesquisa.

## Discussão

No experimento I, a concentração plasmática de P4 das novilhas ovariectomizadas, antes da inserção do dispositivo (D0) foi abaixo de 1 ng/mL para os três grupos (Sincrogest, Biocowgest e Placebo). Uma concentração média de P4 de  $0,87 \pm 0,62$  ng/mL foi encontrada por Pimentel (2006) e similar situação foi suportada por Maio et al. (2008) ao trabalharem com novilhas Nelore



**Gráfico 1** - Perfil plasmático de P4 em novilhas Nelore ovariectomizadas tratadas com diferentes dispositivos intravaginais – Sincrogest® (—) ou Biocowgest® (---) vs. Placebo (•••) ( $p < 0,05$ ). Sincrogest vs. Biocowgest ( $p > 0,05$ ).

Fonte: Dados da pesquisa.

ovariectomizadas. Segundo Hollenstein et al. (2006), mesmo após a ovariectomia, esses níveis de P4 podem ser verificados em função da produção de P4 pelo córtex da adrenal, em resposta a uma situação de estresse.

Durante o tratamento hormonal, a P4 dos implantes deve atingir níveis plasmáticos de 4 a 5 ng/mL, que são suficientes para suprimir a frequência dos pulsos de LH, mas não o crescimento de ondas foliculares (BARUSELLI et al., 2004a). Tanto no grupo Sincrogest®, quanto no Biocowgest®, as concentrações plasmáticas de P4 nos momentos de 6h e 96h após a inserção do dispositivo foram superiores a 5 ng/mL, corroborando os relatos de Baruselli et al. (2004a); isso sinaliza que ambos os produtos contêm níveis suficientes de P4, podendo ser endereçados à IATF em bovinos.

Apesar da diferença numérica nos momentos de 6 e 96h após a inserção dos dispositivos, a concentração de P4 foi similar entre os grupos [6h: Sincrogest® (9,31 ± 8,16 ng/mL) vs. Biocowgest® (6,52 ± 2,97 ng/mL),  $p > 0,05$ ] e [96h: Sincrogest®

(6,41 ± 3,26 ng/mL) vs. Biocowgest® (4,20 ± 1,86 ng/mL),  $p > 0,05$ ]. Em todas as mensurações, o grupo placebo apresentou concentração plasmática de P4 inferior a 0,40 ng/mL.

Os resultados deste estudo indicaram que, logo após a inserção do dispositivo de P4, houve rápida elevação das concentrações desse hormônio, com o pico ocorrendo em 6h após o início do tratamento (Gráfico 1). Esses dados demonstram a eficácia dos dispositivos na rápida liberação de P4. Após o pico de P4, observou-se uma queda constante da concentração plasmática até o momento da retirada dos dispositivos, estando de acordo com os perfis observados por Pimentel (2006) e Maio et al. (2008).

Duas e 48 horas após a retirada dos dispositivos, os níveis plasmáticos de P4 foram inferiores a 1 ng/mL, tanto no grupo Sincrogest® (2 h - 0,15 ± 0,19; 48h - 0,08 ± 0,08 ng/mL), quanto no grupo Biocowgest® (2h - 0,28 ± 0,10; 48h - 0,18 ± 0,09 ng/mL) (Gráfico 1). Essa condição é essencial para remover o bloqueio da P4 sobre os pulsos de LH, permitindo o pico de LH e, conseqüentemente, a maturação final e a ovulação

do folículo dominante (BARUSELLI et al., 2004b; FORDE et al., 2011).

No segundo experimento, as taxas de prenhez após a IATF foram semelhantes entre os grupos Sincrogest® (51,4%, 54/105) e Biocowgest® (53,3%, 56/105) ( $p > 0,05$ ). Tanto na fazenda I [53,3% (24/45) - Sincrogest® vs. 55,5% (25/45) - Biocowgest® ( $p > 0,05$ )], quanto na fazenda II [50% (30/60) - Sincrogest® vs. 51,7% (31/60) - Biocowgest® ( $p > 0,05$ )] não houve diferença nas taxas de prenhez. Esses resultados são consistentes com os verificados por Maio et al. (2008) ao compararem o Sincrogest® vs. Primer®, logrando taxa de prenhez de 58,8% (47/80) para o Sincrogest® vs. 52,0% (39/75) para o Primer®. Em vacas Nelore lactantes na IATF, Penteadó et al. (2006) e Crepaldi et al. (2008) observaram taxa de prenhez semelhante – 53,3% (1326/2489) e 55,6% (325/584), respectivamente – às obtidas no presente estudo. Por outro lado, Baruselli et al. (2004c) obtiveram taxa de prenhez inferior (43,0%) às citadas, podendo-se atribuir essas variações aos diferentes manejos das propriedades, possibilitando diversificação sobre a taxa de prenhez de 40% a 60%. Especificamente no presente estudo, os animais estavam com bom manejo nutricional e sanitário, além do ECC.

## Conclusão

Conclui-se que o Biocowgest® apresentou padrão de liberação e manutenção das concentrações plasmáticas de P4 semelhante ao produto comercial já estabelecido, podendo ser recomendado em virtude da obtenção de taxas de prenhez similares ao ser utilizado em protocolos de IATF.

## Referências

- BARUSELLI, P. S. et al. Manipulação hormonal do estro e da ovulação. In: CURSO SOBRE MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL EM BOVINOS DE CORTE, 1., 2004, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2004a.
- BARUSELLI, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-486, 2004b.
- BARUSELLI, P. S. et al. Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise retrospectiva). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 32., 2004, Barra Bonita, SP. **Anais...** Barra Bonita: SBTE, 2004c.
- BÓ, G. A. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 193-204, 1995.
- BÓ, G. A. et al. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003.
- CREPALDI, G. A. et al. Rate and timing of ovulation and pregnancy rate in Nelore cows treated with estradiol Cypionate or Benzoate to induce ovulation on FTAI protocols. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 175, 2008.
- DUNCAN, G. W. et al. Biologic effects of melengestrol acetate. **Fertility & Sterility**, v. 15, n. 4, p. 419-32, 1964.
- FORDE, N. et al. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 163-169, 2011.
- FUBINI, S.; DUCHARME, N. **Farm Animal Surgery**. Missouri: Saunders, 2004.
- GORDON, I. Controlled breeding in cattle. Part 1: hormone in the regulation of reproduction, oestrus, control, and set time artificial insemination. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 44, p. 265-275, 1976.
- HOLLENSTEIN, K. et al. Influence of estradiol on adrenal activity in ovariectomized cows during acute stress. **Animal Reproduction Science**, v. 93, p. 292-302, 2006.
- KESLER, D. J.; FAVERO, R. J. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate. Part 1: Mechanism of action. **Agri-Practice**, v. 16, p. 6-11, 1995.
- LAMOND, D. R. Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 32, p. 269-285, 1964.

MACMILLAN, K. L.; PETERSON, A. J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 33, p. 1-25, 1993.

MAIO, J. R. G. et al. Perfil plasmático de progesterona e taxa de prenhez à IATF de fêmeas bovinas tratadas com Sincrogest® (Dispositivo Intravaginal de Progesterona). **A Hora Veterinária**, v. 165, p. 41-44, 2008.

PENTEADO, L. et al. Taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo em diferentes períodos pós-parto. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 34., 2006, Araxá, MG. **Anais...** Araxá: SBTE, 2006. p. 402-402.

PIMENTEL, J. R. V. **Emprego de matriz polimérica biodegradável em dispositivos vaginais para liberação sustentada de progesterona em fêmeas bovinas: testes *in vitro* e *in vivo***. 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2006.

ULBERG, L. C.; LINDLEY, C. E. Use of progesterone and estrogen in the control of reproductive activities in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 19, p. 1132-1142, 1960.

WILDMAN, E. E. et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 495-501, 1982.

Recebido: 02/08/2012

Received: 08/02/2012

Aprovado: 02/09/2012

Approved: 09/02/2012