

NÍVEIS DE PROGESTERONA EM LEITE DESNATADO DE VACAS NO PERÍODO PÓS - PARTO E DIAGNÓSTICO PRECOCE DE GESTAÇÃO

PROGESTERONE LEVELS IN FAT-FREE MILK OF COWS DURING POST PARTUM PERIOD AND EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS

José Lázaro da ROCHA¹; Valquíria Hyppolito BARNABE²; Renato Campanarut BARNABE³;
Ed Hoffmann MADUREIRA⁴; Claudio Alvarenga de OLIVEIRA⁴; José Antonio VISINTIN⁵

RESUMO

Foram avaliados os períodos pós-parto de vacas primíparas mestiças Gir x Caracu e Nelore x Caracu, mantidas em regime extensivo de pastagem. Para a determinação dos níveis hormonais de progesterona, amostras de leite foram coletadas semanalmente até que os animais apresentassem o 1º estro perceptível, quando foram inseminadas artificialmente. Decorridos 21 dias da inseminação, amostras foram coletadas e dosadas para fazer o diagnóstico precoce de gestação. Os resultados mostraram início de ciclicidade ovariana com 9,89 semanas após o parto para vacas Gir x Caracu, com valores médios de progesterona de 0,28 nmol/l no dia do estro e 7,62 nmol/l aos 21 dias após a inseminação. Para vacas Nelore x Caracu, o estro se deu com 12,08 semanas após o parto e com valores médios de progesterona de 0,46 nmol/l e 9,23 nmol/l para o dia do estro e no 21º dia, respectivamente. Dez gestações de doze diagnosticadas no 21º dia foram confirmadas por palpação retal, tendo ocorrido um caso de mortalidade embrionária precoce. Outras três vacas foram inseminadas durante a fase luteínica. A eficiência na observação de estros foi de 52,94%, pois de 34 identificados pelos níveis hormonais, 18 foram percebidos visualmente. A variação entre os cruzamentos não alterou significativamente o nível de progesterona no dia do estro, tampouco no 21º dia após inseminação e também quanto ao período necessário ao reinício da atividade ovariana pós - parto.

UNITERMOS: Progesterona, leite; Pós-parto; Prenhez, diagnóstico; Bovinos

INTRODUÇÃO E LITERATURA

O pronto retorno à ciclicidade estral após o parto, com conseqüente redução do intervalo entre partos para 12 a 14 meses, a detecção de animais subférteis, a erradicação de enfermidades que afetam a reprodução, assim como um conhecimento íntimo da fisiologia da função ovariana nesse período são pontos fundamentais para melhorar a eficiência reprodutiva dos animais.

Os avanços na endocrinologia da reprodução e nas técnicas de determinação de concentrações hormonais nos fluidos biológicos possibilitaram um melhor entendimento dos mecanismos que controlam as funções reprodutivas, sendo um exemplo a dosagem de progesterona no leite por rádio-imunoensaio.

A concentração de progesterona no leite deve representar a média das concentrações plasmáticas entre as ordenhas³. Assim, enquanto concentrações de hormônio no leite são de pouco valor para o estudo de variações horárias de seus níveis,

elas podem ser de maior utilidade para a verificação de mudanças que ocorrem a intervalos maiores, como aquelas que sobrevivem durante o ciclo estral. O leite pode ser até colhido diretamente do balde, como opção para amostragem, desde que seja livre de gordura¹¹.

A retomada das funções ovarianas após o parto através do perfil de progesterona foi intensamente estudada por vários autores^{1,7,9,10,13,16}.

Em rebanhos com histórico de baixa fertilidade e falhas na detecção do cio, o ensaio de progesterona em amostras de leite revelou-se de grande utilidade para contornar tais dificuldades. Do mesmo modo, o perfil de progesterona durante todo o ciclo estral fornece condições para que seja efetuado, com relativa segurança, o diagnóstico precoce de gestação, pois nos animais gestantes, mantêm-se elevado ou em ritmo ascendente por ocasião do 21º dia pós inseminação artificial ou cobertura natural^{2,5,6,8,12,15}.

Ainda, a ocorrência de mortalidade embrionária poderá ser

1 - Pós-Graduando - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

2 - Professor Associado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

3 - Professor Titular - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

4 - Professor Assistente - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

5 - Professor Doutor - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

suspeitada quando as concentrações de progesterona forem reduzidas a níveis basais em períodos variáveis após a confirmação da gestação⁴.

Considerando o exposto, objetivou-se estudar o reinício da atividade ovariana após o parto, bem como realizar o diagnóstico precoce de gestação, utilizando níveis de progesterona determinados por rádio-imuno-ensaio, em amostras de leite desnatado.

MATERIAL E MÉTODO

Amostras de leite individualizadas de 10 a 20 ml em frascos de polietileno providos de tampa com rosca, adicionadas de uma pastilha de azida de sódio como conservante, foram colhidas semanalmente de 26 vacas primíparas, mestiças das raças Gir x Caracu (12 animais) e Nelore x Caracu (14 animais) selecionadas após prévio exame clínico e ginecológico.

Os animais, devidamente identificados, estiveram sob regime extensivo de criação, em pastagem constituída de **Brachiaria decumbens**, com água e sal mineral à vontade e pertenciam ao rebanho do Centro Intraunidade de Zootecnia e Indústrias Pecuárias "Fernando Costa", localizado no Município de Pirassununga, Estado de São Paulo.

A partir da primeira semana após o parto, os animais foram observados, pela manhã e à tarde, para verificação de cio. Além disso, foram mantidos junto ao rebanho, rufiões vasectomizados e com desvio lateral do pênis.

No laboratório, as amostras de leite, devidamente identificadas, foram centrifugadas a 2000 G durante 10 minutos para a separação da gordura, após o que permaneceram por 20 minutos em refrigerador a 4°C para solidificar a camada de gordura sobrenadante. Em seguida, todo o leite desnatado e separado foi aspirado com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 10 ml, conectada a uma pera de segurança. Duas alíquotas foram então acondicionadas em frascos de polietileno modelo Eppendorf, com 1,5 ml de capacidade, conservadas sob congelamento a -18°C até serem analisadas por "kits" de rádio-imuno-ensaio para progesterona fornecidos pela FAO/IAEA, sendo de fase sólida. Os constituintes dos "kits", bem como o procedimento das análises foram descritos e realizado segundo^{12,14}.

Os resultados foram expressos através de médias e desvios padrões. Para comparações entre raças adotou-se o teste "t" de Student em grupos independentes, com nível de rejeição de 0,05.

RESULTADOS

A ciclicidade ovariana foi caracterizada através de aparentes aumentos e quedas na concentração de progesterona no leite desnatado. Tais valores, para ambos os grupos, foram expressos em nmol/l. A utilização de traços corresponde a níveis de progesterona não detectáveis, representando períodos de inatividade ovariana ou fase folicular de animais já ciclando.

No grupo de 12 vacas mestiças Gir x Caracu, a ciclicidade foi reiniciada em média com 9,89 semanas, com desvio padrão de 3,10 (Tab.1), exceção feita aos animais que apresentaram estro sem que tenha sido detectado primeiramente aumento no nível de progesterona e também aos animais que não ciclaram (A1, A3 e A4). A concentração média de progesterona no dia do estro foi 0,28 nmol/l com desvio padrão de 0,42. No 21º dia após a inseminação, a média foi 7,62 nmol/l e o desvio padrão 1,51 para os animais gestantes.

Para as 14 vacas mestiças Nelore x Caracu, a ciclicidade ovariana iniciou-se em média com 12,08 semanas após o parto, com desvio padrão de 5,33, exceção feita aos animais B2 e B9 (Tab.1). A concentração média de progesterona no dia do estro foi 0,46 nmol/l, com desvio padrão de 0,55. Aos 21º dias pós-inseminação, a média foi 9,23 nmol/l, com desvio padrão de 1,71 para os animais gestantes.

Considerando todos os animais juntos, obtém-se para o dia do estro média de 0,38 nmol/l e desvio padrão de 0,49. Para o diagnóstico precoce de gestação, aos 21 dias pós-inseminação, o valor médio foi de 8,63 nmol/l com desvio padrão de 1,77. O período médio de apresentação do primeiro sinal de atividade ovariana foi de 11,14 semanas, com desvio padrão de 4,55.

DISCUSSÃO

A concentração de progesterona no leite representa a média das variações nas concentrações plasmáticas diárias³. Além disso, o leite desnatado pode ser padronizado, tornando-se homogêneo quanto aos teores de gordura^{12,14}.

O reinício da atividade ovariana após o parto revelou-se em média às 9,89 semanas para vacas Gir x Caracu e 12,08 semanas para as Nelore x Caracu (Tab.1), diferença esta não significativa sob o ponto de vista estatístico. Considerando os dois grupos juntamente, o valor médio foi de 11,14 semanas, o que permite a obtenção de um parto a cada 12 a 14 meses, traduzindo uma ótima eficiência reprodutiva quanto ao funcionamento gonadal. Trabalho executado com bovinos leiteiros¹³ mostra períodos pós-parto superiores.

TABELA 1

Semanas pós parto de apresentação do 1º pico de progesterona, concentrações médias de progesterona no dia do cio e no 21º dia após a inseminação artificial e diagnóstico de gestação por palpação retal. Pirassununga, São Paulo, 1990.

ANIMAIS Gir x Caracu	1º pico * semanas	P ₄ dia ** do cio	P ₄ 21º *** dia	D.G. ****
A1	-	N.D.	N.D.	vazia
A2	7a.	1,12	8,96	preenhe
A3	-	0,07	0,86	vazia
A4	-	não apresentou cio		
A5	7a.	N.D.	5,52	preenhe
A6	10a.	N.D.	1,24	vazia
A7	10a.	0,18	8,43	preenhe
A8	12a.	não apresentou cio		
A9	5a.	não apresentou cio		
A10	15a.	0,02	N.D.	vazia
A11	12a.	não apresentou cio		
A12	11a.	0,59	7,55	vazia
x	9,89	0,28	7,62	
s	3,10	0,42	1,51	

Nelore x Caracu

B1	19a.	não apresentou cio		
B2	-	não apresentou cio		
B3	11a.	0,95	N.D.	vazia
B4	6a.	1,12	10,92	preenhe
B5	17a.	N.D.	0,99	vazia
B6	6a.	1,25	9,12	preenhe
B7	6a.	-	-	vazia
B8	18a.	não apresentou cio		
B9	-	N.D.	10,17	preenhe
B10	14a.	N.D.	9,95	preenhe
B11	19a.	N.D.	9,87	preenhe
B12	6a.	0,37	8,95	preenhe
B13	13a.	não apresentou cio		
B14	10a.	N.D.	5,64	preenhe
x	12,08	0,46	9,23	
s	5,33	0,55	1,71	

* Semana pós- parto com apresentação do 1º pico de progesterona característico de ciclicidade.

** Concentração média de progesterona em amostras de leite desnatado colhidas de vacas no dia do cio observado.

*** Concentração média de progesterona em amostras de leite desnatado colhidas de vacas aos 21 dias após a inseminação artificial.

**** Diagnóstico de gestação por palpação retal feito aos 60 dias após a inseminação artificial.

N. D. Níveis não detectáveis

Os valores de progesterona verificados até o primeiro ciclo sempre foram baixos. No dia do estro as médias foram 0,28 e 0,46 nmol/l, por ocasião do 21º dia pós- inseminação as médias foram 7,62 e 9,23 nmol/l, respectivamente, para os grupos A e B, resultados estes concordantes em perfil para as fases folicular e luteínica do ciclo¹.

O nível de progesterona mantém-se baixo durante o período anterior ao reinício da atividade ovariana, experimentando um pequeno e prévio aumento antes do primeiro estro perceptível pós- parto¹³. Tais picos menores na concentração de progesterona nos fluidos orgânicos, durante o reinício da atividade ovariana, podem decorrer da luteinização de pequenos folículos ou da formação de um corpo lúteo funcionalmente imperfeito⁷⁻¹⁶. Este fato foi possível de ser registrado, porém a origem da progesterona encontrada não pode ser esclarecida, pois o método de dosagem é quantitativo.

Três dos animais estudados apresentaram cio sem prévio aumento no nível de progesterona, respectivamente na 14ª (A3), 18ª (A1) e 19ª (B9) semana após o parto. Um desses animais (B9) revelou-se preenhe por ocasião dos diagnósticos de gestação aos 21 e 60 dias após a inseminação artificial. Esta observação não efetivou a necessidade da ocorrência do aumento prévio nos níveis de progesterona, e deixa entender que, quando o 1º estro pós- parto ocorre mais tardiamente, pode ser acompanhado por sinais mais evidentes.

Dos 34 ciclos ocorridos, 18 estros foram observados traduzindo uma eficiência de detecção de 52,94%. Três animais, dentre os 18 observados em estro (16,6%), foram inseminados quando se encontravam em fase luteínica e 83,4% dos animais observados em estro, realmente o apresentaram. Quanto aos demais estros que não foram percebidos, correspondem com maior frequência ao 1º e 2º ciclos após o parto, tratando-se possivelmente de cios silenciosos.

Um caso de anestro foi observado (A4), corroborando ocorrências da literatura^{9,10}. Um outro animal (B2) apresentou aumento no nível de progesterona na 3ª semana após o parto, com queda na seguinte e assim permanecendo até o final do período observado.

Em 16,6% dos animais foram feitas inseminações artificiais fora do período de estro, equivalentes a citações na literatura de 10 a 26%⁶.

Com os valores de progesterona obtidos no dia do estro e no 21º dia pós- inseminação artificial, foram atingidos 100% de acertos para o diagnóstico negativo de prenhez, enquanto que 83,3% foram diagnósticos positivos, resultados esses concordantes com a literatura disponível^{5,12,15}.

Níveis significativamente maiores para vacas prenhes em

relação aos de vacas vazias foram encontrados aos 21 dias pós-inseminação artificial⁸, assim como ocorreu neste trabalho. Do mesmo modo, os valores numéricos para os níveis de progesterona no dia do cio e por ocasião do diagnóstico de prenhez também foram próximos aos registrados em vacas da raça Gir².

Um animal (A12) apresentou valores próprios de progesterona de fase folicular e luteínica (dia do cio e 21º dia pós-inseminação artificial) e no entanto, por ocasião do diagnóstico clínico por palpação retal, aos 60 dias, mostrou-se vazio, admitindo-se a ocorrência de caso típico de mortalidade embrionária precoce⁴.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

1. Da comparação do perfil de progesterona com a observação de cio, nota-se que o cio silencioso ocorreu com alta frequência no início do 1º e 2º ciclos ovarianos após o

parto.

2. O longo intervalo entre partos, decorrente da não percepção de cios, representa uma forma de ineficiência reprodutiva.

3. A variação entre os cruzamentos não alterou significativamente os níveis de progesterona encontrados no dia em que os animais apresentaram estro e aos 21 dias após a inseminação artificial.

4. O período necessário ao reinício da atividade ovariana após o parto foi estatisticamente igual para os dois grupos de animais.

5. Os valores de progesterona no leite desnatado permitem o acompanhamento da atividade do corpo lúteo no período pós-parto, bem como mostram-se adequados para o diagnóstico precoce de gestação aos 21 dias após a inseminação artificial.

SUMMARY

Progesterone concentrations were measured by radioimmunoassay in fat-free milk samples obtained weekly from 26 primiparous, suckling cows, raised in range conditions. Samples were collected in post partum period up to observation of first signs of estrus. Profiles of progesterone concentrations for early pregnancy diagnosis were also examined on milk samples taken 21 days after artificial insemination. Results showed ovarian cyclicity starting 9.89 weeks post partum in crossed Gir x Caracu cows, with 0.28 nmol/l progesterone on the day of estrus and 7.62 nmol/l 21 days post AI. In crossed Nelore x Caracu cows, these results were 12.08 weeks, 0.46 nmol/l and 9.23 nmol/l, respectively. Ten pregnancies out of 12 diagnosed were confirmed by rectal palpation. There was one case of embryo mortality and three AI were practiced during luteal phase. Estrus observation efficiency was 52.94%, since out of 34 heats identified through hormonal determinations, 18 were detected visually. Variations between crossings did not significantly alter progesterone profiles on day of estrus, nor on 21th day after AI or as for ovarian activity post partum.

UNITERMS: Progesterone, milk; Post partum; Pregnancy, diagnosis; Cattle

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01-BALL, P.J.H.; POPE, G.S. Measurement of concentration of progesterone in fat-free cows milk: its potential value in studies of reproduction. *J. Endocr.*, v.69, p.40P, 1976. /Apresentado ao 144. Meeting of the Society for Endocrinology, London, 1975/

02-BARNABE, R.C.; MADUREIRA, E.H.; PINTO, P.A.; BARNABE, V.H.; MARTINS, E.O. Comparative progesterone concentrations in blood and fat-free milk of Gir cows (*Bos indicus*). In: MEETING of FAO/IAEA/ARCAL III REGIONAL NETWORK FOR IMPROVING THE REPRODUCTIVE MANAGEMENT OF MEAT-AND-MILK-PRODUCING LIVESTOCK IN LATIN AMERICA WITH THE AID OF RADIO-IMMUNOASSAY, Bogotá, 1988. **Proceedings**, Vienna, International Atomic Energy Agency, 1990. p.249-56.

- 03-BLOOMFIELD, G.A.; MORANT, S.V.; DUCKER, M.J. A survey of reproductive performance in dairy herds. Characteristics of the patterns of progesterone concentration in milk. **Anim. Prod.**, v.42, p.1-10, 1986.
- 04-BULMAN, D.C.; LAMMING, G.E. Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. **J. Reprod. Fertil.**, v.54, p.447-58, 1978.
- 05-CAVESTANY, D.; FOOTE, R.H. The use of progesterone and electronic vaginal probes as aids in large dairy herd reproductive management. **Cornell Vet.**, v.75, p.441-53, 1985.
- 06-CLARK, B.L.; BIERSCHWAL, C.J. The practitioner's use of a rapid progesterone assay in the dairy cow. **Bovine Practit.**, v.21, p.128-30, 1986.
- 07-ELDON, J. The post-partum ovarian activity of the iceland dairy cow. **J. vet. Med.**, v.35, p.277-84, 1988.
- 08-HEAP, R.B.; MERLE, G.; LAING, J.A.; WALTERS, D.E. Pregnancy diagnosis in cows; changes in milk progesterone concentration during the oestrus cycle and pregnancy measured by a rapid radioimmunoassay. **J. agric. Sci.**, v.81, p.151-7, 1973.
- 09-KARG, H. Physiological impact on fertility in cattle, with special emphasis on assessment of the reproductive function by progesterone assay. **Livest. Prod. Sci.**, v.8, p.233-46, 1981.
- 10-KOZICKI, L.E.; BOSTEDT, H.; ARNSTADT, K.I. Perfis de progesterona no puerpério de vacas leiteiras analisados com o auxílio do radioimunoensaio e do enzimi-munoensaio. **Pesq. Agropec. bras.**, v.19, p.507-10, 1984.
- 11-McCAUGHEY, W.J.; GORDON, F.J. Milk progesterone assay: a comparison of inter-quarter and sampling time variation. **Brit. vet. J.**, v.135, p.512-8, 1979.
- 12-MADUREIRA, E.H. Níveis de progesterona determinados por radio-imuno-ensaio em plasma sanguíneo e leite desnatado de vacas da raça Gir (*Bos indicus*). São Paulo, 1988. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.
- 13-OJEDA, M.C.; CORREA, J.E. Determinacion de progesterona mediante radioinmunoanálisis en plasma y leche de vacas post-parto y en vacas preñadas. **Arch. Med.vet.**, v.14, p.103-8, 1982.
- 14-TAYLOR, R.T. Progesterona en leche. In: CURSO REGIONAL FAO/OIEA SOBRE RADIOINMUNOANÁLISIS EN PRODUCCION ANIMAL. Lima, 1984.
- 15-TORTONESE, D.J.; DORAY, J.M. Progesterona lactea: importância y aplicaciones de su determinacion en el mejoramiento de la performance reproductiva. **Vet. Argent.**, v.3, p.128-45, 1986.
- 16-VAN DE WIEL, D.F.M.; KALIS, C.H.J.; SHAH, S.N.H. Combined use of milk progesterone profiles, clinical examination and oestrus observation for the study of fertility in the post-partum period of dairy cows. **Brit. vet. J.**, v.135, p.568-77, 1979.

Recebido para publicação em 04/02/93
Aprovado para publicação em 04/07/93