

## NÍVEIS SÉRICOS DE ESTRADIOL EM OVELHAS DAS RAÇAS SUFFOLK E IDEAL NO FINAL DA GESTAÇÃO, DURANTE A LACTAÇÃO E APÓS O DESMAME\*

Serum levels of estradiol of Suffolk and Ideal breeds at the end of pregnancy, during lactation and after weaning

Luciana Del Rio Pinoti Ciarlini<sup>1</sup>, Lucy Marie Ribeiro Muniz<sup>2</sup>, Paulo César Ciarlini<sup>1</sup>

### RESUMO

Devido a escassez de literatura sobre as concentrações séricas de estradiol em ovelhas das raças Suffolk e Ideal, criadas à campo, resolveu-se estudar os níveis séricos deste esteróide e para tal utilizou-se 43 ovelhas sendo 25 da raça Suffolk e 18 da raça Ideal, criadas a campo. Amostras de sangue foram colhidas semanalmente, incluindo as 4 semanas pré-parto, 6 semanas de lactação e 4 semanas pós-desmame. O estradiol foi determinado por radioimunoensaio e os resultados obtidos demonstraram que as ovelhas das 2 raças possuem valores de estradiol sérico semelhantes em todos os momentos estudados. Sendo as concentrações de estradiol sérico ao final da gestação superiores as da lactação e pós-desmame nas 2 raças estudadas.

**Palavras-chave:** ovinos, estradiol, gestação, lactação.

### ABSTRACT

We studied the estradiol serum levels in pasture-bred Suffolk and Polwarth ewes due to the scarce reports in the literature. Twenty-five pastured-bred Suffolk ewes and eighteen Polwarth ewes (43) were used. Blood samples were collected weekly, including the 4 weeks pre-partum, the 6 weeks of lactation, and 4 weeks after weaning. The estradiol levels were determined using radioimmunoassay. The results obtained demonstrated that both breeds have similar values of serum estradiol during all the moments studied, and that the concentrations of serum

estradiol at the end of pregnancy are higher than those during lactation, and after weaning in both breeds.

**Keywords:** ovine, estradiol, gestation, lactation.

### INTRODUÇÃO

O estradiol é um estrógeno primário, biologicamente ativo e produzido pelo ovário, a partir de precursores androgênicos. De todos os hormônios esteróides, os estrógenos são os que mais possuem funções fisiológicas (HAFEZ, 1993).

Challis (1971) verificou que a concentração de estradiol plasmática de ovelhas, durante a gestação, foi menor que 5 pg/ml, até 31 dias antes do parto, e que, em seguida, se elevou até atingir 20 a 40 pg/ml, cinco dias antes do parto. Nas 48 horas que antecederam o parto, as taxas de estradiol variaram de 75 até 411 pg/ml, sendo que no primeiro dia pós-parto os valores baixaram para níveis muito baixos. A duplicação do estradiol plasmático, nas últimas 48 horas da gestação, foi também verificada em outros estudos (ROBERTSON; SMEATON, 1973; TSANG, 1978; RAWLINGS; WARD, 1978; CHALLIS; OLSON, 1988; HAMON; HEAP, 1990).

Segundo Challis (1971), o rápido aumento de estradiol, nas últimas 48 horas da gestação das ovelhas, pode fornecer o gatilho para o início do parto e formula a hipótese de que, nesta espécie, existe um mecanismo fetal na indução do parto. Jainudeen e Hafez (1988) sugerem que o aumento do cortisol fetal pode ser o responsável pelo padrão de produção

\* Parte do projeto de dissertação de mestrado financiado pela FAPESP.

<sup>1</sup> Médico veterinário. Professores Assistentes Doutores. Faculdade de Odontologia – Curso de Medicina Veterinária – FOA. Universidade Estadual Paulista/UNESP. Rua Clóvis Pestana, 793. 16050-680. Araçatuba, SP. Brasil.

<sup>2</sup> Médica Veterinária. Professora Assistente Doutora. FMVZ – UNESP – Botucatu.

do estradiol em ovelhas. A diminuição plasmática de progesterona, nos últimos dias da gestação, deve-se ao aumento da atividade da enzima placentária  $C_{17-20}$  liase que é provavelmente estimulada pelo cortisol, secretado pela adrenal do feto (STEELE et al., 1976).

Devido a escassez de dados sobre os níveis séricos de estradiol em ovelhas das raças Ideal e Suffolk, resolveu-se estudar o assunto, por ser importante o conhecimento desses valores para a melhor compreensão da fisiologia reprodutiva nessa espécie, que é, segundo FOSTER (1988), a mais utilizada em pesquisas das áreas médica e agrícola.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se 43 ovelhas, sendo 25 da raça Suffolk e 18 da raça Ideal com 3 a 4 anos, data de parto próximo e com duas gestações anteriores. Os animais pertenciam ao Posto Experimental de Caprinos e Ovinos (PECO) do Instituto de Zootecnia do Estado de São Paulo, localizado no município de Itapetininga.

A cobertura das ovelhas foi realizada por monta natural, sendo o coito identificado pela presença de tinta graxa na região dorsal da ovelha e a gestação, sugerida pelo não reaparecimento dos sinais clínicos do estro. Conforme preconiza Siqueira (1996), foi realizada a desmama precoce, seis semanas após o parto.

De acordo com a estação de monta e a previsão de parto, efetuaram-se colheitas semanais de sangue de todas as ovelhas, incluindo as 4 semanas que precederam o parto (PP), 6 semanas de lactação (LA) e 4 semanas que sucederam ao desmame (PD). De cada ovelha, em todos os momentos do experimento, por meio de sistema de coleta a vácuo e agulhas descartáveis 25 x 8 mm, foram obtidos 20 ml de sangue por punção da veia jugular, em tubos siliconizados e sem anticoagulante. Todas as amostras foram colhidas entre 8 e 10 h. O sangue total obtido, foi mantido por duas a três horas, em temperatura ambiente, a fim de se obter a coagulação e retração do coágulo. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 1600 G por 10 minutos. Uma vez separados por aspiração, os soros foram divididos em várias alíquotas e congelados a menos 20° C, até o momento de seu processamento laboratorial.

O estradiol sérico foi determinado pela técnica de radioimunoensaio (RIA) em fase sólida, utilizando-se conjunto de reagente comercial\*, sem qualquer tipo de extração química e processo de purificação, tendo como elemento radioativo traçador o  $I^{125}$ . As contagens de radioatividade foram obtidas pela utilização de contador gama automático\*\*, com 10 poços, calibrado automaticamente para  $I^{125}$  e tempo de contagem de um minuto. Os resultados foram obtidos automaticamente, pelo uso de programa específico do computador, acoplado ao contador gama e impressora.

Para comparação da variável (estradiol) entre momentos (PP, LA, PD) em cada grupo (Suffolk e Ideal), utilizou-se a prova não paramétrica de Friedman para amostras dependentes, conforme preconizado por ZAR (1984). Para tanto, foi realizado o cálculo da estatística  $\chi^2$  e de seus respectivos "p-values". No caso de  $p < 0,05$ , realizaram-se os contrastes entre as somas de postos das condições.

## RESULTADOS

Para o estradiol sérico, verificaram-se para os testes intra-ensaio e interensaio coeficientes de variação de 9,34 e 11,59%, respectivamente.

A média e o desvio padrão do estradiol sérico em ovelhas das raças Suffolk e Ideal, em diferentes momentos, assim como o resumo da análise estatística das comparações entre as taxas de estradiol sérico nas ovelhas das raças Suffolk e Ideal, nos diferentes momentos, e entre os momentos de cada raça estão registrados na Tabela 1.

De acordo com a Tabela 1 as ovelhas das raças Suffolk e Ideal apresentaram as maiores concentrações de estradiol sérico, na semana que antecede o parto (1PP).

Os valores médios de estradiol sérico em ovelhas Suffolk e Ideal, nos diferentes momentos do pré-parto, lactação e pós-desmame, estão registrados no gráfico da Figura 1.

Não obstante a raça Ideal ter apresentado maiores concentrações de estradiol sérico do que a raça Suffolk, as médias de estradiol, apresentadas na Figura 1, revelam que as duas raças apresentam um perfil semelhante, caracterizado por altas concentrações nas quatro semanas anteriores ao parto (4PP, 3PP, 2PP e 1PP), em relação aos demais momentos da lactação e pós-desmame. O estradiol

\* Coat-a-Count- Estradiol, Diagnostic Products Co., Los Angeles, CA, USA.

\*\* Gammacount, Mod. 20/20 Series, ISO DATA.

Tabela 1. Valores médios, desvios padrão e análise estatística de estradiol sérico (pg/ml) de ovelhas das raças Suffolck e Ideal em diferentes momentos.

Momentos (semanas)	SUFFOLK	IDEAL
4 Pré-parto	30.94 ± 8.62 <sup>Aa*</sup>	31.78 ± 10.75 <sup>Aa</sup>
3 Pré-parto	27.38 ± 8.66 <sup>Aa</sup>	31.82 ± 11.79 <sup>Aa</sup>
2 Pré-parto	27.61 ± 8.06 <sup>Aa</sup>	36.78 ± 11.26 <sup>Ba</sup>
1 Pré-parto	44.30 ± 42.72 <sup>Aa</sup>	50.41 ± 40.99 <sup>Aa</sup>
1 Lactação	8.57 ± 6.96 <sup>Ab</sup>	20.05 ± 29.02 <sup>Aa</sup>
2 Lactação	7.83 ± 6.09 <sup>Ab</sup>	6.07 ± 4.29 <sup>Ab</sup>
3 Lactação	4.68 ± 4.24 <sup>Ab</sup>	6.30 ± 4.50 <sup>Ab</sup>
4 Lactação	5.46 ± 4.30 <sup>Ab</sup>	5.85 ± 4.29 <sup>Ab</sup>
5 Lactação	3.45 ± 4.20 <sup>Ab</sup>	5.28 ± 4.98 <sup>Bb</sup>
6 Lactação	5.35 ± 5.02 <sup>Ab</sup>	6.22 ± 4.20 <sup>Ab</sup>
1 Pós-desmame	4.56 ± 4.53 <sup>Ab</sup>	4.46 ± 4.41 <sup>Ab</sup>
2 Pós-desmame	3.77 ± 5.20 <sup>Ab</sup>	4.03 ± 2.62 <sup>Ab</sup>
3 Pós-desmame	4.89 ± 4.70 <sup>Ab</sup>	4.41 ± 3.71 <sup>Ab</sup>
4 Pós-desmame	3.89 ± 3.47 <sup>Ab</sup>	4.97 ± 3.45 <sup>Ab</sup>

\* Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre raças. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna representam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre momentos.

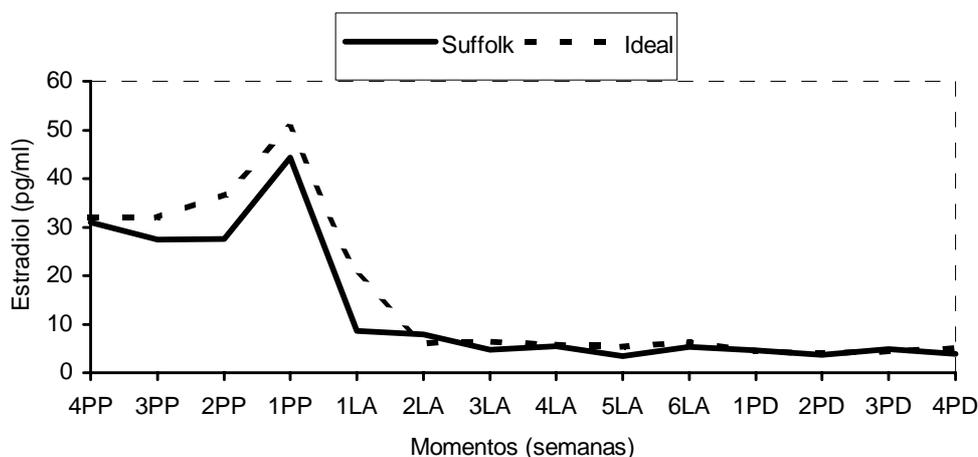


Figura 1. Valores médios de estradiol sérico (pg/ml) em ovelhas das raças Suffolck e Ideal, em diferentes momentos: pré-parto (PP), lactação (LA) e pós-desmame (PD).

sérico apresentou ainda um nítido declínio, a partir da 1ª semana pré-parto, alcançando valores médios inferiores a 8 pg/ml, após a 2ª semana de lactação (2LA), mantendo-se esses níveis até o final do experimento (Figura 1).

Os resultados da Tabela 1 demonstram que, com exceção da 2ª semana pré-parto (2PP) e 5ª semana de lactação (5LA), as taxas de estradiol

sérico não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) entre as duas raças estudadas, nos diversos momentos do pré-parto, lactação e pós-desmame. Por outro lado, os resultados da tabela 1, revelam que, em ambas as raças, as taxas de estradiol sérico, nas quatro semanas pré-parto, foram significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) aos demais momentos da lactação e pós-desmame. Em ambas as raças

estudadas, as taxas de estradiol sérico da lactação não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) das observadas no período pós-desmame.

## DISCUSSÃO

Os resultados de estradiol sérico apresentaram grande variabilidade, em ambas as raças estudadas e em todos os momentos. Considerando que, neste estudo, os animais eram homogêneos quanto a idade, número de parto, manejo e horário de colheita das amostras, acredita-se que a grande variabilidade dos resultados do estradiol sérico deva-se, em parte, ao intervalo de tempo que compreende cada momento (sete dias) e, também, a diferenças entre indivíduos. Cabe salientar que os resultados do estradiol em ovelhas, obtidos por Challis (1971), Tsang (1978), Rodrigues (1996), dentre outros pesquisadores, também apresentaram grande variabilidade.

Ao se comparar os resultados de estradiol sérico das raças Suffolk e Ideal, obtidos neste estudo, com os registrados na literatura, verifica-se que estes foram semelhantes aos obtidos para ovelhas de outras raças por Challis (1971), Robertson e Smeaton (1973), Tsang (1978), Rawlings e Ward (1978), Challis e Olson (1988) e Hamon e Heap (1990).

Na literatura, não se encontraram referências sobre os valores de estradiol sérico em ovelhas da raça Suffolk e apenas uma única citação para raça Ideal, em trabalho realizado por Rodrigues (1996). No referido estudo, os valores médios de estradiol sérico, observados para o 7º e 2º dias pré-parto, foram, respectivamente, 20,4 e 46,1 pg/ml; enquanto os observados no presente estudo para a 1ª semana pré-parto ( $50,4 \pm 40,9$  pg/ml). Rodrigues (1996) observou ainda, para o 7º dia de lactação, valor médio de estradiol de 2,04 pg/ml. Na presente pesquisa, o valor médio de estradiol para a 1ª semana de lactação foi de  $20,05 \pm 29$  pg/ml; superior, portanto, ao relatado por Rodrigues (1996). Este estudo faz acreditar que a discordância de tais resultados deva-se ao fato de que, no período referente à 1ª semana de lactação, deste estudo, estejam incluídas amostras colhidas pouco tempo após o parto, momento em que ainda se observam valores de estradiol tão altos quanto 126 pg/ml. Por outro lado, Rodrigues (1996) observou, no 12º dia de lactação, valores médios de estradiol sérico de 2,3 pg/ml, enquanto, neste estudo, verificou-se, para o período equivalente (2ª semana de lactação), valor médio de  $6,7 \pm 4,2$  pg/ml. Diferenças quanto ao

manejo, à nutrição e ao fotoperíodo a que os animais estiveram submetidos podem justificar esta diferença, uma vez que todos estes fatores podem interferir nos níveis séricos de estradiol.

A acentuada elevação da concentração do estradiol sérico, a partir da 2ª semana pré-parto (2PP), observada nas duas raças estudadas, está de acordo com as observações feitas por Robertson e Smeaton (1973), Tsang (1978), Rawlings e Ward (1978), Challis e Olson (1988) e Hamon e Heap (1990). Segundo Challis (1971), este marcante aumento de estradiol, próximo ao parto, deve-se à síntese placentária de estradiol, a partir da 17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -dihidroxi progesterona, catalisada pela enzima C<sub>17-20</sub> liase (BASSETT et al., 1969; FLINT et al., 1975; ELSNER et al., 1980). A atividade desta enzima placentária é provavelmente estimulada pelo cortisol de origem fetal (STEELE et al., 1976).

Não se encontrou, justificativa biológica para as diferenças verificadas na concentração de estradiol sérico, entre as raças Suffolk e Ideal, na 2ª semana pré-parto (2PP) e 5ª semana de lactação (5LA), o que faz pensar num possível efeito estatístico, influenciado pela grande variabilidade dos resultados do estradiol sérico. Considerando que o estradiol sérico não diferiu entre as duas raças, em todos os demais momentos, os resultados do presente estudo concordam com as observações de Butler et al. (1981), que, igualmente, não observaram diferenças entre raças de ovinos para este estrógeno.

## CONCLUSÕES

As concentrações séricas de estradiol em ovelhas das raças Suffolk e Ideal foram semelhantes no final da gestação, durante a lactação e após o desmame;

As concentrações séricas de estradiol em ovelhas das raças Suffolk e Ideal, nas quatro últimas semanas da gestação, foram superiores às dos períodos da lactação e pós-desmame.

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Zootecnia de Itapetininga - S.P. por ter fornecido e mantido os animais utilizados nesta pesquisa.

À FAPESP pela bolsa concedida e apoio financeiro sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BASSETT, J.M. et al. The concentration of progesterone in the peripheral plasma of the pregnant ewes. **J. Endocrinol.**, v.45, p.449-57, 1969.

BUTLER, W.R., et al. The relationship between breed and litter size in sheep and maternal serum concentrations of placental lactogen, estradiol and progesterone. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 53, p.1077-81, 1981.

CHALLIS, J.R.G. Sharp Increase in Free Circulating Oestrogens Immediately Before Parturition in Sheep. **Nature**, London, v.229, p.208, 1971.

CHALLIS, J.R.G., OLSON, D.M. Parturition In: KNOBIL, E., NEIL, J.D. **The physiology of reproduction**. New York: Raven, 1988. p. 2177-216.

ELSNER, C.W. et al. Time-trend analysis of plasma C-12 steroids in fetal and maternal sheep during the last 18 days of gestation. **Endocrinology**, Baltimore, v.107, p.801-8, 1980.

FLINT, A.P.F. et al. The mechanism by which foetal cortisol controls the onset of parturition in the sheep. **Biochem. Soc. Trans.**, London, v.3, p.1189, 1975.

FOSTER, D.L. Puberty in the female sheep. In: KNOBIL, E., NEILL, J.D. **The physiology of reproduction**. New York: Raven, 1988. p.1739-62.

HAFEZ, E.S.E. Hormones, Growth Factors, and Reproduction. In: \_\_\_\_\_ **Reproduction in Farm Animals**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1993. Chap. 3, p. 59-93.

HAMON M.H., HEAP R.B. Progesterone and oestrogen concentrations in plasma of Barbary sheep (aoudad, *Ammotragus lervia*) compared with those of domestic sheep and goats during pregnancy. **J. Reprod. Fertil.**, v.90, p. 207-11, 1990.

JAINUDEEN, M.R., HAFEZ, E.S.E. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1988. cap. 13, p. 281-321.

RAWLINGS, N.C., WARD, W.R. Correlations of maternal and fetal endocrine events with uterine pressure changes around parturition in the ewe. **J. Reprod. Fertil.**, Cambridge, v.54, p. 1-8, 1978.

ROBERTSON, H.A., SMEATON, T.C. The concentration of unconjugated oestrone, oestradiol-17a and oestradiol-17b in the maternal plasma of the pregnant ewe in relation to the initiation of parturition and lactation. **J. Reprod. Fertil.**, Cambridge, v.35, p. 461-8, 1973.

RODRIGUES, P. A. **Contribuição ao estudo do fenômeno de ritmicidade biológica (ritmo circadiano) do perfil hormonal do cortisol, estradiol e progesterona em ovelhas (*Ovis aries Linnaeus, 1758*) em início da gestação, pré-parto e lactação**. Jaboticabal, 1996. 70p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

SIQUEIRA, E.R. Recria e terminação de cordeiros em confinamento. In: Sobrinho, A.G.S. et al. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: FUNEP, 1996, p. 175-240.

STEELE, P.A., FLINT, A.P.F., TURNBULL, A.C. Increased utero-ovarian androstenedione production before parturition in sheep. **J. Reprod. Fertil.**, Cambridge, v.46, p. 443-5, 1976.

TSANG, C.P.W. Plasma levels of estrone sulfate, free estrogens and progesterone in the pregnant ewe throughout gestation. **Theriogenology**, Stonham, v.10, p.97-110, 1978.

ZAR, J.H. **Bioestatistical analysis**. 2. ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1984, 718p.