

DESEMPENHO REPRODUTIVO DE OVELHAS TRATADAS COM GONADOTROFINA CORIÔNICA EQUINA RECOMBINANTE

JULIA NOBRE BLANK CAMOZZATO¹; GABRIEL MAGGI²; FABIANE PEREIRA DE MORAES³; FERNANDO CAETANO DE OLIVEIRA⁴; NATÁLIA ÁVILA DE CASTRO⁵; BERNARDO GARZIERA GASPERIN⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – julia.camozzato@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gabrielmaggi98@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fabypmoraes@gmail.com

⁴Universidade Federal do Rio Grande do Sul – fcoliveiravet@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nataliaaviladecastro@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – bggasperin@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A sazonalidade reprodutiva das ovelhas representa um desafio para a produção contínua de cordeiros ao longo do ano, limitando o uso pleno do potencial produtivo dos rebanhos, especialmente em sistemas intensivos. Diversas estratégias têm sido aplicadas para contornar essa limitação fisiológica. Entre elas, os protocolos hormonais com base em dispositivos intravaginais (DIVs) de progesterona (P4) associados à gonadotrofina coriônica equina (eCG), são os mais eficazes na indução e sincronização do estro e ovulação em ovelhas fora da estação reprodutiva (ROSASCO *et al.*, 2019). A eCG atua mimetizando os efeitos do FSH e LH, promovendo o crescimento final dos folículos e compensando a deficiência de gonadotrofinas endógenas durante esse período (MURPHY, 2012).

Contudo, preocupações com o bem-estar animal, especialmente relacionadas à forma de obtenção da eCG, que é obtida a partir de coleta de sangue de éguas prenhes, têm motivado a busca por alternativas (GONZALEZ-BULNES *et al.*, 2020). Apesar de hormônios como FSH, GnRH e hCG terem sido testados, seus resultados ainda não se equiparam à eficácia da eCG em protocolos aplicados no anestro sazonal ou em inseminações em tempo fixo (IATF) (BRUNO-GALARRAGA *et al.*, 2021; MAGGI *et al.*, 2024; SILVEIRA *et al.*, 2021).

Diante disso, surge como alternativa a eCG recombinante (reCG), produzida por tecnologia de DNA recombinante em culturas de células de ovário de hamster chinês (VILLARRAZA *et al.*, 2021). A reCG apresenta molécula semelhante à eCG purificada e, apesar de algumas diferenças estruturais e químicas (Rodríguez *et al.*, 2023), apresenta atividade biológica *in vivo* (CRISPO *et al.*, 2021). Estudos em bovinos demonstraram que a reCG apresenta eficácia semelhante à eCG purificada quando usada em protocolos de IATF, promovendo taxas de ovulação e prenhez comparáveis (CATTANEO *et al.*, 2024).

Assim, este trabalho tem como objetivo investigar os efeitos do reCG em ovelhas durante o anestro estacional e transição para estação reprodutiva, avaliando sua capacidade de induzir crescimento folicular, ovulação, expressão de estro e fertilidade. A hipótese desse trabalho é que o reCG pode substituir a eCG convencional com igual eficiência, representando uma alternativa viável para a reprodução de ovinos fora da estação reprodutiva.

2. METODOLOGIA

No Experimento 1, conduzido em setembro (fora da estação reprodutiva), no Centro Agropecuário da Palma - UFPEL (31,8° S, 52,5° O), foram utilizadas 27 ovelhas cruzadas Corriedale, com escore corporal médio de $2 \pm 0,07$ (1–5) e confirmadas em anestro. Todas as fêmeas receberam um DIV com 0,36 g de P4 (Primer-PR®, Agener União) por sete dias. No momento da remoção (D7), todas receberam 250 µg de cloprostenol sódico (Estron®, Agener União), sendo então distribuídas aleatoriamente em três grupos: controle (n=9), tratado com solução salina; eCG (n=9), tratado com 400 UI de eCG (SincroeCG®, Ourofino); e reCG (n=9), tratado com 105 UI de reCG (Foli-Rec®, Ceva). A dinâmica folicular foi avaliada por ultrassonografia transretal em 24, 36 e 48 horas após a remoção do DIV. A ovulação e a morfologia luteal (área e perfusão sanguínea do corpo lúteo; CL) foram avaliadas sete dias após o tratamento por doppler colorido. Os níveis séricos de P4 foram medidos nos dias 7 e 12 após a retirada do DIV.

No Experimento 2, 441 ovelhas (controle n=117; eCG n=170; reCG n=154) de cinco propriedades comerciais com escore corporal médio de $2,71 \pm 0,03$ (1–5) (30,5° S, 52,7° O) foram tratadas com protocolos semelhantes ao Experimento 1, entre dezembro e janeiro (período de transição reprodutiva). O tempo de exposição à P4 variou de 5 a 9 dias, para respeitar a proporção de 1 carneiro para 15 ovelhas. Carneiros férteis, aptos no exame andrológico, foram mantidos juntos com as fêmeas por 5 dias após a remoção do DIV. Os carneiros foram previamente marcados com tinta na região escrotal para detecção do estro. A prenhez foi confirmada 25 a 30 dias após a monta natural por ultrassonografia com probe transretal por detecção do embrião.

As análises estatísticas foram realizadas no software JMP18, adotando nível de significância de 5%. Foram utilizados ANOVA (para dinâmica folicular e função lútea), regressão logística (para taxas de estro, ovulação, prenhez e concepção) e testes não paramétricos (para níveis de P4), com comparações por Tukey, Student e Wilcoxon. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA/UFPEL nº 23110.006185).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Experimento 1, não foram observadas diferenças no diâmetro folicular entre os grupos 24h e 36h após a remoção do DIV. O diâmetro folicular às 48h foi maior nas ovelhas tratadas com eCG ($5,22 \pm 0,23$ mm) em comparação ao grupo controle ($3,98 \pm 0,23$ mm; $P < 0,05$), enquanto as tratadas com reCG ($4,8 \pm 0,23$ mm) mostraram valores intermediários, sem diferença estatística em relação aos demais. A taxa de crescimento folicular entre 24h e 48h foi maior nos grupos eCG ($1,07 \pm 0,27$ mm/dia) e reCG ($1,05 \pm 0,27$ mm/dia) do que no grupo controle ($0,01 \pm 0,27$ mm/dia). A ocorrência de ovulação foi observada em 100% (9/9) das ovelhas tratadas com eCG e em 88,9% (8/9) das tratadas com reCG, sendo maior que no grupo controle no qual nenhuma ovelha ovulou (0/9; $P < 0,01$). Além disso, observou-se ovulação múltipla em 44,4% das ovelhas tratadas com eCG e em 25% daquelas tratadas com reCG. Esses achados reforçam a necessidade da administração de gonadotrofinas durante o anestro, sendo apenas o uso de P4 incapaz de estimular o crescimento folicular para o estágio de dominância (>4 mm) e, consequentemente, ovular (EVANS, 2003).

A área e a perfusão sanguínea do CL foram semelhantes entre os grupos eCG e reCG, demonstrando que ambas as gonadotrofinas permitiram a formação de CLs com características morfológicas e vasculares comparáveis. No entanto, considerando apenas animais com ovulação simples, os níveis de P4 foram

significativamente maiores nas ovelhas tratadas com eCG ($n=5$; $D7 = 6.8 [3.76–11.16]$ ng/mL; $D12 = 8.6 [4.94–14.55]$ ng/mL) do que nas tratadas com reCG ($n=6$; $D7 = 3.01 [2.84–4.9]$ ng/mL; $D12 = 4.36 [3.35–6.18]$ ng/mL) nos dias 7 e 12. Esses dados sugerem que, embora o reCG tenha promovido a ovulação e formação do CL, sua menor meia-vida, possivelmente relacionada à menor quantidade de ácido siálico na molécula, pode ter resultado em menor estímulo luteotrófico (STEWART e ALLEN, 1981; VILLARRAZA *et al.*, 2021). Ademais, essa diferença funcional pode ter ocorrido devido à falta de estudos de equivalência de dosagem entre eCG e reCG, tendo sido utilizada uma dose de menor potência para o grupo reCG.

No Experimento 2, durante a transição reprodutiva, a taxa de estro foi maior nas ovelhas tratadas com eCG (93,45%) do que nas do grupo controle (76,32%; $P<0,01$), enquanto o grupo reCG (87,58%) apresentou valores intermediários, sem diferenças significativas em relação aos demais. A maior expressão de estro no grupo eCG pode estar relacionada ao desenvolvimento de folículos maiores e mais estrogênicos (EVANS, 2003). Por outro lado, as taxas de prenhez ($P=0,82$) e concepção ($P=0,72$) não foram afetadas por nenhum dos tratamentos hormonais. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de o experimento ter sido realizado durante a transição para a estação reprodutiva. O tratamento com P4 pode simular as mudanças fisiológicas que ocorrem durante essa fase, modulando o *feedback* hipotalâmico ao estradiol (GOODMAN *et al.*, 2010). Assim, embora a eCG tenha favorecido maior taxa de estro, não houve reflexo significativo na fertilidade.

Além dos tratamentos, o ECC teve impacto nos resultados reprodutivos. Ovelhas com ECC superior a 2,5 apresentaram maior taxa de prenhez ($P=0,03$) e tendência a maior taxa de concepção ($P=0,058$), corroborando com estudos que associam o baixo ECC à redução da fertilidade, principalmente devido a alterações hormonais que comprometem a função do eixo reprodutivo (CHAVES *et al.*, 2024).

4. CONCLUSÕES

O tratamento com reCG foi eficiente em promover crescimento folicular final e indução da ovulação em ovelhas durante o anestro sazonal. Contudo, no período de transição para a estação reprodutiva, o uso de reCG ou eCG não tiveram efeito sobre as taxas de prenhez e concepção por acasalamento natural em comparação ao tratamento apenas com P4 e PGF nas condições do presente estudo. O uso de reCG em protocolos hormonais é possível, embora devam ser realizados mais estudos para determinação da equivalência entre as dosagens de eCG e reCG e sobre seu efeito na fertilidade durante o anestro profundo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRUNO-GALARRAGA, M. *et al.* The use of hcg for inducing ovulation in sheep estrus synchronization impairs ovulatory follicle growth and fertility. **Animals**, v. 11, n. 4, p. 984, 2021.

CATTANEO, L. *et al.* The use of a recombinant equine chorionic gonadotropin (reCG) in fixed-time AI programs in beef cattle. **Theriogenology**, v. 227, p. 77–83, 2024.

CHAVES, A. S. *et al.* Body Condition in Small Ruminants—Effects of Nutrition on the Hypothalamic–Pituitary–Gonad Axis and Ovarian Activity That Controls Reproduction. **Physiologia**, v. 4, p. 213–225, 2024.

CRISPO, M. *et al.* Ovarian superstimulatory response and embryo development using a new recombinant glycoprotein with eCG-like activity in mice.

Theriogenology, v. 164, p. 31–35, 2021.

ESTRADÉ, M. J. *et al.* ECG Concentration and Subsequent Reproductive Activity in Mares After Abortion at Day 70. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 42, p. 88–93, 2016.

EVANS, A. C. O. Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 38, n. 4, p. 240–246, 2003.

GONZALEZ-BULNES, A. *et al.* Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep oestrous cycle: where we are and where we should go. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 32, n. 5, p. 441–452, 2020.

GOODMAN, R. L. *et al.* Neural systems mediating seasonal breeding in the ewe. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 22, n. 7, p. 674–681, 2010.

MAGGI, G. *et al.* Is it possible to replace eCG by GnRH in the hormonal protocol for timed artificial insemination in ewes during the breeding season? **Domestic Animal Endocrinology**, v. 89, p. 106878, 2024.

MURPHY, B. D. Equine chorionic gonadotrophin: an enigmatic but essential tool. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 223–230, 2012.

RODRÍGUEZ, M. C. *et al.* Physicochemical Characterization of a Recombinant eCG and Comparative Studies with PMSG Commercial Preparations. **Protein Journal**, v. 42, n. 1, p. 24–36, 2023.

ROSASCO, S. L. *et al.* Evaluation of estrous synchronization protocols on ewe reproductive efficiency and profitability. **Animal Reproduction Science**, v. 210, p. 106191, 2019.

SILVEIRA, D. C. *et al.* Pharmacological approaches to induce follicular growth and ovulation for fixed-time artificial insemination treatment regimens in ewes. **Animal reproduction science**, v. 228, p. 106734, 2021.

STEWART, F.; ALLEN, W. R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, p. 527–536, 1981.

VILANOVA, X. M. *et al.* Horse welfare during equine chorionic gonadotropin (eCG) production. **Animals**, v. 9, n. 12, p. 1053, 2019.

VILLARRAZA, C. J. *et al.* Development of a suitable manufacturing process for production of a bioactive recombinant equine chorionic gonadotropin (reCG) in CHO-K1 cells. **Theriogenology**, v. 172, p. 8-19, 2021.

WALTON, J. S. *et al.* Changes in concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactin and progesterone in the plasma of ewes during the transition from anoestrus to breeding activity. **Journal of Endocrinology**, v. 75, p. 127–136, 1977.