

EFEITO DA PMSG E DE UM ANTAGONISTA DA PROGESTERONA SOBRE A ACTIVIDADE MIOELÉCTRICA UTERINA EM OVINOS

EFFECT OF PMSG AND OF A PROGESTERONE ANTAGONIST ON UTERINE ELECTROMIOGRAPHIC ACTIVITY IN SHEEP

S.C. Gonçalves, A.E.M. Horta, C.C. Marques, M.I. Vasques

Departamento de Reprodução Animal, Estação Zootécnica Nacional-INIA, 2000-763 Vale de Santarém

RESUMO

A fertilização em ovelhas superovuladas com PMSG apresenta uma grande variação entre tratamentos, resultante da produção de progesterona (P4) folicular na fase éstrica e consequente falta de sincronização das ovulações. A administração de antagonistas da progesterona, consegue sincronizar as ovulações múltiplas mas conduz à ausência de fertilização devido à não progressão dos espermatozoides, que ficam retidos no cérvix. Pretendeu-se neste trabalho, verificar o efeito da PMSG e do antagonista da P4 Onapristone (ZK) sobre a actividade mioelétrica uterina (EMG) durante a fase éstrica. Uma ovelha de raça Merino foi submetida a cirurgia para implantação de 3 pares de eléctrodos no miométrio, localizados no corpo (canal 7, CUT), na zona média (canal 5, CM) e proximal (canal 3, CP) do corno uterino. Os eléctrodos foram conectados a um sistema modular computadorizado (Lablink V, Coulbourn Instruments), que permitiu fazer o registo da EMG. Durante ciclos sincronizados instituíram-se os seguintes tratamentos: PMSG (1500 UI, i.m., 24h antes da remoção da esponja) e PMSG + ZK (ZK, 1 mg kg⁻¹, i.v., às 0 h e de 12/12 h após a remoção da esponja, durante 48 h). As sessões de registo EMG com a duração de 30 minutos foram efectuadas no momento da remoção da esponja e 24, 28, 48 e 72 horas depois. Registou-se a intensidade (distribuição de registos por 13 classes de 0 a >1 Volt) e o sentido da EMG, que foram comparados entre si e com o grupo testemunha (uma leitura durante a fase folicular não tratada).

A PMSG provoca um aumento significativo da EMG nos três canais em relação à testemunha. Este aumento é mais marcado ao nível do CM e do CUT. Relativamente ao grupo PMSGZK, verifica-se o mesmo padrão de actividade, relativamente à testemunha. No CP o PMSGZK mostra uma actividade significativamente superior à PMSG às 0 horas, mantendo esta tendência nas restantes leituras. No CM, o PMSGZK é significativamente superior à PMSG às 0 e 24 h, mostrando actividade idêntica daí em diante. No CUT, às 0 e 24 h, a EMG da PMSG é superior à do PMSGZK, invertendo-se a situação às 48 e 72 h. O grupo PMSGZK, relativamente ao grupo PMSG, apresentou significativamente mais contracções coordenadas nos três canais, no sentido posterior que anterior (66,7% and 33,3% vs. 43,8% and 56,2%, respectivamente; $P < 0,04$).

Os resultados mostram que a administração de Onapristone conduz a alterações quantitativas e qualitativas da actividade mioelétrica uterina que podem explicar a ausência de fertilização por não progressão espermática, detectada em trabalhos anteriores.

SUMMARY

Fertilisation rates show a high variability due to different follicular progesterone (P4) production and asynchronous ovulations in PMSG superovulated ewes. Progesterone antagonists are able to synchronize multiple ovulations but impair fertilisation due spermatozoa arrest at the cervix. The purpose of this experiment was to study the effect of PMSG and P4 antagonist Onapristone (ZK) on uterine electromyographic activity (EMG) during oestrus. Three pairs of electrodes were surgically implanted into the myometrium of one Merino ewe, at the uterine body (channel 7, CUT), the medium uterine horn (channel 5, CM) and proximal uterine horn (channel 3, CP). Electrodes were connected to a computerising modular system (Lablink V, Coulbourn

Instruments), which allowed EMG recordings. During synchronized cycles, the following treatments were performed: PMSG (1500 UI, i.m., 24 h before sponge withdrawal) and PMSG+ZK (ZK, 1 mg kg⁻¹, i.v., at 0h and every 12 hours after sponge withdrawal, during 48 hours). Each EMG recording session lasted 30 minutes and was carried out at sponge withdrawal and 24, 28, 48 and 72 hours later. Intensity (recordings were distributed into 13 classes ranging from 0 to > 1 volt) and direction of EMG were compared among different groups including the control group (recorded at the follicular phase of a non treated cycle).

PMSG induces a significant increase in EMG monitored on three channels when compared to control group. This increase is even higher at the CM and CUT. PMSGZK group presents the same pattern of activity when compared to control. PMSGZK induced a significantly higher activity than PMSG in the CP at 0 hours, which was maintained afterwards. PMSGZK is significantly higher than PMSG at 0 and 24 hours in the CM, showing an identical activity from 24 hours onwards. In the CUT, PMSG treatment showed a higher EMG activity than PMSGZK from 0 to 24 hours, this pattern being reversed from 48 to 72 hours. On the three channels PMSGZK group presented a significantly more synchronized EMG with a posterior direction compared to the anterior direction presented by PMSG group (66.7% and 33.3% vs. 43.8% and 56.2%, respectively; $P < 0.04$).

These results suggest that sperm arrest in the cervix conducting to a lack in fertilisation following Onapristone treatment, is due to quantitative and qualitative modifications on EMG induced by the drug.

INTRODUÇÃO

Os tratamentos de superovulação conduzem frequentemente a uma redução da taxa de fertilização, a qual tem sido atribuída a alterações de transporte dos gâmetas provocadas pela PMSG (Whyman e Moore, 1980; Evans e Armstrong, 1984; Hawk et al., 1987).

A administração do antagonista da progesterona Onapristone (ZK98299, Schering), no período pré-ovulatório a ovelhas superovuladas, resultou numa ausência de fertilização devido à inibição da migração dos espermatozóides, não interferindo contudo com a normal sincronização do estro, da ovulação e maturação do oócito (Cavaco Gonçalves et al., 1997).

Com este trabalho pretendeu-se caracterizar a actividade uterina de ovelhas na fase folicular durante o ciclo éstrico normal ou superovulado, tentando saber se as alterações acima referidas poderiam resultar de perturbações da motilidade uterina induzidas pela PMSG e/ou pelo antagonista da progesterona administrados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi utilizada uma ovelha adulta da raça Merino, com peso vivo de 61,5 kg, cuja ciclicidade foi previamente determinada através de doseamentos bi-semanais de progesterona no plasma periférico.

Para os registos da actividade electromiográfica (EMG) foi utilizado um sistema modular computadorizado (*LABLINK V*®, *Coulbourn Instruments*). Foram utilizados eléctrodos monopolares para potenciais evocados em teflon com 90 cm de comprimento, nos quais se procedeu à remoção da cobertura isolante numa extensão de cerca de 0,5 mm, a cerca de 3 cm da extremidade.

Para a colocação dos eléctrodos, o útero foi exteriorizado após laparotomia mediana e uma agulha de sutura previamente fixada na extremidade do eléctrodo, foi introduzida através da parede uterina até que a porção não isolada do eléctrodo alcançasse o ponto desejado do miométrio. Foram colocados três pares de eléctrodos, um na extremidade do corno próximo à junção com o oviducto (corno proximal, CP), outro na porção intermédia do corno (corno médio, CM) e o terceiro no corpo uterino (CUT). Os dois eléctrodos de cada par foram colocados a uma distância de 2mm. Os cabos dos eléctrodos passaram para o exterior do animal através de uma fístula no flanco direito e foram fixados à pele com sutura de fixação.

Após a intervenção o animal foi colocado numa cela individual, onde permaneceu durante todo o período de ensaio. No momento dos registos, os eléctrodos foram conectados aos três canais de filtração e amplificação do sinal do sistema modular e os registos gravados em computador. Os ensaios tiveram início 20 dias após a colocação dos eléctrodos, permitindo que o animal se adaptasse às novas condições de manejo.

Ensaio 1: neste ensaio, com a duração de 18 dias, não foi administrado qualquer tratamento ao animal, tendo sido realizados 2 registos da actividade electromiográfica uterina por dia, cada um com a duração de 30 minutos. Diariamente foram realizadas colheitas de sangue para doseamento da progesterona plasmática por R.I.A., permitindo seleccionar posteriormente os registos efectuados durante as fases folicular (Testemunha) e lútea do ciclo éstrico normal.

Ensaio 2 (PMSG): neste ensaio a ovelha foi submetida a um tratamento de sincronização do ciclo éstrico, pela aplicação durante 9 dias de uma esponja vaginal com 40 mg de FGA (acetato de fluorgestona, "Chronogest®" Intervet). Vinte e quatro horas antes da remoção da esponja foram administrados 7,5 mg de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (Dinolytic®, UpJonh) para garantir a luteólise e 1500 U.I. de PMSG (Intergonan 500®, Intervet) para induzir a superovulação. Foram realizadas sessões com a duração de 30 minutos para registo da actividade electromiográfica uterina no momento da remoção da esponja (PMSG0) e 24 (PMSG24), 28, 48 (PMSG48) e 72 horas depois (PMSG72).

Ensaio 3 (PMSGZK): a sincronização do ciclo éstrico bem como a superovulação foram realizadas da forma acima descrita. No momento da remoção da esponja e a intervalos de 12 horas nas 48 horas seguintes, administrou-se por via i.v. lenta o antagonista da progesterona ZK98299, na dose de 1 mg kg⁻¹, tendo sido administrada uma dose total de 61,5 mg diluídos em 12,5 ml de uma solução de NaCl e HCl. Foram realizados registos da actividade uterina, com a duração de 30 minutos, no momento da remoção da esponja (PMSGZK0) e 24 (PMSGZK24), 28, 48 (PMSGZK48), e 72 horas depois (PMSGZK72).

No momento de inserção da esponja, da administração do tratamento superovulatório, da remoção da esponja, bem como a intervalos de 4 horas por um período de 60 horas com início 24 horas após a remoção da esponja, foram realizadas colheitas de sangue para doseamento da progesterona plasmática por R.I.A.. Para confirmação das ovulações foram realizadas endoscopias 8 dias após a remoção da esponja vaginal.

Tratamento dos dados

Cada sessão de 30 minutos continha informação sobre a actividade eléctrica uterina (Volts) de 45000 registos (pontos) por canal. Os dados foram exportados para uma folha de cálculo, permitindo efectuar os ajustamentos à linha basal e o seu tratamento estatístico posterior. Consideraram-se 13 intervalos de classe, de acordo com o espectro medido: classe 1: $\leq 0,0025V$; classe 2: $< 0,0025 - \leq 0,005V$; classe 3: $< 0,005 - \leq 0,0075V$; classe 4: $< 0,0075 - \leq 0,01V$; classe 5: $< 0,01 - \leq 0,025V$; classe 6: $< 0,025 - \leq 0,05V$; classe 7: $< 0,05 - \leq 0,075V$; classe 8: $< 0,075 - \leq 0,1V$; classe 9: $< 0,1 - \leq 0,25V$; classe 10: $< 0,25 - \leq 0,5V$; classe 11: $< 0,5 - \leq 0,75V$; classe 12: $< 0,75 - \leq 1V$; classe 13: $> 1V$. Para cada sessão de registo fez-se uma distribuição relativa da actividade mioeléctrica pelas classes pré-definidas. As comparações entre grupos, para cada classe e dentro do mesmo grupo, entre classes, foram efectuadas pelo teste de χ^2 (teste 2x2). Desta forma foi possível avaliar e comparar a força da actividade uterina expressa pela distribuição relativa entre as diferentes classes de actividade eléctrica.

A selecção dos picos de actividade máxima nas sessões das 24 e 28 horas pós remoção das esponjas (grupos PMSG e PMSGZK) e das sessões únicas durante a fase lútea e folicular do ciclo normal, permitiu estabelecer a sua distribuição relativa em cada um dos locais do tracto genital e determinar o sentido direccionado predominante da EMG em cada um dos grupos.

RESULTADOS

Na sessão testemunha (fase folicular não tratada, tabela 1) a actividade do corno proximal (CP) e do corpo uterino (CUT) concentrou-se na classe 1 ($P>0,05$). O corno médio (CM) exibiu mais actividade, distribuída pelas classes 1 a 6. As classes homólogas entre o CM vs. o CP e o CUT, são significativamente diferentes ($P<0,05$), mostrando que o CM apresenta maior actividade electromiográfica uterina.

Tabela 1. Distribuição da EMG (%) por classes na sessão testemunha

Grupos	Distribuição por classes de EMG (%)						
	1	2	3	4	5	6	7-13
CP-Test	99,8 ^a	0,1 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,1 ^a	0,0 ^a	0,0
CM-Test	23,4 ^b	37,5 ^b	2,0 ^b	6,2 ^b	26,2 ^b	4,6 ^b	0,0
CUT-Test	99,6 ^a	0,3 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	0,0

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (χ^2 , $P<0,05$)

O tratamento superovulatório com PMSG (tabela 2), quando comparado com o testemunha, conduziu a um aumento da actividade uterina ao nível do CP e do CUT, aumento este que se manteve em todas as sessões de registo efectuadas e que resultou de uma redução do número de pontos da classe 1 e o aumento dos pontos das classes 2, 3 e 5 no CP e das classes 5 a 7 no CUT ($P<0,05$). No CM, às 0 e às 24 horas observou-se actividade irregular, com períodos de fraca actividade (classe 1) intercalados por períodos de maior actividade (classe 8). Às 48 horas verificou-se um significativo aumento da actividade (classe 8), aumento este observado igualmente às 72 horas.

Tabela 2. Distribuição da EMG (%) por classes no grupo PMSG

Grupos	Distribuição por classes de EMG (%)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-13
CP-PMSG0	29,3 [*]	69,6 [*]	0,7	0,1	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
CP-PMSG24	19,6 [*]	70,6 [*]	2,9	1,6	3,9 [*]	1,3	0,1	0,0	0,0	0,0
CP-PMSG48	7,2 [*]	85,2 [*]	3,3	1,6	2,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
CP-PMSG72	7,3 [*]	85,1 [*]	7,3 [*]	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CM-PMSG0	52,7 [*]	0,0 [*]	0,0	0,0 [*]	0,1 [*]	0,1 [*]	5,8 [*]	32,9 [*]	8,4 [*]	0,0
CM-PMSG24	55,8 [*]	0,1 [*]	0,2	0,2 [*]	7,2 [*]	1,6	9,2 [*]	25,7 [*]	0,0	0,0
CM-PMSG48	0,0 [*]	0,0 [*]	0,0	0,0 [*]	25,4	0,2 [*]	2,7	67,2 [*]	4,4 [*]	0,0
CM-PMSG72	0,0 [*]	0,0 [*]	0,0	0,0 [*]	36,7	1,0	3,4	48,8 [*]	10,1 [*]	0,0
CUT-PMSG0	2,6 [*]	4,2	4,1 [*]	5,7 [*]	41,9 [*]	40,8 [*]	0,4	0,1	0,2	0,0
CUT-PMSG24	3,4 [*]	3,6	0,6	0,3	0,8	71,1 [*]	20,2 [*]	0,0	0,0	0,0
CUT-PMSG48	10,7 [*]	8,4 [*]	1,1	0,6	27,3 [*]	51,3 [*]	0,4	0,1	0,1	0,0
CUT-PMSG72	29,3 [*]	4,4	0,6	0,2	4,3 [*]	58,6 [*]	2,4	0,2	0,1	0,0

* Significativamente diferentes das classes e porções uterinas homólogas da testemunha (χ^2 , $P<0,05$)

A associação da PMSG com o ZK (tabela 3), quando comparado com a testemunha, conduziu a um aumento da actividade em todo o período de ensaio nas três porções do útero, com redução do número de pontos na classe 1 ($P<0,05$). No CP o aumento de actividade resulta do aumento dos pontos da classe 2, enquanto no CM aumentam os pontos das classes 5 e 6. No CUT houve um aumento gradual de actividade ao longo de todo o período de ensaio.

Comparando os tratamentos efectuados, PMSG vs. PMSGZK (tabela 3), verifica-se que ao nível do CP, o PMSGZK mostra uma actividade significativamente superior ao PMSG, por aumento dos pontos da classe 2 em detrimento do número de pontos da classe 1 às 0 horas, e por redução dos pontos da classe 1 às 24h. Às 48h não foram encontradas diferenças entre os dois tratamentos, voltando a ser detectado um ligeiro, mas significativo aumento no PMSGZK às 72 h, por aumento dos pontos da classe 5. No CM, o PMSGZK apresenta maior actividade que o PMSG às 0 e 24h. Às 48 e 72 horas, apesar da existência de algumas diferenças entre classes,

ambos os grupos apresentam actividade elevada. Ao nível do CUT a situação inverte-se, com maior actividade no grupo PMSG às 0 e 24h, concentrada nas classe 5 a 7, passando às 48 e 72 horas a ser o grupo PMSGZK o que apresenta maior actividade (classes 6 a 8).

Tabela 3. Distribuição da EMG (%) por classes no grupo PMSGZK

Grupos	Distribuição por classes de EMG (%)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-13
CP-PMSGZK0	5,9 ^{*1}	89,5 ^{*1}	3,5	0,7	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
CP-PMSGZK24	2,8 ^{*1}	80,5 [*]	5,5 [*]	2,7	6,3 [*]	2,0	0,1	0,0	0,0	0,0
CP-PMSGZK48	7,2 [*]	86,1 [*]	1,4	0,8	2,6	1,4	0,5	0,1	0,0	0,0
CP-PMSGZK72	5,0 [*]	85,5 [*]	2,6	1,5	4,0 ^{*1}	1,4	0,1	0,0	0,0	0,0
CM-PMSGZK0	39,0 ^{*1}	0,0 [*]	0,0	0,0 [*]	57,9 ^{*1}	1,6	1,3	0,2 ¹	0,0 ¹	0,0
CM-PMSGZK24	0,0 ^{*1}	0,0 [*]	0,0	0,0 [*]	84,1 ^{*1}	1,8	14,0 [*]	0,0 ¹	0,0	0,0
CM-PMSGZK48	0,0 [*]	0,0 [*]	4,1 ¹	5,2 ¹	4,4 ^{*1}	82,1 ^{*1}	3,5	0,6 ¹	0,1 ¹	0,0
CM-PMSGZK72	22,0 ¹	0,0 [*]	0,0	0,0 [*]	0,3 ^{*1}	1,0	76,3 ^{*1}	0,4 ¹	0,0 ¹	0,0
CUT-PMSGZK0	0,0 [*]	37,2 ^{*1}	8,5 [*]	0,7 ¹	8,4 ^{*1}	25,8 ^{*1}	19,2 ^{*1}	0,1	0,0	0,0
CUT-PMSGZK24	7,6 [*]	57,7 ^{*1}	3,8 [*]	1,7	12,5 ^{*1}	16,4 ^{*1}	0,3 ¹	0,0	0,0	0,0
CUT-PMSGZK48	0,0 ^{*1}	0,0 ¹	0,0	0,0	0,1 ¹	1,2 ¹	34,8 ^{*1}	63,1 ^{*1}	0,7	0,0
CUT-PMSGZK72	0,0 ^{*1}	0,0 ¹	0,0	0,0	0,3	96,5 ^{*1}	3,0	0,1	0,1	0,0

* Significativamente diferentes das classes e porções uterinas homólogas da testemunha (χ^2 , $P < 0,05$)

¹ Significativamente diferentes das classes e porções uterinas homólogas do grupo PMSG (χ^2 , $P < 0,05$)

Quanto à análise dos picos de actividade observados em duas sessões de 30 minutos realizadas 24 e 28 horas pós remoção da esponja nos grupos PMSG e PMSGZK, e numa sessão única nas fases folicular e lútea, verificou-se um aumento de actividade no CP nos grupos tratados, sendo o PMSG aquele que apresenta maior actividade (tabela 4). No CM a situação inverte-se e os grupos não tratados apresentam maior quantidade de registos que os tratados ($P < 0,05$), não mostrando diferenças entre si. No CUT existe uma predominância de picos na fase folicular (44,2%), seguindo-se o PMSGZK (26,6%) ambos diferentes entre si e significativamente superiores aos da fase lútea (20,6%) e do grupo PMSG (21,1%). Na fase folicular, a distribuição do número de picos subiu do CP para o CUT e decresceu na fase lútea, enquanto que nos grupos tratados o mínimo foi atingido no CM e o máximo no CP. Verifica-se assim, existir um padrão semelhante na distribuição dos picos máximos de EMG na fase lútea e nos dois grupos tratados e inverso ao verificado na fase folicular normal (tabela 4).

Tabela 4. Distribuição absoluta e relativa dos picos de EMG (%) em duas sessões de 30 minutos realizadas às 24 e 28 horas (nas fases folicular e lútea foi efectuada uma única sessão).

Grupos	CP (n)	CM (n)	CUT (n)	Total
Fase Folicular	25,6 (33) ^{a1}	30,2 (39) ^{a1}	44,2 (57) ^{a2}	(129)
Fase Lútea	40,6 (73) ^{b1}	38,9 (70) ^{a1}	20,6 (37) ^{bc2}	(180)
PMSG	61,2 (308) ^{c1}	17,7 (89) ^{b2}	21,1 (106) ^{b2}	(503)
PMSGZK	52,0 (320) ^{d1}	20,2 (122) ^{b2}	26,8 (162) ^{c3}	(604)

Na mesma coluna, letras diferentes = $P < 0,05$; na mesma linha;

números diferentes = $P < 0,05$ (χ^2)

Como se mostra na Tabela 5, o grupo PMSGZK apresentou uma actividade coordenada nos três pontos de leitura, com uma predominância de sentido posterior dos picos (CP > CM > CUT), situação inversa da verificada no grupo PMSG onde predominaram picos com sentido anterior (CUT > CM > CP; $P < 0,05$). As fases folicular e lútea, com uma única sessão de 30 minutos, apresentam uma actividade coordenada nos três canais pouco representativa durante o período de leitura.

Tabela 5. Sentido dos picos de EMG (3 canais)

Grupos	Sentido dos Picos em Três Canais (série de 3)		
	Anterior % (n)	Posterior % (n)	Signif. (χ^2)
Fase Folicular	20 (1)	80 (4)	ab
Fase Lútea	0 (0)	100 (2)	ab
PMSG	56,2 (18)	43,8 (14)	b
PMSGZK	33,3 (16)	66,7 (32)	a

A actividade coordenada entre dois canais contíguos distribuiu-se equitativamente entre o sentido anterior (CUT CM ou CM CP) e posterior (CP CM ou CM CUT) nos grupos tratados ($P>0,05$), predominando o sentido posterior na fase folicular e de forma significativa relativamente aos grupos tratados (PMSG: $P<0,007$; PMSGZK: $P<0,05$). Esta predominância de sentido posterior foi idêntica nos grupos não tratados (Tabela 6).

Tabela 6. Sentido dos picos de EMG (2 canais)

Grupos	Sentido dos Picos em Dois Canais (série de 2)		
	Anterior % (n)	Posterior % (n)	Signif. (χ^2)
Fase Folicular	16,7 (4)	83,3 (20)	a
Fase Lútea	35,5 (11)	64,5 (20)	ab
PMSG	50 (22)	50 (22)	b
PMSGZK	49,3 (33)	50,7 (34)	b

Os picos de actividade não coordenados entre pontos de leitura contíguos (isolados), foram os que predominaram em todos os grupos relativamente às classes anteriores (Tabela 7). Nesta tabela, a distribuição dos picos isolados por canal de registo e por grupo mantém um padrão idêntico ao já descrito na Tabela 4, que engloba todos os picos observados, reforçando-se as diferenças significativas. Exceptua-se a fase folicular, onde existe uma inversão dos valores entre o CP e o CUT.

Tabela 7. Picos de EMG isolados

Grupos	Picos Isolados % (n)			
	CP	CM	CUT	Total
Fase Folicular	34,7 (25) ^{a1}	19,4 (14) ^{a2}	45,8 (33) ^{a1}	100 (72)
Fase Lútea	47,3 (52) ^{a1}	32,7 (36) ^{b2}	20,0 (22) ^{bc3}	100 (110)
PMSG	81,4 (250) ^{b1}	2,3 (7) ^{c2}	16,3 (50) ^{b3}	100 (307)
PMSGZK	70,6 (226) ^{c1}	1,3 (4) ^{c2}	28,1 (90) ^{c3}	100 (320)

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A PMSG induziu um aumento da actividade electromiográfica ao nível do tracto uterino, bem como alterações no sentido desta mesma actividade. A quantidade de picos de actividade electromiográfica, sofreu uma inversão relativamente à testemunha nos três locais de registo. O sentido da actividade electromiográfica coordenada entre dois canais contíguos alterou-se neste grupo, que mostra uma distribuição equitativa entre o sentido anterior e posterior, contrariamente à testemunha onde predomina a actividade com sentido posterior. Esta predominância de contracções com sentido posterior é descrita por vários autores durante a

fase final do estro (Hawk, 1973; Hawk e Echterkamp, 1973; Hawk, 1975; Ruckebusch e Bueno, 1976; Garcia-Villar et al., 1982) os quais afirmam a existência de elevada actividade uterina no período pré-estro, com contracções com sentido anterior numa fase inicial, e uma inversão de sentido após a ovulação. Desta forma, as alterações quer qualitativas, quer quantitativas associadas à PMSG neste trabalho, parecem justificar alterações na progressão espermiática e/ou embrionária, com a consequente redução das taxas de fertilização/colheita de embriões associadas aos regimes superovulatórios e referidas por vários autores (Whyman e Moore, 1980; Evans e Armstrong, 1984; Hawk et al.; 1987). De facto, uma redução do número de espermatozóides nos oviductos, útero e segmentos anteriores do cérvix em ovelhas superovuladas, às 24 (Evans e Armstrong, 1984) e às 3 e 23 horas após a inseminação (Hawk et al., 1987) tem sido referida. Especialmente significativa foi a redução do número de espermatozóides no terço anterior do cérvix 3 horas após a cobrição, uma vez que a permanência por um período de 2 a 3 horas no cérvix anterior é fundamental para a existência de elevadas taxas de fertilização. A referida redução de espermatozóides às 3 horas no cérvix anterior foi seguida de uma redução ao nível dos oviductos às 23 horas, momento próximo da ovulação (Hawk et al., 1987).

A administração de ZK98299 a animais superovulados contribui para sincronizar o estro e as ovulações ao anular o efeito negativo da progesterona (Cavaco Gonçalves e Horta, 1997; Cavaco Gonçalves et al., 1997), mas provoca uma completa inibição da progressão dos espermatozóides no tracto genital, impedindo a fertilização (Cavaco Gonçalves et al., 1997). Alterações ao nível do transporte dos gametas foram igualmente referidas por outros autores, com redução do número de oócitos/embriões colhidos após administração de RU486 e ZK98734 a ratinhas (Vinijsum e Martin, 1990; Yang e Wu, 1990, Juneja e Dobson, 1995), devido à entrada prematura dos embriões no útero e expulsão por via cervical. Este facto parece resultar da predominância de contracções longitudinais induzidas pelos estrogénios, o que não sucede na gestação normal na qual são predominantes as contracções circulares, que restringem o lumen uterino facilitando a retenção embrionária. No caso particular do RU486, além da referida expulsão de embriões por via cervical, foi observada uma retenção inicial ao nível dos oviductos (Yang e Wu, 1990). Neste trabalho, mediu-se pela primeira vez a actividade mioelétrica uterina em ovelhas superovuladas e tratadas com o antagonista da progesterona ZK98299. Na ovelha superovulada, o tratamento com ZK provocou um aumento significativo da actividade mioelétrica em todos os locais medidos quando comparado com a testemunha. Relativamente à PMSG, o ZK provoca um aumento da actividade mioelétrica uterina durante as primeiras 24 horas no corno proximal e médio. Às 48 horas não há diferenças em ambas as porções dos cornos, existindo um novo incremento da actividade no corno proximal às 72 horas. No corpo uterino, o ZK provoca uma diminuição da actividade mioelétrica uterina até às 24 horas e um aumento significativo entre as 48 e 72 horas. A quantidade de picos de actividade electromiográfica distribuída pelos três canais, sofre uma inversão relativamente à testemunha, diminuindo no corno proximal e aumentando no corpo uterino relativamente à PMSG. O sentido da actividade electromiográfica coordenada entre os três pontos medidos, mostra uma inversão relativamente ao grupo da PMSG (mais actividade com sentido posterior). Igual predomínio de contracções com sentido posterior foi observado por Arkaravichien e Kendle (1992) após a administração de RU486 a ratinhas grávidas antes da implantação. Na actividade coordenada entre dois locais contíguos, apresenta o mesmo padrão que a PMSG, mantendo-se a diferença em relação à testemunha. A redução da actividade mioelétrica no corpo uterino às 24 horas, momento de manifestação do estro e consequente cobrição (Cavaco Gonçalves et al., 1997), associada à predominância das contracções com sentido posterior poderá explicar a não progressão espermiática ao longo do tracto genital e consequentemente a ausência de fertilização anteriormente detectada. Por outro lado, a referida predominância de sentido posterior, associada ao aumento de actividade eléctrica ao nível dos cornos proximal e médio poderá induzir um mais rápido transporte dos oócitos, com consequente ausência de fertilização e mesmo expulsão por via vaginal.

Neste trabalho identificaram-se alterações importantes na qualidade e quantidade da actividade mioelétrica uterina em ovelhas, associadas a tratamentos com PMSG e um antagonista da progesterona, que permitem explicar a redução e ausência de taxas de fertilização encontradas em trabalhos anteriores.

BIBLIOGRAFIA

- Arkaravichien, W. e Kendle, K.E., 1992. Uterine contractile activity in rats induced by mifepristone (RU 486) in relation to changes in concentrations of prostaglandin E₂ and F_{2α}. *J. Reprod. Fert.*, 94: 115-120.
- Cavaco Gonçalves, S. e Horta, A.E.M., 1997. Efeito do bloqueio dos receptores da progesterona sobre o mecanismo da ovulação em ovelhas superovuladas. *I Congresso Ibérico de Reprodução Animal*, vol.II, comunicações livres, pp. 293-298.
- Cavaco Gonçalves, S., Marques, C.C., Stöckemann, K., Wang, W. e Horta, A.E.M., 1997. Influence of an antiprogesterin (onapristone) on in vivo and in vitro fertilization. *Anim. Reprod. Sci.*, 46: 55-67.
- Evans, G. e Armstrong, D.T., 1984. Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. *J. Reprod. Fert.*, 70: 47-53.
- García-Villar, R., Toutain, P.L., More, J. e Ruckebusch, Y., 1982. Spontaneous motility of the cervix in cyclic and ovariectomized ewes and changes induced by exogenous hormones. *J. Reprod. Fert.*, 66: 317-326.
- Hawk, H.W. 1973. Uterine motility and sperm transport in the estrous ewe after prostaglandin induced regression of corpora lutea. *J. Animal Sci.*, 37: 1380-1385.
- Hawk, H.W. 1975. Hormonal control of changes in the direction of uterine contractions in the estrous ewe. *Biology of Reproduction*, 12: 423-430.
- Hawk, H.W. e Echterkamp, S.E., 1973. Uterine contractions in the ewe during progestagen-regulated oestrus. *J. Reprod. Fert.*, 34: 347-349.
- Hawk, H.W., Cooper, B.S. e Conley, H.H., 1987. Inhibition of sperm transport and fertilization in superovulated ewes. *Theriogenology*, 28(2): 139-153.
- Juneja, S.C. e Dobson, M.G., 1995. Ova recovery, and in vivo and in vitro fertilization of ova from RU486-treated PMSG/hCG-primed mice. *Reprod. Fert. Dev.*, 1995, 7, 1243-1248.
- Ruckebusch, Y. e Bueno, L., 1976. An electromyographic study of uterotubal activity in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 47: 221-227
- Vinijsanum, A. e Martin, L., 1990. Effects of progesterone antagonist RU486 and ZK98734 on embryo transport, development and implantation in laboratory mice. *Reprod. Fert. Dev.*, 2: 713-727.
- Whyman, D. e Moore, R.W., 1980. Effects of PMSG and the prostaglandin F_{2α} analogue, cloprostenol, on superovulation, fertilization and egg transport in the ewe. *J. Reprod. Fert.*, 60: 262-272
- Yang, Y.Q. e Wu, J.T., 1990. RU486 interferes with egg transport and retards the in vivo and in vitro development of mouse embryos. *Contraception*, 41, 551-556.