

MECANISMOS DA LUTEÓLISE. REVISÃO DE LITERATURA

Eduardo Lucacin¹
Adalgiza Pinto Neto²

LUCACIN¹, E; PINTO-NETO², A. Mecanismos da luteólise. Revisão de literatura. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 12, n. 2, p. 187-190, jul./dez. 2009.

RESUMO: O principal papel do corpo lúteo é a produção de progesterona. Uma adequada função luteal é crucial para determinar a duração do ciclo estral ou a manutenção e sucesso de uma possível gestação. O crescimento do corpo lúteo só é comparado ao de tumores invasivos; e sua regressão se dá em poucos dias, por meio de um processo chamado luteólise, que é desencadeado pela secreção de prostaglandina F_{2alfa} (PGF_{2α}). O conhecimento dos fatores ligados ao processo de regulação do corpo lúteo é importante para a manipulação do ciclo estral, na tentativa de aumentar a eficiência reprodutiva dos animais domésticos. Conhecimentos em relação a esse processo podem mudar a metodologia de pesquisa e, principalmente, a aplicação prática de procedimentos, visando o controle do ciclo estral. Nesse contexto, este estudo tem como objetivo apresentar informações atuais sobre a luteólise, que envolvem hipóteses sobre o fluxo sanguíneo uterino e ovariano, além do processo de morte celular por apoptose.

PALAVRAS-CHAVE: Corpo lúteo. Luteólise. Apoptose.

MECHANISMS OF LUTEOLYSIS. ARTICLE REVIEW

ABSTRACT: The main role of the corpus luteum is the progesterone production and adequate luteal function is crucial to determine the duration of oestrous cycle or continuation and success of a possible pregnancy. The corpus luteum growth is compared to most invasive tumors and its regression occurs in a few days in the process called luteolysis, triggered by the secretion of prostaglandin F_{2alfa} (PGF_{2α}). The knowledge of factors associated with the process of corpus luteum regulating is important for the reproductive cycle manipulation in an attempt to increase the reproductive efficiency of livestock animals. New awareness regarding the process can change radically the methodology of research and the implementation practice of the procedures for oestrous cycle control. The aim of this review is to bring information about the new theories of luteolysis, which involve assumptions on the uterine and luteal blood flow and the process of cell death by apoptosis.

KEYWORDS: Corpus luteum. Luteolysis. Apoptosis.

MECANISMOS DE LUTEÓLISIS. REVISIÓN DE LITERATURA

RESUMEN: El principal papel del cuerpo lúteo es la producción de la progesterona. Una adecuada función lútea es fundamental para determinar la duración del ciclo estral o la manutención y el éxito de una posible preñez. El crecimiento del cuerpo lúteo solo se compara al de tumores invasores; y su regresión se produce en pocos días, por medio de un proceso llamado luteólisis, provocado por la secreción de prostaglandina F_{2alfa} (PGF_{2α}). El conocimiento de los factores asociados al proceso de regulación del cuerpo lúteo es importante para la manipulación del ciclo estral, con la intención de aumentar la eficiencia reproductiva de los animales domésticos. Conocimientos en relación a ese proceso pueden cambiar la metodología de la investigación y, principalmente, buscar el control del ciclo estral. En ese contexto, la revisión tuvo como objetivo presentar informaciones actuales sobre la luteólisis, que implican hipótesis sobre el flujo sanguíneo uterino y ovárico, además del proceso de muerte celular por apoptosis.

PALABRAS CLAVE: Cuerpo lúteo. Luteólisis. Apoptosis.

1. Introdução

O corpo lúteo (CL) é formado por um arranjo de pequenas e grandes células, provenientes de células da teca e da granulosa do folículo recém ovulado, células de tecido conjuntivo e numerosos capilares sanguíneos. Essa definição foi descrita primariamente por Regnier de Graaf (1641-1673), que notou que após o coito “corpos globulares” apareciam no ovário de coelhos e permaneciam até o parto. Graaf também observou que o número de corpos lúteos estava relacionado com o número de fetos. Prenant (1896) foi o primeiro a relatar que o CL age como uma glândula endócrina. Alguns

anos depois, no início do século XX, várias pesquisas comprovaram a existência de uma substância produzida pelo CL, posteriormente denominada progesterona, responsável pela manutenção da gestação (MAC CRACKEN; CUSTER; LAMSA, 1999; NISWENDER et al., 2000).

Em vacas o CL é responsável pela produção de ocitocina e progesterona e esta promove a manutenção da gestação até o 200º dia. Nas fêmeas que após o acasalamento não se tornaram gestantes, a regressão do CL (luteólise) assume um papel essencial no controle do ciclo estral e na manutenção da ciclicidade normal, permitindo o desenvolvimento de um novo folículo ovulatório e uma nova chance de concep-

¹Mestrando em Ciência Animal-UNIPAR

²Orientadora. Curso de Mestrado em Ciência Animal-UNIPAR

ção (SKARYNSKI; FERREIRA-DIAS; OKUDA, 2008).

MacCracken, Custer e Lamsa (1999) relataram que a luteólise ocorre em duas fases distintas, uma funcional, caracterizada pela diminuição da secreção de progesterona, seguida por outra estrutural, na qual as células do CL sofrem involução, originando assim uma estrutura chamada de corpo albicans, que pode perdurar por várias semanas no ovário.

Nos animais não gestantes a luteólise é causada pela prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), secretada pelo útero e liberada em pulsos de intervalo de seis a oito horas (SILVIA et al., 1991). A $PGF_{2\alpha}$ é um eicosanóide derivado do ácido araquidônico (AA), constituinte da camada de fosfolípidos da membrana celular, que é liberado pela ação da enzima fosfolipase-A. Após sua liberação, o AA sofre redução pelas enzimas do grupo das ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) formando um composto intermediário chamado PGG₂, que é pouco estável e logo sofre peroxidação pelas COX, sendo reduzido a PGH_2 , que é o substrato para diversos tipos de prostaglandinas (BINELLI et al., 2005; WATHES; ABAYASEKARA; AITKEN, 2007).

As prostaglandinas participam de diversas ações metabólicas e processos fisiológicos como vasodilatação e vasoconstrição, hiperalgesia, contração ou relaxamento da musculatura lisa, ovulação e luteólise, proteção da mucosa gástrica, além da regulação da atividade quimiotática e participação na resposta imunológica.

O envolvimento das prostaglandinas na luteólise e o conhecimento da cascata da síntese e liberação dessas substâncias favoreceram o aparecimento de diversas propostas para conter a luteólise, e aumentar a eficiência reprodutiva em rebanhos de ruminantes, tais como o uso de drogas inibidoras das COX e a utilização de ácidos graxos poliinsaturados na dieta (BINELLI et al., 2005; WATHES; ABAYASEKARA; AITKEN, 2007).

Contudo, apesar de muitas pesquisas, o complexo mecanismo de luteólise é ainda hoje objeto de pesquisa e tema recorrente em encontros relacionados à reprodução animal. A intrigante pergunta feita por Niswender et al. (2000): "Qual sinal inicia a liberação de $PGF_{2\alpha}$ desencadeando a luteólise?", ainda carece de respostas, e o mecanismo de regressão do CL se desdobra em conhecimentos que ora reforçam as pesquisas, ora as colocam em contradição.

Elucidar os mecanismos envolvidos na luteólise pode refletir em ações capazes de aumentar a eficiência reprodutiva dos rebanhos domésticos, visando suprir e incrementar a grande e atual necessidade de produção de alimentos, além de trazer novos conhecimentos relacionados à fisiologia da reprodução e aos processos homeostáticos do organismo. Dessa forma, objetiva-se com esse estudo agrupar dados referentes ao processo de luteólise, principalmente os relacionados com a regressão estrutural do CL, envolvendo processos de morte celular programada, ou apoptose, trazendo assim subsídios para formação crítica de novos delineamentos experimentais e formulação de hipóteses.

2. Desenvolvimento

O termo apoptose, derivado do grego, refere-se à queda das pétalas ou das folhas de uma árvore no outono, e foi utilizado pela primeira vez como terminação para a morte celular programada por Kerr, Wyllie e Currie (1972).

Define-se apoptose como a morte celular por um mecanismo autodestrutivo interno, que consiste numa sequência geneticamente programada de eventos bioquímicos que reduzirão a célula em pequenas vesículas, que posteriormente serão fagocitadas por macrófagos. Os principais fatores atuantes na apoptose são as caspases, uma família de cisteína-proteases presentes na célula de forma inativa (TIZARD, 2002).

As caspases não efetuam uma proteólise generalizada, porém clivam seletivamente um conjunto de proteínas alvo. Peluffo et al. (2006) investigaram a ação de várias caspases no processo de luteólise em ratos, e sugeriram que as caspases iniciadoras dois e três desempenham papel importante em eventos primários da luteólise. Goyeneche, Harmon e Telleria (2006) comprovaram a ativação das caspases três e nove, ativando a via intrínseca que também envolve substâncias pró-apoptóticas como o Bcl-2.

Existem duas vias de ativação da apoptose na célula, a via dos receptores de morte, que são receptores ocultos na membrana plasmática dos receptores do fator de necrose tumoral (TNF), e a via mitocondrial, ou intrínseca, que por sua vez pode ser ativada por lesão de DNA e ativação da proteína p53, ou pela retirada da ação dos fatores de sobrevivência celular (HENGARTHER, 2000; DONEPUDI; GRUTTER, 2002).

Juengel et al. (1993) relacionaram a ocorrência de apoptose na regressão luteal em vacas, analisando a luteólise induzida por aplicação de $PGF_{2\alpha}$, ou ocorrida naturalmente, e concluíram que a apoptose ocorre durante a luteólise espontânea ou induzida, porém a formação de oligonucleossomos não é aparente até que a concentração de progesterona decresça, sugerindo que o processo de morte celular programada está relacionado com a regressão estrutural do CL.

O papel da $PGF_{2\alpha}$ como o principal agente luteolítico em vacas é aceito universalmente, porém, com o avanço das pesquisas ligadas ao processo apoptótico alguns dados devem ser revistos. Ohtani et al. (1998) foram os primeiros a chamar a atenção para outros componentes presentes na luteólise e para o papel das prostaglandinas. Em estudo utilizando um sistema de microdiálise (MDS), implantado em CL até a fase média do ciclo estral, descreveram que a $PGF_{2\alpha}$ estimula a produção de progesterona e não a inibe, sugerindo que a $PGF_{2\alpha}$ pode ter a dupla função de acordo com o estágio de desenvolvimento do CL. Ainda neste estudo, os autores concluíram que a aplicação de $PGF_{2\alpha}$ aumenta rapidamente a concentração de endotelina-1 (ET-1), um peptídeo vasoconstritivo de 21 aminoácidos, derivado de células endoteliais vasculares, capaz de inibir a produção de progesterona tanto *in vivo* quanto *in vitro*, e que pode desempenhar um papel intermediário no processo de luteólise.

O CL bovino é composto aproximadamente de 30% de células luteais (grandes e pequenas) derivadas de células da teca e da granulosa, 50% de células endoteliais e células do sistema imune (MAC CRACKEN; CUSTER; LAMSA, 1999). O papel das células imunológicas no CL foi revisado por Pate e Keyes (2001), que demonstraram que a $PGF_{2\alpha}$ estimula a produção de progesterona, e inibe essa mesma produção na presença do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), uma proteína não glicosilada de 17kDA, produzida por macrófagos e monócitos e, em menor quantidade, por neutrófilos e células T CD4+ e NK. O TNF- α é um dos iniciantes do processo de apoptose nas células (TIZARD, 2002).

Wu et al. (2004) revisaram o papel dos macrófagos presentes no ovário e encontraram evidências da presença de mais de quinze substâncias produzidas por macrófagos que atuam no tecido ovariano, seja na foliculogênese, ovulação, desenvolvimento e regressão do CL. Entre as substâncias encontradas no CL pode-se destacar o TNF α , EGF, interleucinas 1, 6, 8 e 10, prostaglandinas, leucotrienos, óxido nítrico e o VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular) também conhecido como prokineticina (PROK). Kisliouk et al. (2003), pesquisaram o papel das PROKs no CL de primatas e humanos, relacionando sua importância no desenvolvimento da vascularização do CL. Esses autores concluíram que os fatores citados de desenvolvimento vasculares têm sua ação ativada pelo Hormônio Luteinizante (LH) ou pela Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), podendo desempenhar um papel significativo no controle da atividade ovariana. Essas informações também foram relatadas por Fraser et al. (2005), ao pesquisar exclusivamente a expressão das PROKs no CL de humanos.

Kisliouk et al. (2007) voltaram a pesquisar as PROKs e seus receptores durante o ciclo estral em bovinos e descreveram o envolvimento na regressão do corpo lúteo e na atresia folicular, o que os levaram a concluir que as PROKs têm diferentes funções de acordo com o tecido e a fase do ciclo estral. Battersby et al. (2004) também pesquisaram a ação das PROKs do tipo 1 e 2, no endométrio de humanos e descobriram receptores específicos (PKR1 e PKR2) no epitélio glandular, estroma, células endoteliais do endométrio e do miométrio. Esses autores relataram que a progesterona pode regular a expressão das PROKs, que possuem ação parácrina na função vascular endometrial. Estudos sobre a ação de substâncias que controlam a atividade vascular no CL e o útero, por serem extremamente vascularizados, são de suma importância para o esclarecimento dos processos relacionados a apoptose e luteólise.

Krzymowski e Stefańczyk-Krzymowska (2002) apresentaram uma nova teoria para a regulação do ciclo estral e luteólise, que se baseia em hipóteses nas quais a luteólise se dá como consequência da diminuição da atividade do endométrio, que é reduzida pelo decréscimo do suprimento sanguíneo para o útero, devido ao aumento no tamanho do útero na fase média do ciclo, em conjunto com ações de estrógenos, progesterona, prostaglandinas, LH, ocitocina, citocinas, neurotransmissores e fatores reguladores do fluxo sanguíneo local. Destaca-se nesse trabalho a descoberta que a liberação de PGF_{2 α} presente no fluxo venoso não caracteriza secreção pulsátil, esclarecendo, assim entendimentos prévios a este trabalho sobre a luteólise e o reconhecimento materno da gestação.

Krzymowski e Stefańczyk-Krzymowska (2008) complementam resultados anteriores, ao analisar o papel do endométrio na regulação do ciclo estral, resumindo essa ação em quatro pontos principais, são eles: (1) a transferência da PGF_{2 α} do útero para o ovário se dá principalmente por vasos linfáticos; (2) a PGF_{2 α} , em conjunto com o aumento nas concentrações de progesterona, causa vasoconstrição da artéria uterina na fase luteal, e a PGE₂ associada ao estrógeno na fase folicular e aos sinais embrionários no início da gestação, relaxam estas artérias, protegendo o CL de luteólise prematura; (3) entre os dias 10 a 12 do ciclo estral ocorre uma diminuição de 60 a 90% do fluxo sanguíneo para o útero causando

isquemia e hipóxia local; (4) o aumento nas concentrações de PGF_{2 α} no sangue venoso uterino não é resultado de um aumento da síntese de PGF_{2 α} , mas sim efeito da sua excreção, e de seus metabólitos, acumulados nas células uterinas. Essa hipótese compromete a ideia de que a secreção pulsátil de PGF_{2 α} é decorrente da secreção de ocitocina, tanto do eixo hipotalâmico-hipofisário, quanto luteal, gerando dúvidas sobre o verdadeiro papel da ocitocina na luteólise.

Ndiaye, Poole e Pate (2007) encontraram expressão de receptores de ocitocina em linfócitos T presentes no ovário, e descreveram que a resposta celular à ocitocina depende da exposição a diferentes esteróides, estando relacionada à abertura de canais de cálcio nestas células. A hipóxia também induz a morte de células luteais pelo aumento da atividade da caspase-3, ou seja, a produção de progesterona e ocitocina luteal também sofre efeito da diminuição do fluxo sanguíneo, e essa variação está relacionada tanto com a luteólise funcional, quanto a estrutural (NISHIMURA et al., 2007).

Niswender et al. (2007), relatam que a produção de PGF_{2 α} intra-luteal também é requerida para o complexo mecanismo de regressão luteal e que a ocitocina estimula a abertura dos canais de cálcio nas pequenas células luteais, e consequentemente a apoptose, em meio com concentrações decrescentes de progesterona. O aumento da secreção de PGF_{2 α} pelas grandes células luteais também ativa canais de cálcio, apresentando resultados semelhantes na apoptose destas células, levando a postular a auto-regulação do processo de luteólise pelo CL.

Skarynski, Ferreira-Dias e Okuda (2008) afirmaram que os mecanismos que controlam o desenvolvimento, a manutenção e a função secretora do CL podem envolver tanto fatores internos, quanto externos ao ovário, e alguns fatores são prostaglandinas e outros derivados do ácido araquidônico (PGF_{2 α} , PGE₂, LT), neuropeptídeos, hormônios peptídicos (OT, EDN-1), fatores de crescimento (VEGF, FGF, GH, PRL) e esteróides (P4 e E2), que atuam de maneira autócrina e/ou parácrina. Apesar da PGF_{2 α} ser conhecida como a principal substância luteolítica, sua ação no CL é mediada por outros fatores intraovarianos como citocinas, EDN-1, óxido nítrico e fator de necrose tumoral- α que, em combinação com a diminuição da secreção de progesterona, aumentam a produção de PGF_{2 α} intraluteal, induzindo a morte das células do CL por apoptose.

3. Considerações Finais

Conhecimentos relacionados ao complexo mecanismo de regressão do CL, bem como a geração de tecnologias oriundas de pesquisas básicas celulares e moleculares, tendem a elucidar todo processo envolvido na luteólise e, consequentemente, ao desenvolvimento de novas estratégias para aumentar a eficiência reprodutiva de animais domésticos.

De maneira geral, o entendimento simplista de que a PGF_{2 α} causa luteólise ao ser liberada pelo útero, atingindo o ovário por um mecanismo de contracorrente, dá espaço para a visão geral de que o CL está presente em um ovário funcional, com desenvolvimento folicular, capaz de influenciar e ser influenciado pelo útero, que pode ou não conter um embrião em desenvolvimento, que por sua vez está contido num organismo complexo, capaz de sofrer influências genéticas e do meio externo, e que responde a processos fisiológicos

de acordo com a capacidade ofertada de manutenção da homeostasia. Neste ambiente, de fronteira de conhecimento e entendimento, é que deverão ser desenvolvidas novas pesquisas, visando o amplo domínio de processos fisiológicos ligados a intrigante reprodução animal.

4. Referências

- BATTERSBY, S. et al. Expression and regulation of the Prokineticins (Endocrine Gland-Derived Vascular Endothelial Growth Factor and Bv8) and their receptors in the human endometrium across the menstrual cycle. **Jour. Clin. End. Metab.** v. 89, n. 5, p. 2463-2469, 2004.
- BINELLI, M. et al. Estratégias para inibir a luteólise e aumentar a fertilidade em bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16., 2005. **Anais...** Goiânia: CBRA, 2005.
- DONEPUDI, M.; GRUTTER, M. Structure and zymogen activation of caspases. **Biophysical Chemistry**, v. 101-102, p. 145-153, 2002.
- FRASER, H. M. et al. Localization and quantification of cyclic changes in the expression of endocrine gland vascular endothelial growth factor in the human corpus luteum. **Jour. Clin. End. Metab.** v. 90, n. 1, p. 427-434, 2005.
- GOYENECHÉ, A. A.; HARMON, J. M.; TELLERIA, C. M. Cell death induced by serum deprivation in luteal cells involves the intrinsic pathway of apoptosis. **Reproduction**, v.131, p. 103-111, 2006.
- HENGARTNER, M. Biochemistry of apoptosis. **Nature**, v. 407, p. 770-776, 2000.
- JUENGEL, J. L. et al. Apoptosis during luteal regression in cattle. **Endocrinology**, v.132, n.1, p. 249-254, 1993.
- KERR, J. F.; WYLLIE, A. H.; CURRIE, A. R. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **Brit. Jour. of Cancer**. v. 26, p. 239-257, 1972.
- KISLIOUK, T. et al. Presence and regulation of endocrine gland vascular endothelial growth factor / prokineticin-1 and its receptor in ovarian cells. **Jour. Clin. End. Metab.** v. 88, n. 8, p. 3700-3707, 2003.
- KISLIOUK, T. et al. Expression pattern of prokineticin 1 and its receptors in bovine ovaries during the estrous cycle: Involvement in corpus luteum regression and follicular atresia. **Biol. Reprod.** v. 76, p. 749-758, 2007.
- KRZYMOWSKI, T.; STEFAŃCZYK-KRZYMOWSKA, S. Uterine blood supply as a main factor involved in the regulation of the estrous cycle--a new theory. **Reprod. Biol.** v. 2, n. 2, p. 93-114, 2002.
- _____. The role of the endometrium in endocrine regulation of the animal oestrous cycle. **Reprod. Domest. Anim.** v. 43, n. 1, p. 80-91, 2008.
- MAcCRAKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C. Luteolysis: A neuroendocrine-mediated event. **Physiol Rev.** v. 79, n. 2, p. 263-324, 1999.
- NDIAYE, K.; POOLE, D. H.; PATE, J. L. Expression and regulation of functional oxytocin receptors in bovine T lymphocytes. **Biol Reprod.** v. 78, p. 786-793, 2007.
- NISHIMURA, R. et al. Hypoxia promotes luteal cell death in bovine corpus luteum. **Biol. Reprod.** v. 78, p. 529-536, 2007.
- NISWENDER, G. D. et al. Mechanisms controlling the function and the life span of the corpus luteum. **Physiol. Rev.** v. 80, n. 1, p. 1-29, 2000.
- _____. Judge, jury and executioner: The auto-regulation of luteal function. **Soc. Reprod. Fertil. Suppl.** v. 64, p. 191-206, 2007.
- OHTANI, M. et al. Real-time relationships between intraluteal and plasma concentrations of endothelin, oxytocin and progesterone during prostaglandin F_{2α} induced luteolysis in the cow. **Biol. Reprod.** v. 58, p. 103-108, 1998.
- PATE, J. L.; KEYES, P. L. Immune cells in the corpus luteum: friends or foes? **Reproduction**, v. 122, p. 665-676, 2001.
- PELUFFO, M. C. et al. Expression of caspase-2, -3, -8 and -9 proteins and enzyme activity in the corpus luteum of the rat at different stages during the natural estrous cycle. **Reproduction**, v.131, p. 103-111, 2006.
- SILVIA, W. J. et al. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F₂ alpha during luteolysis in ruminants. **Biol. Reprod.** v. 45, p. 655-663, 1991.
- SKARZYŃSKI, D. J.; FERREIRA-DIAS, G.; OKUDA, K. Regulation of luteal function and corpus luteum regression in cows: Hormonal control, immune mechanisms and inter-cellular communication. **Reprod. Dom. Anim.** v. 43, n. 2, p. 57-65, 2008.
- TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução.** São Paulo: Roca, 2002.
- WHATES, D. C.; ABAYASEKARA, D. R. E.; AITKEN, R. J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biol. Reprod.** v. 77, p.190-201, 2007.
- WU, R. et al. Macrophage contributions to ovarian function. **Human. Rep. Upd.** v. 10, n. 2, p.119-133, 2004.

Recebido em: 27/11/2008

Aceito em: 06/11/2009