

AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO PARENTERAL DE FLUNIXINA MEGLUMINA SOBRE A OVULAÇÃO INDUZIDA POR GNRH EM BOVINOS

LUCAS REICHERT MAUBRIGADES¹; FABIANE PEREIRA DE MORAES²;
CAMILA AMARAL D'AVILA³, LÍGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO⁴;
BERNARDO GARZIERA GASPERIN⁵; RAFAEL GIANELLA MONDADORI⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – lucasmaubrigades@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fabypmoraes@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – camila.amaral.davila@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – ligia.pegoraro@embrapa.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – bbgasperin@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rgmondadori@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Biotécnicas reprodutivas têm sido cada vez mais aplicadas em bovinos, impulsionando o processo de melhoramento genético do rebanho mundial. Nesse contexto, pesquisas acerca do processo ovulatório e sobre alternativas para induzir a ovulação síncrona são de grande interesse para a ampla utilização dessas biotécnicas, contribuindo para melhorar o desempenho reprodutivo dos animais e otimizar o manejo nas propriedades (ALMEIDA et al., 2016).

As prostaglandinas desempenham várias funções na fisiologia reprodutiva e são essenciais para a luteólise e ovulação. As principais prostaglandinas envolvidas na ovulação são a prostaglandina E2 (PGE) e a prostaglandina F2 alfa (PGF), porém, pouco se sabe sobre a função individual de cada uma delas nesse processo e nas diferentes espécies (DUFFY et al., 2019). Em estudos anteriores, foi demonstrado que a administração de PGF de forma isolada não induz a ovulação em bovinos (PEREIRA DE MORAES et al., 2021), enquanto que em vacas superovuladas, observou-se que a PGE parece ser mais relevante para ovulação e formação do corpo lúteo (CL) (BERISHA et al., 2019), tornando importante a investigação da interação entre essas duas moléculas e suas funções separadamente no processo ovulatório.

Sabe-se que a síntese de prostaglandinas pode ser inibida por anti-inflamatórios não esteroidais, sendo que os mesmos podem inibir a ovulação em diferentes espécies (MURDOCH E DUNN, 1983; DE SILVA E REEVES, 1985; FONSECA et al., 2017). Nesse sentido, a validação de um modelo para o estudo das prostaglandinas envolvidas no processo ovulatório *in vivo* é de grande importância para uma melhor compreensão da cascata ovulatória em bovinos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de uma ou duas administrações, por via intramuscular, do AINE flunixinina meglumina (FM) sobre a ovulação induzida pelo hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e posterior função luteal em vacas.

2. METODOLOGIA

Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFPEl (0288-2015).

2.1 Experimento 1

Foram utilizadas fêmeas bovinas da raça Jersey (n=19), cíclicas, não gestantes, não lactantes e com escore de condição corporal (ECC) entre 2,5 e 4,0

(escala de 1-5). O protocolo hormonal utilizado baseou-se na introdução de um dispositivo intravaginal (DIV) contendo 1 g de P4 (Primer®, Agener União), que foi mantido durante nove dias, juntamente com a aplicação por via intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) (RIC-BE®, Agener União) no dia 0 (D0). Decorridas 24 h da inserção do DIV, foi administrado 10,5 µg de acetato de buserelina, IM, (Gonaxal®, Biogénesis Bagó). No dia 7 (D7), foi realizada a aplicação IM de 500 µg de PGF (Cloprostenol sódico, Estron®, Agener União), com o objetivo de promover a luteólise. A partir deste dia, os folículos foram acompanhados diariamente por meio de ultrassonografia transretal (SonoScape A5V, com sonda de 7,5 MHz), para identificação dos folículos dominantes em crescimento. No dia 9 (D9), os DIVs foram removidos e foi aplicada uma segunda dose de 500 µg de PGF (Cloprostenol sódico, Estron®, Agener União). Após 20 h da remoção dos DIVs, todos os animais que apresentavam folículos com diâmetro ≥ 11 mm receberam uma injeção IM de 10,5 µg de acetato de buserelina (Sincroforte®, Ourofino Saúde Animal). A partir deste momento, os animais foram alocados, de acordo com o diâmetro folicular, que foi equilibrado entre dois grupos: Controle (n=10) e AINE FM (n=9). Após 17 h da aplicação do hormônio sintético análogo ao GnRH, o grupo AINE FM recebeu por via IM 2,2 mg/kg de FM (Flumedin®, Jofadel) e os folículos pré-ovulatórios foram avaliados diariamente por ultrassonografia até 42 h após a aplicação de GnRH.

Cinco dias após a aplicação de GnRH (D15), foi realizada uma nova avaliação dos animais por ultrassonografia transretal, com o objetivo de verificar a presença de um CL no ovário onde estava presente o folículo pré-ovulatório. Os animais que ovularam até 42 h após o GnRH e apresentaram CL foram submetidos à coleta de sangue a partir dos vasos coccígeos, por sistema a vácuo, em tubos com acelerador de coágulo. O sangue foi centrifugado e o soro armazenado e encaminhado a um laboratório comercial para dosagem de progesterona através de quimiluminescência (ADVIA Centaur; Siemens; Ref. 01586287).

2.2 Experimento 2

Foram utilizadas fêmeas bovinas (n=13), das raças Jersey e Holandês, cíclicas, não gestantes e não lactantes, com escore de condição corporal entre 2,5 e 4 (escala de 1-5). Os animais foram submetidos a um protocolo hormonal e avaliações por ultrassonografia, conforme descrito no Experimento 1.

Após 24 horas da remoção dos DIVs, todos os animais que apresentavam folículos com diâmetro ≥ 11 mm receberam uma administração IM de 10,5 µg de acetato de buserelina (Sincroforte®, Ourofino Saúde Animal). A partir deste momento, os animais foram distribuídos, de acordo com o diâmetro folicular, em dois grupos: Controle (n= 5), sem nenhum tratamento adicional e AINE FM (n=5), que recebeu injeção IM de 1,1 mg/kg de FM (Flumedin®, Jofadel) 16 horas após o análogo sintético do GnRH e uma segunda injeção de FM (1,1 mg/kg, IM) 26 horas após o GnRH. Os folículos pré-ovulatórios foram monitorados por ultrassonografia transretal a cada 12 horas para avaliação da ovulação, e nos dias cinco e sete após a administração de GnRH, foi realizada ultrassonografia transretal para verificar a presença de CL no ovário onde estava presente o folículo pré-ovulatório.

2.3 Análise estatística

As concentrações séricas de progesterona (Experimento 1) foram testadas quanto à normalidade e normalizadas quando necessário. As comparações entre

os grupos foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey. A taxa de ovulação foi comparada entre os grupos por meio do teste do qui-quadrado. Os resultados foram considerados significativos quando $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, em relação ao momento da ovulação, todos os animais do grupo controle ($n=10$) ovularam até 42 h após a administração do hormônio sintético análogo ao GnRH (100%); enquanto que, no grupo AINE FM ($n=9$), seis animais ovularam até 42 h após o GnRH (66,7%). Duas vacas do grupo AINE FM ovularam posteriormente, entre 42 e 114h após o GnRH, enquanto uma vaca desenvolveu uma estrutura cística. Não houve diferença nas concentrações séricas de progesterona entre os grupos ($1,9\pm 0,1$ e $1,9\pm 0,1$ ng/mL para controle e FM AINE, respectivamente; $P>0,05$).

Já no experimento 2, que avaliou a aplicação de duas doses de AINE FM, observou-se que todos os animais do grupo controle (5/5) e 80% dos animais do grupo AINE FM (4/5) ovularam até 42h após a aplicação do GnRH. Um dos animais (1/5) do grupo AINE desenvolveu uma estrutura cística que permaneceu no ovário até o sétimo dia após a aplicação do GnRH.

Em relação as concentrações séricas de progesterona, um estudo realizado por CUERVO-ARANGO; DOMINGO-ORTIZ (2011), em éguas, mostrou que os animais que receberam somente FM, em dose única (24 ou 30 h após hCG), não apresentaram bloqueio na ovulação ou na síntese de progesterona subsequente em comparação ao grupo controle, semelhantemente aos resultados do presente trabalho. Além disso, Donnely et al. (2019) constataram que o uso de FM (1.1 mg/kg por via intravenosa (IV)) em éguas, uma vez ao dia, durante dois dias consecutivos, também não apresentou efeito sobre a função luteal pós-ovulatória e não atrasou ou bloqueou a ovulação.

Em relação ao efeito do AINE FM sobre o processo ovulatório, o estudo conduzido por CUERVO-ARANGO; DOMINGO-ORTIZ (2011), demonstrou o bloqueio da ovulação em 83% das éguas tratadas com o AINE FM (2 mg/kg, IV) duas vezes ao dia, desde que apresentaram um folículo pré-ovulatório até o momento da ovulação ou início da hemorragia folicular, diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo com uma ou duas aplicações de FM IM, em dose terapêutica (1.1- 2.2 mg/Kg no intervalo de 12-24 h) conforme VIANA (2014). Outro estudo, demonstrou que a administração de FM (dose de 338 μ M) 16 horas após a aplicação de GnRH, diretamente pela via intrafolicular (IF), foi capaz de bloquear a ovulação quando testado em bovinos (VERNUNFT et al., 2022). Nesse sentido, a partir dos resultados obtidos e encontrados na literatura, pode-se sugerir que, para estabelecermos um modelo de inibição da ovulação com AINE FM por via sistêmica, podem ser necessárias doses mais elevadas, uma maior frequência de aplicações, alteração na via de administração ou até mesmo ajuste no momento das administrações (AIUMLAMAI et al., 1990, DONNELLY et al., 2019).

4. CONCLUSÕES

Por fim, pode-se concluir que a administração por via parenteral, de uma ou duas aplicações do AINE FM, em dose terapêutica, não bloqueou a ovulação em fêmeas bovinas e não afetou a função luteal, quando utilizado em dose única, demonstrando não ser um bom modelo para o estudo das prostaglandinas no

processo ovulatório. No entanto, possíveis efeitos deletérios sobre o desempenho reprodutivo não podem ser descartados, o que não foi avaliado no presente estudo. Nesse contexto, novas pesquisas devem ser conduzidas utilizando este AINE por diferentes vias, bem como avaliar os níveis de PGF e PGE no folículo pré-ovulatório após a aplicação do AINE.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIUMLAMAI, S. et al. Regulation of prostaglandin biosynthesis with flunixin meglumine in the bovine species. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe A**, v.37, n.1, p.16-22, 1990.

ALMEIDA, I.C. et al. Protocolo de pré-sincronização hormonal em vacas mestiças no período pós-parto. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v.38, n.4, p. 353-357, 2016.

BERISHA, B. et al. Prostaglandins in Superovulation Induced Bovine Follicles During the Preovulatory Period and Early Corpus Luteum. **Frontiers in Endocrinology** (Lausanne), 2019.

CUERVO-ARANGO, J.; DOMINGO-ORTIZ, R. Systemic treatment with high dose of flunixin-meglumine is able to block ovulation in mares by inducing hemorrhage and luteinisation of follicles. **Theriogenology**, v.75, n.4, p.707-714, 2011.

DE SILVA, M.; REEVES, J.J. Indomethacin inhibition of ovulation in the cow. **Reproduction**, v.75, n.2, p.547-549, 1985.

DONNELLY, C.G. et al. Effects of flunixin meglumine on postponement of ovulation in mares. **American Journal of Veterinary Research**, v.80, n.3, p.306-310, 2019.

FONSECA, J.F. et al. Reproductive features and use of an anti-inflammatory drug in estrus-induced dairy goats artificially inseminated in a standing position with cervix immobilization. **Reproductive Biology**, v.17, n.3, p. 268-273, 2017.

MURDOCH, W.J.; DUNN, T.G. Luteal function after ovulation blockade by intrafollicular injection of indomethacin in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, Inglaterra, v.69, n.2, p.671-675, 1983.

PEREIRA DE MORAES, F. et al. Prostaglandin F2 α regulation and function during ovulation and luteinization in cows. **Theriogenology**, v.171, p.30-37, 2021.

VERNUNFT, A. Effects of different cyclooxygenase inhibitors on prostaglandin E₂ production, steroidogenesis and ovulation of bovine preovulatory follicles. **The Journal of Reproduction and Development**. v.68, n.4, p.246-253, 2022.

VIANA, F.A.B. **Guia Terapêutico Veterinário**. 3ª ed. Belo Horizonte: Editora CEM, 2014. 560 p.