

A injeção intrafolicular de PGE e PGF em fêmeas bovinas afeta a ovulação e função lútea?

JÉSSICA LAZZARI¹; GABRIEL MAGGI²; FABIANE PEREIRA DE MORAES³;
THOMAZ LÚCIA JÚNIOR⁴; BERNARDO GARZIERA GASPERIN⁵;
RAFAEL GIANELLA MONDADORI⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – jelazzari@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - gabrielmaggi98@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - fabypmoraes@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - tluciajr@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – bggasperin@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rgmondadori@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura brasileira contabilizou em 2022, 23,9 bi de litros de leite e abate de 56,4 mi de cabeças, conferindo ao país, a nível mundial, a posição de sexto maior produtor de leite e maior produtor e exportador de carne (IBGE, 2023). Dessa forma, para atender a demanda, é necessário a implementação de biotécnicas reprodutivas, que maximizem o desempenho reprodutivo e uma importante ferramenta para esse fim é a manipulação do ciclo estral. Geralmente ao final dos protocolos hormonais de sincronização do estro são utilizados indutores de ovulação, representados principalmente pelos ésteres de estradiol e análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) (BÓ et al., 2016). Ainda assim, a sincronia entre o momento da ovulação e a inseminação artificial é um gargalo a ser estudado e por isso, tem-se buscado novas estratégias ligadas aos indutores de ovulação.

A literatura indica que as prostaglandinas E (PGE) e F (PGF) estão envolvidas no processo ovulatório. Em resposta ao pico do hormônio luteinizante (LH), há aumento da expressão da enzima responsável pela síntese, que culmina no aumento desses mediadores parácrinos, que participam da maturação oocitária, ruptura folicular e formação do corpo lúteo (CL), para posterior síntese de progesterona (P4) (DUFFY et al., 2019). Após a aplicação de GnRH, o pico de LH ocorre em 2h e a ovulação ocorre após 30h; enquanto altas concentrações de PGE, principalmente, e PGF no fluído folicular de bovinos foram encontradas 24-25h após a aplicação de GnRH (BERISHA et al., 2019; MARTÍNEZ-BOVÍ; CUERVO-ARANGO, 2016). Baseado nessas premissas, o estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar os efeitos da injeção intrafolicular (IIF) de PGE e PGE/PGF na ovulação e função luteal. O resumo aborda o primeiro de uma sequência de experimentos de doutorado.

2. METODOLOGIA

Os procedimentos experimentais foram autorizados pela CEUA UFPel (14/2019/CEEA/REITORIA). O estudo foi conduzido no Centro Agropecuário da Palma da Universidade Federal de Pelotas (Capão do Leão/RS), onde iniciou-se o protocolo de sincronização do estro em 31 vacas das raças Jersey e Holandês, cíclicas e não lactantes. No D0, em fase aleatória do ciclo estral, todos os animais receberam um dispositivo intravaginal (DIV) de 1g de P4, 2 mg de benzoato de estradiol, 0,52 mg cloprostenol sódico e 25 µg de lecirelina im. No D7, receberam

0,52 mg cloprostenol sódico e no D9, removeu-se o DIV e marcou-se a região sacro-caudal com tinta específica para detecção de estro.

Do D6 ao D9, avaliou-se a dinâmica folicular por ultrassonografia a fim de selecionar apenas animais responsivos ao tratamento, ou seja, com um folículo dominante em crescimento. Assim, no D9, equalizados pelo diâmetro do folículo dominante, 25 animais foram divididos em três grupos: Controle, que recebeu a IIF de solução salina tamponada (PBS) com 0,2% de etanol; PGE, que recebeu IIF de 500ng/mL de PGE e; PGE+PGF, que recebeu IIF de 500ng/mL de PGE e 100ng/mL de PGF. As IIF foram realizadas no D9,5, 12h após a remoção do DIV. Imediatamente antes da injeção, fez-se a medição do folículo pré-ovulatório, para determinação do volume folicular (FERREIRA et al., 2007) e as IIF foram realizadas em folículos maiores que 10mm e em animais que ainda não haviam manifestado estro (DE MORAES et al., 2021).

O monitoramento da ovulação foi realizado a cada 12h por ultrassonografia transretal até completar 84h após IIF. A função luteal foi avaliada pela mensuração dos níveis de P4 no soro, 7 e 14 dias após a IIF, por quimiluminescência em laboratório comercial. Considerando os critérios anteriormente citados, ao final do experimento, o grupo Controle ficou composto por 4 fêmeas, o PGE por 6 fêmeas e o PGE+PGF 4 fêmeas. O diâmetro folicular e concentração de P4 foram submetidos a análise por ANOVA, seguido de Teste de Tukey, sendo considerado significativo $p < 0,05$ e tendência $p < 0,1$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diâmetro folicular não diferiu entre os grupos ($p=0,99$), mas entre o dia ($p=0,0001$), havendo também interação Grupo*Dia ($p=0,0098$) no D9 e D9,5, no momento da formação dos grupos e no momento da IIF, respectivamente (D9, Controle: $9,78 \pm 0,36$; PGE: $10,90 \pm 0,29$ e PGE+PGF: $10,91 \pm 0,36$ mm e D9,5, Controle: $13,66 \pm 0,36$; PGE: $12,43 \pm 0,29$ e PGE+PGF: $12,48 \pm 0,36$ mm). Os resultados indicam que, no momento da IIF, as condições ovarianas eram semelhantes entre os grupos. Além, disso, a diferença entre os dias era esperada, uma vez que os folículos estão em crescimento (SINGH; PIERSON; ADAMS, 1998).

O momento da ovulação não diferiu entre os grupos, sendo que as ovulações no grupo controle e PGE+PGF ocorreram até 78h pós IIF e no grupo PGE ocorreram em até 66h. Enquanto a concentração de P4, 7 e 14 dias após a IIF, tendeu a ser superior no grupo PGE ($p=0,09$), com diferença em relação ao dia ($p=0,0001$) e sem interação ($p=0,47$) (após 7 dias, Controle: $2,34 \pm 0,8$; PGE: $4,29 \pm 0,65$ e PGE+PGF: $2,23 \pm 0,8$ ng/mL e após 14 dias, Controle: $7,67 \pm 0,8$; PGE: $12,21 \pm 0,65$ e PGE+PGF: $8,67 \pm 0,8$ ng/mL).

Aparentemente as prostaglandinas têm um papel central no processo ovulatório, uma vez que a IIF de anti-inflamatório não-esteroidal (AINE) inibe a ovulação, devido a ação sobre a ciclooxygenase-2 (CUERVO-ARANGO; DOMINGO-ORTIZ, 2011; VERNUNFT et al., 2022). Dentre as prostaglandinas, a PGE parece ser a mais importante, uma vez que a reversão da ação do AINE só obteve sucesso com a PGE+PGF (MARTÍNEZ-BOVÍ; CUERVO-ARANGO, 2016), enquanto a PGF isoladamente não foi suficiente (CUERVO-ARANGO, 2012).

Em éguas foi demonstrado que a IIF de PGE+PGF antecipou a ovulação (AGUILAR et al., 2018), enquanto em bovinos, a IIF isolada de PGF, não antecipou (DE MORAES et al., 2021). Esses achados suportaram a adição do grupo PGE+PGF no presente estudo. Por outro lado, em fêmeas suínas, a aplicação intramuscular de análogo de PGF, antecipou a ovulação e atribuíram a maior

concentração de P4 à luteinização precoce (SRIKANDAKUMAR; DOWNEY', 1989). No presente estudo, o grupo PGE apresentou tendência a maior produção de P4, sem antecipar a ovulação. Ao contrário da PGF, cujo efeito é luteolítico, a PGE estimula o aumento da produção de P4 (KIM et al., 2001). Modelos que utilizaram AINE demonstram resultados contraditórios: por um lado, o tratamento com AINE reduziu a produção de P4 (WATSON; SERTICH, 1991); por outro lado, a produção de P4 foi inalterada mesmo com a inibição da PGE, 7 dias após a ovulação (PETERS; PURSLEY; SMITH, 2004).

Após o pico de LH, o estradiol produzido pelo folículo pré-ovulatório é convertido em P4 que desencadeia a conversão da PGE em PGF (MURDOCH; FARRIS, 1988). No presente estudo, a indução do pico de prostaglandinas ocorreu em momento fora deste ambiente, uma vez que os tratamentos foram feitos 12h após a remoção do DIV. Nesse momento, os níveis de P4 estão em níveis basais e o eixo-hipotálamo-hipófise-gonadal desbloqueado (IRELAND; ROCHE, 1982).

Por fim, há uma correlação positiva entre concentração de P4 e o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios (PFEIFER et al., 2009). Além disso, maiores taxas de prenhez estão associadas com maiores concentrações de P4 (REMSEN; ROUSSEL; KARIHALOO, 1982). Assim, mesmo que iniciais, os resultados indicam potenciais aplicações da PGE à protocolos de sincronização do estro.

4. CONCLUSÃO

Os resultados preliminares indicam que o papel da prostaglandina E deve continuar sendo estudado no processo peri ovulatório, a fim de melhor elucidar sua ação na cascata ovulatória. Na sequência dos experimentos de doutorado, avaliar-se-á o efeito associado ao anti-inflamatório.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, J. et al. Intrafollicular Injection of Prostaglandins in the Preovulatory Follicle of the Mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 66, p. 183, 2018.

BERISHA, B. et al. Prostaglandins in superovulation induced bovine follicles during the preovulatory period and early corpus luteum. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, p. 467, 2019.

BÓ, G. A. et al. Alternative programs for synchronizing and resynchronizing ovulation in beef cattle. **Theriogenology**, v. 86, n. 1, p. 388–396, 2016.

CUERVO-ARANGO, J. The effect of systemic administration of cloprostenol on ovulation in mares treated with a prostaglandin synthetase inhibitor. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 1, p. 32–38, fev. 2012.

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, 1 mar. 2011.

DE MORAES, F. P. et al. Prostaglandin F_{2α} regulation and function during ovulation and luteinization in cows. **Theriogenology**, v. 171, p. 30–37, 2021.

DUFFY, D. M. et al. Ovulation: parallels with inflammatory processes. **Endocrine reviews**, v. 40, n. 2, p. 369–416, 2019.

FERREIRA, R. et al. The role of angiotensin II in the early stages of bovine ovulation. **Reproduction**, v. 134, n. 5, p. 713–719, 2007.

IBGE. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.

IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. **Reproduction**, v. 64, n. 2, p. 295–302, 1982.

KIM, L. et al. Effects of indomethacin, luteinizing hormone (LH), prostaglandin E₂ (PGE₂), trilostane, mifepristone, ethamoxytriphetol (MER-25) on secretion of prostaglandin E (PGE), prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) and progesterone by ovine corpora lutea of pregnancy or the estrous cycle. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 63, n. 4, p. 189–203, 2001.

MARTÍNEZ-BOVÍ, R.; CUERVO-ARANGO, J. Intrafollicular treatment with prostaglandins PGE₂ and PGF_{2α} inhibits the formation of luteinised unruptured follicles and restores normal ovulation in mares treated with flunixin-meglumine. **Equine veterinary journal**, v. 48, n. 2, p. 211–217, 2016.

MARTÍNEZ-BOVÍ, R.; CUERVO-ARANGO, J. Intrafollicular treatment with prostaglandins PGE₂ and PGF_{2α} inhibits the formation of luteinised unruptured follicles and restores normal ovulation in mares treated with flunixin-meglumine. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, n. 2, p. 211–217, 1 mar. 2016.

MURDOCH, W. J.; FARRIS, M. L. PROSTAGLANDIN E₂ KETOREDUCTASE ACTIVITY OF PREOVULATORY OVINE FOLLICLES 1. **Journal Animal Science**, v. 66, p. 2924–2929, 1988.

PETERS, M. W.; PURSLEY, J. R.; SMITH, G. W. Inhibition of intrafollicular PGE₂ synthesis and ovulation following ultrasound-mediated intrafollicular injection of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor NS-398 in cattle 1. **J. Anim. Sci**, v. 82, p. 1656–1662, 2004.

PFEIFER, L. F. M. et al. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, v. 72, n. 9, p. 1237–1250, 2009.

REMSEN, L. G.; ROUSSEL, J. D.; KARIHALOO, A. K. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. **Theriogenology**, v. 18, n. 3, p. 365–372, 1982.

SINGH, J.; PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P. Ultrasound image attributes of bovine ovarian follicles and endocrine and functional correlates. **Reproduction**, v. 112, n. 1, p. 19–29, 1998.

SRIKANDAKUMAR, A.; DOWNEY, B. R. INDUCTION OF OVLATION IN GILTS WITH CLOPROSTENOL. **Theriogenology**, v. 32, n. 3, 1989.

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

WATSON, E. D.; SERTICH, P. L. Concentrations of arachidonate metabolites, steroids and histamine in preovulatory horse follicles after administration of human chorionic gonadotrophin and the effect of intrafollicular injection of indomethacin. **Journal of Endocrinology**, v. 129, p. 131–139, 1991.