

DEXAMETASONA DE LONGA AÇÃO NA EXPRESSÃO GÊNICA ENDOMETRIAL E NA TAXA DE PRENHEZ EM BOVINOS

IARA BETTIN FOSTER¹; SÉRGIO FARIAS VARGAS JUNIOR²; FABIANE PEREIRA DE MORAES³; ÍSIS SOARES DA CUNHA⁴; NATÁLIA ÁVILA DE CASTRO⁵; RAFAEL GIANELLA MONDADORI⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – iarabettin@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – sergiofvjunior@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fabypmoraes@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – isissoaresdacunha04@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nataliaaviladecastro@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rgmondadori@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Nos ruminantes, o reconhecimento materno da gestação ocorre através da liberação de Interferon TAU (IFN- τ) produzido pelas células trofoblásticas do embrião entre o 12º e 26º dia de gestação (SÁNCHEZ, et al. 2019). Sua liberação está diretamente relacionada com o alongamento do concepto e é responsável por suprimir os pulsos de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$), impedindo a luteólise, e mantendo os níveis necessários de progesterona (P4) para a manutenção da gestação. Não havendo sinalização por parte do embrião, o endométrio produz PGF $_{2\alpha}$, desencadeando a luteólise a partir do 17º dia do ciclo estral (SPENCER, et al. 2017).

A síntese de prostaglandinas é regulada pela expressão das enzimas ciclooxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), responsáveis pela metabolização do ácido araquidônico - liberado pela membrana plasmática das células através da ação da fosfolipase A2 citosólica (cPLA2) – em prostaglandina H₂, que será convertida em tromboxanos, PGD₂, PGE₂, PGI₂ e PGF $_{2\alpha}$ (RICCIOTTI & FITZGERALD, 2011). A PGF $_{2\alpha}$ sintase (PGFS ou AKR1C3) catalisa PGD₂ e PGH₂ em PGF $_{2\alpha}$ (KIKUKO, et al. 1975). O principal metabólito da PGF $_{2\alpha}$ é a 13,14-dihidro-15-ceto-PGF $_{2\alpha}$ (PGFM), comumente utilizada como indicador de sua liberação na circulação (KINDAHL, et al., 1976).

O momento da luteólise pode ser manipulado por meio da administração de glicocorticóides (GCs), que inibem a produção de PGF $_{2\alpha}$. Esse efeito já foi demonstrado por LEE et al. (2007), que observaram em um estudo *in vitro* com células endometriais de vacas não prenhas expostas ao cortisol, uma redução na síntese de PGF $_{2\alpha}$ mediada pelos GCs. Estes bloqueiam as vias inflamatórias através de diferentes mecanismos, sendo o principal deles a repressão da transcrição de COX-2 (RHEN & CIDLOWSKI, 2005). Porém, há limitantes na utilização dessas moléculas, como aplicações consecutivas num curto intervalo de tempo e possíveis impactos metabólicos, como alterações no perfil da resposta imune (TORRES, et al., 2012), leucocitose por neutrofilia, levando a uma diminuição no número de linfócitos circulantes (LEMAL, et al., 2023), desequilíbrio metabólico pelo aumento da permeabilidade intestinal (NAKAGAWA, et al., 1999) e hiperglicemia e resistência à insulina (KUO, et al., 2015).

Em estudo previamente realizado por nosso grupo (dados não publicados), foi avaliado o efeito de uma aplicação de dexametasona de longa ação sobre a manutenção do corpo lúteo (CL), metabolismo da glicose e leucograma e verificamos que a aplicação no dia 12 após a ovulação aumentou significativamente a probabilidade de sobrevivência do CL, enquanto as alterações hematológicas e

bioquímicas foram leves e transitórias, não afetando clinicamente os animais, o que indica segurança no uso do fármaco.

A expressão gênica endometrial bovina é fortemente influenciada pela fase do ciclo estral, havendo incremento na transcrição de genes de enzimas e proteínas responsáveis por transporte celular no diestro (BAUERSACHS, et al., 2025). Ao realizarem um experimento *in vitro*, DUONG, et al. (2019) observaram que, sob influência de cortisol, o epitélio endometrial apresentou aumento na expressão de mRNA para o Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF), Fator de Crescimento do Tecido Conjuntivo (CTGF) e as vias de sinalização celular WTK/β-catenina e PI3K/AKT, importantes para o reparo endometrial e proliferação, diferenciação, e crescimento celular, respectivamente.

A hipótese é de que a aplicação de uma associação de longa ação composta por fenilpropionato de dexametasona e fosfato-sódico de dexametasona no diestro seja capaz de influenciar a expressão gênica do endométrio de modo a incrementar a capacidade proliferativa e de diferenciação das células do epitélio endometrial. Com isso, será possível inibir a expressão das enzimas envolvidas na produção de PGF_{2α}, favorecendo a implantação embrionária e, consequentemente, resultando em maiores taxas de prenhez à IATF e TETF. Assim, o objetivo do estudo é avaliar o efeito do fármaco sobre a luteólise, a expressão gênica endometrial e a taxa de prenhez em bovinos.

2. METODOLOGIA

2.1. Experimento 1:

Neste estudo, serão utilizadas 20 fêmeas bovinas taurinas não gestantes e não lactantes. Após avaliação ginecológica, os animais serão submetidos a um protocolo de sincronização de estro, que consistirá na introdução de um dispositivo intravaginal de liberação lenta contendo 1g de progesterona associado à injeção intramuscular IM de 2mg de benzoato de estradiol no D-11; no D-3 será feita a retirada do dispositivo concomitante à aplicação IM de 500 µg de cloprostenol sódico, 1mg de cipionato de estradiol e 200 UI de eCG. No D-1 os animais receberão 50 µg de lecirelina como indutor de ovulação e será realizada ultrassonografia para mensuração do diâmetro do folículo dominante. No D1, uma nova avaliação ultrassonográfica será realizada para confirmar a ovulação. No D12 será realizada avaliação ultrassonográfica ovariana, a fim de estabelecer valores iniciais de diâmetro, área, circunferência e perfusão sanguínea (ultrassonografia doppler) dos CLs. Com base nesses dados os animais serão distribuídos nos quatro grupos experimentais: 1) Controle (n = 5), que receberá 10 mL de Solução salina, por via IM; 2) D12 (n = 5); 3) D14 (n = 5) e 4) D16 (n = 5), que receberão 0,06mg/kg IM de Dexametasona de longa ação (Dexaforce®, Virbac, São Paulo, Brasil) no Dia 12, 14 ou 16, respectivamente. Do D12 ao D25 serão realizadas coletas diárias de sangue para dosagem de progesterona sérica e a cada dois dias de material endometrial através da técnica de *cytobrush* para análise da expressão de mRNA de genes relacionados a vascularização e proliferação celular endometrial (VEGF e CTGF), COX-1, COX-2, cPLA2, PGFS e OXTR através da técnica de RT-qPCR . Além disso, os animais serão avaliados diariamente, do D12 ao D25, para determinação de diâmetro, área, circunferência e perfusão sanguínea do CL através de ultrassonografia doppler e será dosada a PGFM no plasma sanguíneo através da técnica de ELISA utilizando-se kit comercial no mesmo período.

2.2 Experimento 2:

O experimento 2 visa avaliar o efeito da aplicação de dexametasona de longa ação sobre a taxa de gestação de animais submetidos à IATF. Serão utilizadas 100 vacas nas mesmas condições do experimento 1. Após avaliação ginecológica os animais receberão o mesmo protocolo de sincronização de estro descrito no experimento 1, porém serão inseminadas no D0. Conforme os resultados do experimento 1, ou seja, no momento em que a dexametasona de longa ação se mostrar mais eficiente no retardo da luteólise, os animais serão divididos em dois grupos: Dexa ($n = 50$), que receberá administração IM de dexametasona de longa ação (Dexaforce®, Virbac, São Paulo, Brasil) ou Controle ($n = 50$), que receberá solução salina IM. No D30 será realizado diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal e a gestação será confirmada no D60.

2.3. Experimento 3:

No experimento 3 será avaliado o efeito da dexametasona de longa ação sobre a taxa de gestação de receptoras de embriões submetidas a protocolo de TETF. O protocolo de sincronização de estro será o mesmo mencionado no experimento 1 e no D7, após avaliação do CL, será realizada a transferência dos embriões. As receptoras serão divididas aleatoriamente em três grupos distintos: D7, D* e Controle. O primeiro receberá injeção IM de dexametasona de longa ação (Dexaforce®, Virbac, São Paulo, Brasil) no dia da transferência de embrião; no grupo D*, a administração será realizada no mesmo momento determinado no experimento 1 e no grupo Controle as vacas receberão solução salina IM. No D30 será realizado diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal e a gestação será confirmada no D60.

3. RESULTADOS ESPERADOS

No experimento 1, espera-se que a administração de dexametasona de longa ação favoreça a expressão de mRNA de genes responsáveis pela vascularização, proliferação e diferenciação do epitélio endometrial, iniba a expressão de mRNA para as enzimas envolvidas na cascata da PGF_{2α} e que, com isso, auxilie no retardar da luteólise. Estes resultados possibilitarão a aplicação do fármaco associado a protocolos de inseminação e transferência de embriões em tempo fixo, visando aumentar as taxas de implantação embrionária.

Nos experimentos 2 e 3, acredita-se que a dexametasona será capaz de modular o desenvolvimento embrionário, culminando em maiores taxas de implantação e consequentemente de prenhez à IATF e TETF, respectivamente, sendo importante para a difusão destas biotécnicas, especialmente como ferramentas de melhoramento genético dos rebanhos.

Mesmo que os resultados esperados não sejam alcançados, os dados obtidos permitirão avanços na compreensão da ação dos esteróides sobre a cascata da PGF_{2α} a nível endometrial, possibilitando novas investigações e busca de alternativas.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, será possível compreender o comportamento do tecido endometrial quanto à expressão gênica das enzimas envolvidas na cascata da PGF_{2α}, além de constatar se a associação do fármaco aos protocolos de IATF e TETF justifica-se em questões de aumento de custo e manejos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AROSH, J. A. et al. Expression of Cyclooxygenases 1 and 2 and Prostaglandin E Synthase in Bovine Endometrial Tissue During the Estrous Cycle. **Biology of Reproduction**, v. 67, n. 1, p. 161–169. 2002.
- BAUERSACHS, S., ULRICH, S. E., GROSS, K., SCHMIDT, S. E. M., MEYER, H. H. D., EINSPANIER, R., WENIGERKIND, H., VERMEHREN, M., BLUM, H., SINOWATZ, F., WOLF, E. Gene expression profiling of bovine endometrium during the oestrous cycle: detection of molecular pathways involved in functional changes. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 34, p. 889–908. 2005
- DUONG, H. Y.; PIOTROWSKA-TOMALA, K. K.; ACOSTA, T. J.; BAH, M. M.; SINDEREWICZ, E.; MAJEWSKA, M.; JANKOWSKA, K.; OKUDA, K.; SKARZYNSKI, D. J. Effects of Cortisol on Pregnancy Rate and Corpus Luteum Function in Heifers: An In Vivo Study. **Journal of Reproduction and Development**, v.50, n.02, p.223-230. 2012.
- KIKUKO, W.; YOSHIDA, R.; SHIMIZU, T.; HAYASHI, O. Enzymatic Formation of Prostaglandin $F_{2\alpha}$ from Prostaglandin H_2 and D_2 : Purifications and Properties Of Prostaglandin F Synthetase From Bovine Lung. **The Journal of Biological Chemistry**, v.260, n.11, p.7035-7041. 1985.
- KINDAHL, H., EDQVIST, L.-E., BANE, A., & GRANSTROM, E. (1976). Blood levels of progesterone and 15-Keto-13,14-dihydro-prostaglandin $F_{2\alpha}$ during the normal oestrous cycle and early pregnancy in heifers. **Acta endocrinologica**, v. 82, p. 134-149, 1976.
- KUO, T.; MCQUEENS, A.; CHEN, T-C.; WANG, J-C. Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids. In: WANG, J.-C.; HARRIS, C. (Eds.). **Glucocorticoid Signaling**. New York, NY: Springer, 2015. v. 872, p. 99–126.
- LEE, H.-Y., ACOSTA, T. J., TANIKAWA, M., SAKUMOTO, R., KOMIYAMA, J., TASAKI, Y., PISKULA, M., SKARZYNSKI, D. J., TETSUKA, M., OKUDA, K. The role of glucocorticoid in the regulation of prostaglandin biosynthesis in non-pregnant bovine endometrium. **Journal of Endocrinology**, v. 193, n. 1, p. 127–135, abr. 2007.
- LEMAL, P. et al. Invited review: From heat stress to disease—Immune response and candidate genes involved in cattle thermotolerance. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 7, p. 4471–4488. 2023.
- NAKAGAWA, M. et al. The effect of glucocorticoids on the expression of L-selectin on polymorphonuclear leukocyte. **Blood**, **The Journal of the American Society of Hematology**, v. 93, n. 8, p. 2730–2737. 1999.
- RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids — New Mechanisms for Old Drugs. **The New England Journal of Medicine**, v.353, n.16. 2005.
- RICCIOTTI, E.; FITZGERALD, G. A. Prostaglandins and Inflammation. In: Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, v.31, n.5, p.986-1000. 2011.
- SÁNCHEZ, J. M.; SIMINTIRAS, C. A.; LONERGAN, P. Aspects of embryo-maternal communication in establishment of pregnancy in cattle. **Animal Reproduction**, v. 16, n. 3, p. 376–385, 2019.
- SPENCER, T. E.; FORDE, N.; LONERGAN, P. Insights into conceptus elongation and establishment of pregnancy in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 29, n. 1, p. 84, 2017.
- TORRES, R. C., INSUELA, D. B. R., & CARVALHO, V. D. F. Mecanismos celulares e moleculares da ação antiinflamatória dos glicocorticóides. **Corpus et Sciencia**, v.8, n.2, p.36-51. 2012.