

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Veterinária**  
**Programa de Pós-Graduação em Veterinária**



Dissertação

**Efeito da prostaglandina e anti-inflamatório não esteroideal no processo  
ovulatório em bovinos**

**Camila Amaral D'Avila**

Pelotas, 2019

**Camila Amaral D'Avila**

**Efeito da prostaglandina e anti-inflamatório não esteroideal no processo  
ovulatório em bovinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção de do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal)

Orientador: Dr. Thomaz Lucia Júnior

Coorientador: Dr. Bernardo Garziera Gasperin

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas Catalogação na  
Publicação

D111e D'Avila, Camila Amaral

Efeito da prostaglandina e anti-inflamatório não esteroideal no processo ovulatório em bovinos / Camila Amaral D'Avila ; Thomaz Lucia Júnior, orientador ; Bernardo Garziera Gasperin, coorientador. — Pelotas, 2019.

67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Prostaglandina. 2. Ovulação. 3. Luteinização. 4. Vascularização. I. Lucia Júnior, Thomaz, orient. II. Gasperin, Bernardo Garziera, coorient. III. Título.

CDD : 636.2

Camila Amaral D'Avila

Efeito da prostaglandina e anti-inflamatório não esteroideal no processo ovulatório em  
bovinos

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciências no Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 22/02/2019

Banca examinadora:

Prof. Dr. Thomaz Lucia Júnior (Orientador)  
Doutor em Medicina Veterinária pela University of Minnesota

Prof. Dr. Augusto Schneider  
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Joabel Tonelotto dos Santos  
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Dra. Eliza Rossi Komninou  
Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

**Dedico esse trabalho aos meus pais.**

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente ao meus pais, Sandra e Cimarino, pelo apoio de sempre, por sempre investirem na minha formação e nunca medirem esforços para me ajudar, pelo carinho, colo, cuidados. Eu amo muito vocês.

Ao meu amor Rafael pelos três anos e meio de compreensão, companheirismo, respeito, amizade e principalmente pela ajuda na elaboração da dissertação.

As minhas amigas do São José que mesmo trilhando áreas tão diferentes sempre estiveram presentes.

Gostaria de agradecer aos professores Thomaz e Bernardo por sempre estarem dispostos a me ajudar e pela orientação nos experimentos e dissertação.

Aos professores Arnaldo e Monda pela confiança, ensinamentos e cafezinhos.

A minha amiga Carioca por toda amizade e me acalmar nos momentos mais desesperadores ao longo destes dois anos.

Agradeço aos colegas Fernando e Sergio por toda a ajuda na realização dos experimentos, sem vocês não seria possível.

Aos colegas do Repropel pelas conversas, mates, risadas deixando tudo mais leve e divertido e a todos que sempre que precisei não mediram esforços para me ajudar.

Agradeço a EMBRAPA e Centro Agropecuário da Palma.

***“Procure ser um homem de valor, em vez de ser um homem de sucesso.”  
Albert Einstein***

## Resumo

D'AVILA, Camila Amaral. **Efeito da prostaglandina e anti-inflamatório não esteroidal no processo ovulatório em bovinos**. 2019. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

A busca por melhores resultados reprodutivos nos sistemas de produção atuais está diretamente ligada ao retorno econômico para o produtor. Desse modo, a maximização da produção é um fator muito importante. Aliado a isso, existe uma grande preocupação atual em relação aos resíduos hormonais utilizados em protocolos de reprodução, como os ésteres de estradiol. Primeiramente no artigo 1 objetivou-se fazer uma revisão dos principais hormônios utilizados como indutores da ovulação em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. A prostaglandina a qual é amplamente utilizada com objetivo de luteólise tem apresentado efeitos positivos em relação a ovulação em fêmeas bovinas e pode ser uma alternativa aos ésteres de estradiol já proibidos em alguns países. Posteriormente e com base no exposto acima, o presente estudo objetivou avaliar 1) o efeito da prostaglandina F<sub>2α</sub> intramuscular (i.m) durante o processo ovulatório, em comparação com o GnRH e 2) se o tratamento com PGF é capaz de reverter os efeitos inibitórios de um anti-inflamatório não esteroidal (AINE) na cascata ovulatória induzida pelo GnRH, testando-se a hipótese de que a aplicação i.m de prostaglandina F<sub>2α</sub> altera o processo ovulatório em bovinos afetando a luteinização e a vascularização no folículo. Vacas (n=19) tiveram a onda folicular sincronizada com benzoato de estradiol (D0), dispositivo intravaginal de progesterona (DIVP4; 9 dias) e aplicação de PGF (241µg; i.m.) no D8. No experimento 1, após 12h da retirada do DIVP4, as vacas foram alocadas em três grupos: controle: solução salina 0,9% i.m (n=6); GnRH: 100µg de acetato de gonadorelina i.m (n=7); e PGF: 500µg de cloprostenol sódico i.m. (n=6). Os folículos foram aspirados 24 h após os tratamentos, não houve diferença significativa (P>0,05) nas concentrações de P4 e E2 no fluido folicular (FF), mas os níveis de E2 foram menores no grupo GnRH (P<0,05). No experimento 2, aplicou-se GnRH (acetato de gonadorelina; 100µg i.m.) 20h após a remoção do DIVP4 (hora 0), em todos os animais. Imediatamente após, as vacas foram alocadas em três grupos: controle: solução salina 0,9% i.m (n=6); AINE: 2,2mg/kg i.m. de flunixin meglumine (FM) 17h após GnRH (n=6); e grupo AINE+PGF, 2,2mg/kg i.m. de FM 17h após aplicação de GnRH e 25mg i.m. de PGF 23h após GnRH (n=6). O grupo AINE+PGF obteve menor concentração de P4 no FF e menor vascularização da parede folicular (P<0,05) 24h após GnRH. Não houve diferença significativa nos níveis de E2 intrafolicular. Conclui-se que a aplicação i.m de PGF não induz os mesmos efeitos observados sobre a esteroidogênese após o tratamento com GnRH.

**Palavras-chave:** prostaglandina; ovulação; luteinização; vascularização.



## Abstract

D'AVILA, Camila Amaral. **Effect of prostaglandin and non-steroidal anti-inflammatory in the ovulatory process in cattle**. 2019. 65f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

The search for better reproductive outcomes in current production systems is directly linked to the economic return to the producer. In this way, maximizing production is a very important factor. Allied to this, there is a great current concern regarding the hormonal residues used in reproduction protocols, such as esters of estradiol. Firstly, in article 1 we aimed to review the main hormones used as ovulation inducers in fixed-time artificial insemination protocols. Prostaglandin, which is widely used for the purpose of luteolysis, has shown positive effects on ovulation in bovine females and may be an alternative to estradiol esters already banned in some countries. Subsequently and based on the above, the present study aimed to evaluate 1) the effect of intramuscular prostaglandin F<sub>2α</sub> (im) during the ovulatory process, compared to GnRH and 2) if PGF treatment is able to reverse the inhibitory effects of a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) in the ovulatory cascade induced by GnRH, testing the hypothesis that the im application of prostaglandin F<sub>2α</sub> alters the ovulatory process in bovines affecting luteinization and vascularization in the follicle. Cows (n = 19) had the follicular wave synchronized with estradiol benzoate (D0), intravaginal progesterone device (DIVP4; 9 days) and application of PGF (241 µg; i.m.) at D8. In experiment 1, after 12 h of DIVP4 withdrawal, the cows were allocated into three groups: control: saline solution 0.9% i.m (n = 6); GnRH: 100µg gonadorelin acetate i.m (n = 7); and PGF: 500µg sodium cloprostenol i.m. (n = 6). The follicles were aspirated 24 h after the treatments, there was no significant difference (P > 0.05) in the concentrations of P4 and E2 in the follicular fluid (FF), but E2 levels were lower in the GnRH group (P < 0.05). In experiment 2, GnRH (gonadorelin acetate, 100µg i.m.) was applied after removal of DIVP4 (time 0) in all animals. Immediately after, the cows were allocated in three groups: control: saline solution 0.9% i.m (n = 6); NSAID: 2.2mg / kg i.m. of flunixin meglumine (FM) 17 h after GnRH (n = 6); and AINE + PGF group, 2.2mg / kg i.m. of FM 17h after application of GnRH and 25mg i.m. of PGF 23h after GnRH (n = 6). The AINE + PGF group had a lower concentration of P4 in the FF and less vascularization of the follicular wall (P < 0.05) 24h after GnRH. There was no significant difference in intrafollicular E2 levels. It is concluded that the i.m application of PGF does not induce the same effects observed on steroidogenesis after GnRH treatment.

**Keywords:** prostaglandin; ovulation; luteinization; vascularization.

## Lista de Figuras

Figura 1: Desenho experimental do Experimento 1 .....	34
Figura 2: Desenho experimental do Experimento 2 .....	36
Figura 3: Concentração de progesterona (A) e estradiol (B) no fluido folicular (Experimento 1)* .....	38
Figura 4: Concentração de progesterona (A) e estrogênio (B) no fluido folicular (Experimento 2)* .....	39
Figura 5: Imagens da avaliação com doppler 24 h após aplicação de GnRH* .....	40
Figura 6: Grau de vascularização folicular no momento da aplicação dos tratamentos (0 h) e 24 h após* .....	41

## **Lista de Tabelas**

Tabela 1: Estudos que utilizaram diferentes indutores de ovulação em bovinos .....28

## Lista abreviaturas e Siglas

AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
BE	Benzoato de estradiol
CL	Corpo lúteo
DIVP4	Dispositivo intravaginal de progesterona
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
ECP	Cipionato de estradiol
E2	Estradiol
FF	Fluido folicular
FM	Flunixin meglunime
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
i.m	Intramuscular
LH	Hormônio luteinizante
P4	Progesterona
PGE	Prostaglandina E2
PFG2 $\alpha$	Prostaglandina F2 $\alpha$
PTGS2	Ciclooxigenase 2
rpm	Rotação por minuto
rsBT	Somatotropina bovina recombinante
VE	Valerato de estradiol

## Sumário

<b>1 Introdução.....</b>	<b>12</b>
<b>2 Artigos.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Artigo 1.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Artigo 2.....</b>	<b>29</b>
<b>3 Considerações finais .....</b>	<b>51</b>
<b>Referências.....</b>	<b>52</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>64</b>

## 1 Introdução

O Brasil possuía um rebanho bovino de 217.749.364 milhões de cabeças no ano de 2017 (MAPA 2017), sendo o maior exportador mundial de carne bovina (ABIEC 2017). A pecuária é de extrema importância para a economia brasileira e, uma vez que há um mercado em ascensão, espera-se um aumento na produção, exigindo dos produtores um elevado rendimento.

No mercado atual, o crescimento dos rebanhos aliado a práticas sustentáveis, mostra-se um estímulo em busca de inovações que possibilitem maximizar a produção cada vez mais em menores extensões de terra e com menos insumos. Diante disso, uma alta eficiência reprodutiva sem dúvidas está estritamente relacionada a um elevado rendimento e retorno econômico satisfatório para os sistemas de produção. A adoção de biotecnologias reprodutivas como a inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) permitem otimizar o manejo reprodutivo. Existem muitas vantagens na utilização de IA e IATF, como evitar a transmissão de doenças venéreas, concentrar os nascimentos e, conseqüentemente, obter uma produção mais uniforme, além do ganho genético e econômico através do uso de touros geneticamente superiores (SÁ FILHO et al., 2013). Apesar de todas estas vantagens e disponibilidade, no Brasil uma pequena proporção (12%) de fêmeas em idade reprodutiva é inseminada, sendo o restante submetido à monta natural (BARUSELLI, 2016).

Existe uma ampla variedade de protocolos de controle do ciclo estral visando sincronizar a ovulação para possibilitar a realização de IATF. Na maioria dos protocolos utiliza-se ésteres de estradiol como o cipionato de estradiol (ECP) ou benzoato de estradiol (BE) como indutores de ovulação, devido a indução da manifestação de estro e o baixo custo (STEVENSON et al., 2004). No Brasil, a legislação não faz restrições ao uso de derivados de estradiol para o controle reprodutivo em animais não destinados ao mercado Europeu, porém, em alguns países o uso de estradiol é totalmente restrito pois este hormônio, assim como outros esteroides, pode apresentar efeito residual nos produtos animais (FERRÃO e BRESSAN, 2006).

Uma vez que o Brasil exporta proteína animal para outros países que restringem o uso de esteróides, se torna necessário investigar alternativas ao uso do estradiol que permitam a manutenção da eficiência dos protocolos, sem oferecer riscos para consumidores de produtos de origem animal. Análogos de Prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) são utilizados em protocolos de IA para promover sincronização do estro e regressão de corpo lúteo (KINDAHL et al., 1976; SILVIA et al., 1991). Porém, estudos já avaliaram a utilização de prostaglandinas para promover o crescimento folicular e induzir a ovulação em protocolos de IATF demonstrando efeitos positivos no processo ovulatório (PFEIFER et al., 2009; LEONARDI et al., 2012; PFEIFER et al., 2014; PFEIFER et al., 2016; CASTRO et al., 2018). Sabe-se que a ovulação é um processo inflamatório que envolve a síntese de prostaglandinas e, portanto, a aplicação de PGF poderia antecipar a ovulação, conforme demonstrado em diversas espécies, embora os mecanismos envolvidos sejam desconhecidos. A busca pelo entendimento dos mecanismos envolvidos na ovulação e a identificação de indutores alternativos se justifica devido a necessidade de estudar alternativas que possam substituir o uso de ésteres de estradiol, sem que a fertilidade dos animais seja prejudicada. É imprescindível ter um controle rígido do momento da ovulação para que se obtenha uma fertilização bem-sucedida viabilizando-se o uso da IATF. Diante de todas as evidências, a PGF tem sido sugerida como uma alternativa para substituir os ésteres de estradiol como indutora da ovulação, porém ainda não se pode afirmar qual o seu mecanismo de ação durante o processo ovulatório, seja por ação sistêmica ou local, para permitir melhor escolha de doses e momento de aplicação.

Baseado nas considerações apresentadas, formulou-se a hipótese de que a administração de prostaglandina (PGF) em vacas com folículos pré-ovulatórios é capaz de modular eventos relacionados à luteinização, vascularização e ovulação. Portanto, o primeiro objetivo foi revisar os diferentes indutores de ovulação disponíveis para uso em bovinos quanto aos mecanismos de ação e eficiência na sincronização do momento da ovulação. Posteriormente, utilizando um modelo *in vivo*, objetivou-se avaliar os efeitos da administração de PGF sobre o ambiente folicular em bovinos, especialmente sobre a luteinização e vascularização folicular.

## **2 Artigos**

### **2.1 Artigo 1**

#### **Hormônios utilizados em protocolos reprodutivos com ênfase na indução da ovulação**

C.A. D'Avila, F.P. Moraes, T. Lucia Jr, B.G. Gasperin

Artigo foi submetido a Revista Brasileira de Reprodução Animal



## **Hormônios utilizados na indução da ovulação em bovinos**

### **Hormones used as ovulation inducers in cattle**

C.A. D'Avila<sup>1</sup>, F.P. Moraes<sup>1</sup>, T. Lucia Jr.<sup>1\*</sup>, B.G. Gasperin<sup>1</sup>

\*Correspondência: Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Universitário, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: tluciajr@gmail.com

#### **Resumo**

Diversos hormônios podem ser utilizados em protocolos que visam otimizar biotécnicas reprodutivas como a inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que exigem controle preciso do ciclo estral e ovulação. Alguns destes possuem ação central, como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e os ésteres de estradiol como o benzoato de estradiol (BE) e cipionato de estradiol (ECP), enquanto outros como a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o hormônio luteinizante (LH) apresentam ação local. Além disso, foi demonstrado que as prostaglandinas possuem efeitos positivos na indução do processo ovulatório, mas seu mecanismo de ação não está totalmente esclarecido. A presente revisão tem por objetivo abordar os principais indutores da ovulação em protocolos para controle do ciclo estral em bovinos, bem como o intervalo de tempo após a sua aplicação em que as ovulações ocorreram. A identificação de indutores mais eficientes ou talvez a utilização de mais de um indutor possibilitará um maior controle da ovulação em bovinos.

**Palavras-chave:** protocolos, indutores, ovulação, bovinos.

#### ***Abstract***

*Several hormones may be used in protocols aimed to optimize reproductive biotechniques such as artificial insemination (AI) and timed artificial insemination (TAI) which require precise control of the estrous cycle and ovulation. Some of them present a central action, such as the gonadotrophin releasing hormone (GnRH) and estradiol esters such as estradiol benzoate (BE) and estradiol cypionate (ECP), whereas others have local action,*

*such as human chorionic gonadotrophin (hCG) and luteinizing hormone (LH). In addition, it has been previously demonstrated that prostaglandins have positive effects on the ovulatory process, although their mechanism of action is not fully understood. The present review aims to address the main ovulation inducers in protocols to control the estrous cycle in cattle, and also the period between their administration and the occurrence of ovulation. The identification of the best inducers or perhaps the use of more than one inducer could increase the control of ovulation moment in cattle.*

**Keywords:** *protocols, inducers, ovulation, cattle.*

### **Introdução**

O manejo reprodutivo é um fator imprescindível dentro dos sistemas produtivos, pois afeta diretamente a sua rentabilidade e a sua eficiência. O seu êxito depende de diversos fatores: expressão e de estro; taxa de fecundação após a sincronização do estro e a indução da ovulação; inseminação artificial (IA); ou inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O uso de protocolos hormonais visando sincronizar ovulações em programas de IATF trouxe muitas vantagens, permitindo que a IA seja executada em um momento pré-determinado, excluindo a necessidade de detecção de estro (BO et al., 2004). Várias associações de hormônios são utilizadas para o controle do ciclo estral, culminando com a ovulação, porém a sua utilização depende dos custos, da sua aplicabilidade (LUCY et al., 2004) e da legislação vigente em cada país. Desse modo, a presente revisão tem por objetivo abordar os principais hormônios utilizados na indução da ovulação em protocolos reprodutivos em bovinos.

### **Protocolos de sincronização**

As fêmeas destinadas a protocolos reprodutivos devem ser submetidas a uma avaliação geral, levando em consideração escore de condição corporal (ECC), a categoria animal (nulíparas, primíparas ou pluríparas), histórico reprodutivo e avaliação sanitária. O ECC influencia muito a eficiência reprodutiva, sendo que animais com baixo escore têm pior

desempenho reprodutivo. Além disso, é importante realizar exame ultrassonográfico, para melhor analisar a condição ovariana e uterina.

Os protocolos reprodutivos visando sincronização da ovulação geralmente iniciam com a aplicação de um implante de progesterona (P4) exógena para simular a fase luteal aliada à aplicação de uma fonte de estrógenos para promover a regressão de folículos que estejam presentes nos ovários. Após a metabolização do estrógeno, ocorre o surgimento de uma nova onda folicular em aproximadamente quatro dias, quando é utilizado estradiol-17 $\beta$  (BO et al., 1995). Realiza-se também uma aplicação de análogos de prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF) para promover a regressão do corpo lúteo (CL) que possa estar presente (PATE & TOWNSON, 1994). A ovulação do folículo selecionado proveniente do crescimento da nova onda folicular depende da remoção da fonte exógena de P4 (após cinco a nove dias de exposição), que ocorre simultaneamente com a aplicação de um indutor de ovulação, quando utilizado cipionato de estradiol (ECP). Quando é utilizado benzoato de estradiol (BE), sua administração geralmente é realizada 24h após a remoção de P4, para que as ovulações sejam sincronizadas em um menor intervalo de tempo (BARUSELLI et al., 2006).

Os principais fármacos usados como indutores de ovulação em protocolos de IATF em vacas são: análogos (gonadorelina) ou superanálogos (buserelina, lecirelina, fertirelina) do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e ésteres de estradiol (BE e ECP). Cada um destes fármacos possui um intervalo específico entre a aplicação e a ovulação (Tabela 1) e, portanto, o momento da realização da IATF é adequado para cada indutor. Também podem ser utilizados como indutores a gonadotrofina coriônica humana (hCG), hormônio luteinizante (LH) e, mais recentemente, foi observado efeito positivo da PGF na ovulação em bovinos (LEONARDI et al., 2012; PFEIFER et al., 2014; PFEIFER et al., 2016; CASTRO et al., 2018).

### **Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)**

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) age diretamente na hipófise

ocasionando a liberação de hormônio luteinizante (LH), desse modo as ovulações são mais rápidas do que quando são aplicados ésteres de estradiol. O *Ovsynch* é um dos protocolos pioneiros na utilização de GnRH para o controle do ciclo estral e ovulação e consiste na aplicação de GnRH, no dia 0, PGF sete dias após e, 48h após, nova aplicação de GnRH. Ovulações utilizando este protocolo ocorrem cerca de 24 a 32h após a aplicação da segunda dose do GnRH em vacas e novilhas leiteiras (PURSLEY et al., 1995). Outros trabalhos demonstraram que as ovulações ocorrem entre 28 a 30h após segunda aplicação de GnRH em vacas leiteiras (GIORDANO et al., 2012; LIU et al., 2018). Existem alterações do protocolo *Ovsynch*, como o *Co-Synch*, em que se realiza a inseminação artificial no momento da segunda aplicação de GnRH, enquanto que no *Ovsynch* a inseminação é feita de 8-16h após segunda aplicação de GnRH (GOTTSCHALL et al., 2016). Outra alteração é o protocolo *Heatsynch*, em que é substituída a segunda aplicação de GnRH por ECP. Não houve diferença na taxa de prenhez entre grupos sincronizados com protocolo *Ovsynch* e *Heatsynch* em vacas leiteiras (PANCARCI et al., 2002). Um outro estudo em vacas leiteiras demonstrou que a substituição da segunda aplicação de GnRH por ECP resultou em mais vacas apresentando estro, porém menos ovulações (STEVENSON et al., 2004). Esta variação do *Ovsynch* tem a vantagem de eliminar uma aplicação de GnRH, o que reduz o custo total do protocolo e, além disso, o uso do estradiol induz secreção mucosa, tônus uterino e comportamento sexual (STEVENSON et al., 2004). O protocolo *Select-Synch*, também uma variação do *Ovsynch*, foi adaptado para vacas de corte com cria ao pé em que se insemina somente vacas que apresentarem estro após a segunda dose de GnRH (GEARY et al., 2000).

### **Ésteres de estradiol**

Os ésteres de estradiol atuam em nível hipotalâmico, estimulando a liberação de GnRH e, conseqüentemente, a liberação hipofisária de LH. Portanto, nestes protocolos a ovulação é mais tardia, em comparação com protocolos que usam o GnRH. Entre os ésteres de estradiol, o

benzoato de estradiol (BE) possui meia-vida curta (aproximadamente 3 dias). O valerato de estradiol (VE), menos utilizado, possui meia vida intermediária (7-8 dias), enquanto que o cipionato de estradiol (ECP) possui meia vida longa (10-12 dias) (WILLIANS & STANCEL, 1996).

A aplicação de BE 24h após a remoção do implante de P4 resultou em ovulações 64h após remoção da P4 (HANLON et al., 1997). Um trabalho comparando o uso de BE e ECP como indutores de ovulação demonstrou que o grupo BE teve um intervalo menor entre a remoção da P4 até a ovulação (TORRES-JÚNIOR et al., 2014). Ovulações utilizando BE como indutor ocorreram 69h (PFEIFER et al., 2014) e 66 a 78h (PFEIFER et al., 2016) após a remoção da P4, sendo que em ambos estudos o BE foi administrado 24h após a remoção da fonte de progesterona. Com o uso de ECP aplicado no momento da retirada da P4 exógena, ocorreu um pico de LH 38h após, com ovulação 66h após a aplicação (AMBROSE et al., 2001). Outro estudo relata que a ovulação pode ocorrer 55h após aplicação de ECP (no momento da remoção de P4) (PANCARCI et al., 2002).

O uso do BE 24h após a remoção do implante de progesterona é reconhecidamente eficiente em induzir a ovulação (BARUSELLI et al., 2006), mas requer um manejo a mais para sua aplicação. Já o ECP, devido a sua menor biodisponibilidade e maior longa-vida, é administrado juntamente com a retirada do implante de P4. Assim, é possível manter níveis plasmáticos suficientes para estimular o pico de LH após a queda dos níveis de P4 (AYRES et al., 2006), eliminando a necessidade de um manejo adicional, tornando a execução dos protocolos mais simples. Quanto a taxa de prenhez, não houve diferença em animais tratados com BE ou ECP em protocolos de IATF em vacas leiteiras (FRANCA et al., 2015). Em vacas Nelore, ao comparar apenas o uso de ECP em diferentes protocolos de IATF, não houve diferença na taxa de prenhez (VIANNA et al., 2008). Em vacas de corte *Bos taurus indicus* não houve diferença na taxa de gestação ao comparar BE e ECP (TORRES-JÚNIOR et al., 2014).

### **Gonadotrofina coriônica humana (hCG)**

Em bovinos, a hCG se liga aos receptores de LH nas células da granulosa e da teca dos folículos ovarianos e tem sido utilizado para induzir a ovulação em protocolos de IATF (RAJAMAHENDRAN & SIANANGAMA, 1992), ou com objetivo de formar corpo lúteo acessório após a IA (DAHLEN et al., 2010). A hCG tem um alto efeito luteinizante, o que permite prolongar a vida útil do corpo lúteo e aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona (DE RENSIS et al., 2008). Sua atividade semelhante ao LH pode induzir maturação dos folículos, ovulação e formar corpos lúteos acessórios, prolongando o ciclo estral (DIAZ et al., 1998).

O uso de hCG para induzir a ovulação na IATF aumentou os níveis plasmáticos de P4 e melhorou a fertilidade de vacas leiteiras comprometidas pelo estresse térmico (DE RENSIS et al., 2008). A substituição do GnRH por hCG no início do protocolo *Ovsynch* não aumentou a ovulação e nem a taxa de concepção em vacas leiteiras (KESKIN et al., 2010). Outro estudo que utilizou um protocolo de IATF baseado no uso de P4 por 5 dias comparou o uso de GnRH e hCG no final do protocolo, sendo hCG utilizado nas concentrações de 1000 e 3000UI. Foi demonstrado que a hCG utilizado para induzir a ovulação no final do protocolo melhora a dinâmica folicular em comparação com o tratamento com GnRH. Além disso, melhores resultados foram obtidos ao utilizar-se dose de 3000UI (GARCIA-ISPIERTO et al., 2018). A substituição do GnRH por hCG no início do protocolo *Cosynch*, no final do protocolo e no início e final do protocolo em vacas de corte amamentando não foi eficaz, demonstrando que altas taxas de prenhez foram obtidas quando aplicou-se GnRH no início e final ou apenas final do protocolo (SCHMITZ et al., 2017). Em vacas Nelore submetidas a IATF, para avaliar o crescimento final do folículo dominante e comparar o uso de eCG (300UI i.m) e hCG (300UI i.m, 200UI i.m ou 200UI s.c) no dia 8 do protocolo, observou-se que a hCG foi inferior a eCG, pois ocasionou ovulações precoces (PRATA et al., 2018). Ao avaliar a dinâmica folicular e

sincronização de estro utilizando diferentes dosagens de hCG (500, 1000, 2000 e 3000UI i.m) em bovinos, não houve diferença entre os tratamentos (COSTA et al., 1999).

### **Hormônio Luteinizante (LH)**

O hormônio luteinizante exógeno age diretamente nas células da granulosa dos folículos. O aumento da concentração de LH faz com que as células da granulosa comecem sua luteinização pré-ovulatória e se diferenciem, após a ovulação, em células lúteas produtoras de progesterona (ROBINSON et al., 2008). O uso de LH mostrou melhorar a taxa de ovulação em novilhas em comparação ao uso de GnRH (MARTINEZ et al., 1999). Com a administração exógena de LH é possível controlar o momento da ovulação, que ocorre entre 24 e 36h após a administração (NOGUEIRA & BARROS, 2003). Em um trabalho que avaliou a substituição da segunda dose de GnRH no protocolo *Ovsynch* por LH ou hCG em búfalas, cujo objetivo era aumentar a taxa de ovulação devido a ação local dos indutores nos folículos, não foram observadas diferenças na taxa de prenhez (BARUSELLI et al., 2009). Em búfalas, comparou-se a aplicação de LH e GnRH, sendo obtida sincronização da ovulação e taxa de prenhez aceitáveis em ambos os tratamentos, demonstrando que o LH pode ser utilizado para substituir a segunda aplicação de GnRH no *Ovsynch* (DE ARAUJO BERBER et al., 2002). O uso de LH como indutor de ovulação na IATF em novilhas da raça Nelore não foi eficaz para aumentar significativamente as taxas de prenhez (TAIRA et al., 2011).

### **Prostaglandinas**

O efeito terapêutico mais explorado da PGF é relacionado com sua capacidade de promover luteólise, sendo utilizada, principalmente, em protocolos de sincronização do estro. O uso da PGF para sincronização possibilita maiores taxas de estro e de IA, em comparação à detecção de estro sem sincronização. Porém, apenas administrar a PGF não resulta em sincronização da ovulação para viabilizar a IATF, pois o estro pode acontecer em até 5 dias. Desse modo, grande parte dos protocolos para sincronização de cio e IATF combina o uso de

PGF com fonte exógena de progesterona e indutores da ovulação.

No Brasil existem dois análogos de PGF disponíveis comercialmente: dinoprost trometamina, análogo mais semelhante à PGF natural e com meia vida curta; e o cloprostenol sódico, molécula mais potente e com meia-vida mais longa (BOURNE, 1981). Trabalhos recentes sugerem que a PGF e seus análogos podem ser usados como indutores da ovulação (LEONARDI et al., 2012; PFEIFER et al., 2014; PFEIFER et al., 2016; CASTRO et al., 2018). A aplicação exógena de análogo de PGF foi associada com ovulação em novilhas pré-púberes independentemente do uso de progesterona exógena como pré-tratamento. O processo ovulatório foi induzido por um mecanismo independente da luteólise, visto que as novilhas pré-púberes ovularam 94h após o tratamento com cloprostenol (LEONARDI et al., 2012). Além disso, a aplicação de análogo da PGF 24h após a remoção da fonte exógena de P4, pode ser utilizado para induzir ovulação de forma sincronizada em novilhas (PFEIFER et al., 2014). Recentemente, em vacas leiteiras no pós-parto, foi demonstrado que a PGF promoveu a indução sincronizada da ovulação de maneira similar ao BE, sendo um potencial indutor de ovulação em protocolos de IATF (PFEIFER et al., 2016). Ao comparar o uso de PGF como indutor da ovulação em protocolos utilizando GnRH e progesterona demonstrou-se que a PGF foi tão eficaz quanto o ECP e permitiu que o folículo pré-ovulatório alcançasse um maior diâmetro (CASTRO et al., 2018).

O mecanismo através do qual a PGF atua como indutor de ovulação ainda não está completamente definido, mas é possível que ela atue em nível sistêmico, tendo ação no eixo hipotalâmico-hipofisário, podendo aumentar a capacidade de resposta da hipófise ao GnRH, estimulando a liberação de LH (KISER et al., 1976; RANDEL et al., 1996). Desse modo, a PGF poderia eventualmente substituir o GnRH nos protocolos de indução de ovulação, reduzindo os custos dos protocolos de IATF, nas ocasiões em que o uso de estradiol é restrito. Além do possível efeito central, na regulação das gonadotrofinas, existem evidências de que a PGF



desempenhe um papel local no ovário (MURDOCH et al., 1993; BRIDGES & FORTUNE, 2007). Desse modo, a ovulação induzida pela PGF poderia ser devido a uma ação direta da PGF nas células foliculares.

### **Considerações finais**

O avanço e conhecimento das biotécnicas reprodutivas permite a otimização dos sistemas de produção atuais. A IATF pode expandir a produção pecuária atual, melhorando as taxas de prenhez, o ganho genético e elevando as taxas de desfrute e a produtividade. Porém, a preocupação com os resíduos de hormônios esteroides é uma constante, o que leva à busca por produtos alternativos. A identificação dos indutores mais eficientes ou a utilização de mais de um indutor poderá possibilitar um maior controle da ovulação em bovinos, impactando diretamente nos resultados das biotécnicas reprodutivas.

### **Agradecimentos**

Ao CNPq, pela bolsa de produtividade de B.G. Gasperin (309138/2017-5) e T. Lucia Jr. (303559/2015-2), à FAPERGS (Edital PRONEX 12/2014 -FAPERGS/CNPq, 16/2551-0000494-3) e à CAPES (Código de Financiamento 001), pela bolsa de Mestrado de F.P. Moraes.

### **Referências**

**AMBROSE D, RAJAMAHENDRAN R, KASTELIC J, SMALL J.** Synchronization of Ovulation and conception rates in Holstein heifers given an intravaginal progesterone-releasing device (CIDR), and estradiol cypionate, porcine LH or gonadotropin releasing hormone. *Arch Tierzucht*, v.44, p.77-79, 2001.

**AYRES H, TORRES-JÚNIOR J, PENTEADO L, SOUZA A, BARUSELLI P.** Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao Benzoato ou ao Cipionato de estradiol. *Acta Sci Vet*, v.34, p.410, 2006.

**BARUSELLI P, AYRES H, SOUZA A, MARTINS C, GIMENES L, TORRES-JÚNIOR J.** Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. *In: Simpósio Internacional de*

*Reprodução Animal Aplicada*, v.2, n.2006, p.113-132, 2006.

**BARUSELLI PS, CARVALHO NAT, JACOMINI JO.** Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.6, p.104-110, 2009.

**BO G, CUTAIA L, BARUSELLI P.** Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: *1 Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada*, p.56-81, 2004.

**BO GA, ADAMS GP, PIERSON RA, MAPLETOFT RJ.** Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, v.43, n.1, p.31-40, 1995.

**BOURNE GR.** A review of metabolism and clearance studies with <sup>14</sup>C-cloprostenol in the cow. *Acta Vet Scand*, v.77, p.5-9, 1981.

**BRIDGES PJ, FORTUNE JE.** Regulation, action and transport of prostaglandins during the periovulatory period in cattle. *Mol Cell Endocrinol*, v.263, n.1-2, p.1-9, 2007.

**CASTRO NA, NEVES PMA, CESTARO JP, MELO VTO, SCHNEIDER A, PFEIFER LFM.** Use of prostaglandin F<sub>2α</sub> as ovulatory stimulus for synchronizing dairy cattle. *Res Vet Sci*, v.118, p.151-154, 2018.

**COSTA D, ALEXANDRE C, TORRES A, A MAZA ANGULO L, ARTHUR L, JUNQUEIRA C, SILVA L.** Sincronização da Onda Folicular com hCG Prévia à Indução da Luteólise com Cloprostenol em Bovinos. *R Bras Zootec*, v.28, p.701-705, 1999.

**DAHLEN C, BIRD S, MARTEL C, OLSON K, STEVENSON J, LAMB G.** Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. *J Anim Sci*, v.88, n.7, p.2337-2345, 2010.

**DE ARAUJO BERBER RC, MADUREIRA EH, BARUSELLI PS.** Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, v.57, n.5, p.1421-30, 2002.

**DE RENSIS F, VALENTINI R, GORRIERI F, BOTTARELLI E, LOPEZ-GATIUS F.** Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. *Theriogenology*, v.69, n.9, p.1077-82, 2008.

**DIAZ T, SCHMITT EJ, DE LA SOTA RL, THATCHER MJ, THATCHER WW.** Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of

heifers. *J Anim Sci*, v.76, n.7, p.1929-36, 1998.

**FRANCA LM, RODRIGUES AS, BRANDÃO LGN, LOIOLA MVG, CHALHOUB M, FERRAZ PA, BITTENCOURT RF, JESUS EOD, RIBEIRO FILHO ADL.** Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e a taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. *Rev Bras Saúde Prod Anim*, v.16, n.4, 2015.

**GARCIA-ISPIERTO I, DE RENSIS F, CASAS X, CABALLERO F, MUR-NOVALES R, LÓPEZ-GATIUS F.** Reproductive performance of lactating dairy cows after inducing ovulation using hCG in a five-day progesterone-based fixed-time AI protocol. *Theriogenology*, v.107, p.175-179, 2018.

**GEARY TW, DOWNING ER, BRUEMMER JE, WHITTIER JC.** Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the select synch estrous synchronization protocol. *The Professional Animal Scientist*, v.16, n.1, p.1-5, 2000.

**GIORDANO JO, FRICKE PM, GUENTHER JN, LOPES G, JR., HERLIHY MM, NASCIMENTO AB, WILTBANK MC.** Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, v.95, n.7, p.3781-93, 2012.

**GOTTSCHALL CS, SILVA LRD, ALMEIDA MRD.** Análise econômica de dois protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em novilhas de corte. *R Bras Reprod Anim*, v.40, n.3, p.99-104, 2016.

**HANLON DW, WILLIAMSON NB, WICHTEL JJ, STEFFERT IJ, CRAIGIE AL, PFEIFFER DU.** Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.47, n.5, p.963-75, 1997.

**KESKIN A, YILMAZBAS-MECITOGLU G, GUMEN A, KARAKAYA E, DARICI R, OKUT H.** Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.74, n.4, p.602-607, 2010.

**KISER TE, HAFS HD, OXENDER WD.** Increased blood LH and testosterone after administration of prostaglandin F2alpha in bulls. *Prostaglandins*, v.11, n.3, p.545-53, 1976.

**LEONARDI CE, PFEIFER LF, RUBIN MI, SINGH J, MAPLETOFT RJ, PESSOA GA, BAINY**

**AM, SILVA CA.** Prostaglandin F2alpha promotes ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology*, v.78, n.7, p.1578-82, 2012.

**LIU TC, CHIANG CF, HO CT, CHAN JP.** Effect of GnRH on ovulatory response after luteolysis induced by two low doses of PGF2alpha in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.105, p.45-50, 2018.

**LUCY MC, MCDUGALL S, NATION DP.** The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Anim Reprod Sci*, v.82-83, p.495-512, 2004.

**MARTINEZ MF, ADAMS GP, BERGFELT DR, KASTELIC JP, MAPLETOFT RJ.** Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. *Anim Reprod Sci*, v.57, n.1-2, p.23-33, 1999.

**MURDOCH WJ, HANSEN TR, MCPHERSON LA.** A review--role of eicosanoids in vertebrate ovulation. *Prostaglandins*, v.46, n.2, p.85-115, 1993.

**NOGUEIRA M, BARROS C.** Timing of ovulation in Nelore cows superstimulated with P36 protocol. *Acta Sci Vet*, v.31, p.509, 2003.

**PANCARCI SM, JORDAN ER, RISCO CA, SCHOUTEN MJ, LOPES FL, MOREIRA F, THATCHER WW.** Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*, v.85, n.1, p.122-31, 2002.

**PATE J, TOWNSON D.** Novel Local Regulators in Luteal Regression, v.73. 1994

**PFEIFER LF, LEONARDI CE, CASTRO NA, VIANA JH, SIQUEIRA LG, CASTILHO EM, SINGH J, KRUSSER RH, RUBIN MI.** The use of PGF2alpha as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. *Theriogenology*, v.81, n.5, p.689-95, 2014.

**PFEIFER LFM, SIQUEIRA LGB, ARASHIRO EKN, CASTRO NLÃVD, VIANA JOHM.** Prostaglandin F2± or estradiol benzoate to induce ovulation in timed artificially inseminated dairy cows. *Pesqu Agropecu Bras*, v.51, p.738-744, 2016.

**PRATA AB, DRUM JN, MELO LF, ARAUJO ER, SARTORI R.** Effect of different chorionic gonadotropins on final growth of the dominant follicle in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, v.111, p.52-55, 2018.

**PURSLEY JR, MEE MO, WILTBANK MC.** Synchronization of ovulation in dairy cows using

PGF<sub>2</sub>alpha and GnRH. *Theriogenology*, v.44, n.7, p.915-23, 1995.

**RAJAMAHENDRAN R, SIANANGAMA P.** Effect of human chorionic gonadotrophin (hCG) on dominant follicles in cows: accessory corpus luteum formation, progesterone production and pregnancy rate. *J Reprod Fertil*, v.95, p.577-584, 1992.

**RANDEL RD, LAMMOGLIA MA, LEWIS AW, NEUENDORFF DA, GUTHRIE MJ.** Exogenous PGF<sub>2</sub>alpha enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology*, v.45, n.3, p.643-54, 1996.

**ROBINSON RS, HAMMOND AJ, WATHES DC, HUNTER MG, MANN GE.** Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. *Reprod Domest Anim*, v.43 Suppl 2, p.104-12, 2008.

**SCHMITZ W, KRAMER M, ERHARDT G, GAULY M, DRIANCOURT M-A, HOLTZ W.** Pregnancy rate after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows subjected to a cosynch protocol with either buserelin or hCG as ovulation inducing agent. *Livest Sci*, v.206, p.141-147, 2017.

**STEVENSON JS, TIFFANY SM, LUCY MC.** Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci*, v.87, n.10, p.3298-305, 2004.

**TAIRA EM, PINTO FI, DI RAIMO L, DE CAMARGO NETO WD, GIUFFRIDA R, CASTILHO C.** Uso de LH como indutor de ovulação em protocolo de IATF para Novilhas da raça Nelore. *Colloquium Agrariae*, v.6, n.1, p.43-49, 2011.

**TORRES-JÚNIOR JRS, PENTEADO L, SALES JNS, SÁ FILHO MF, AYRES H, BARUSELLI PS.** A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci*, v.151, n.1, p.9-14, 2014.

**VIANNA G, KOZICKI L, WEISS R, SEGUI M, MEIRELLES C, EFING A, BREDA J, GIACOMELLI A.** Comparação de diferentes protocolos para a sincronização de estro e inseminação artificial em tempo fixo em vacas da raça nelore em anestro pós-parto. *Arch Vet Sci*, v.13, n.4, 2008.

**WILLIAMS C, STANCEL G.** Estrogênios e progestogênios. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 1996.

**Tabela 1:** Estudos que utilizaram diferentes indutores de ovulação em bovinos

<b>Referência</b>	<b>Indutor*</b>	<b>P4</b>	<b>Momento da ovulação</b>
Pursley et al. (1995)	GnRH 48h após PGF	-	24-32h após segunda aplicação de GnRH
Giordano et al. (2012)	GnRH 48h após PGF	-	28-30h após segunda aplicação de GnRH (28,6 ±0,3h)
Liu et al. (2018)	GnRH 48h após PGF	-	28-30h após aplicação de GnRH (29,3±0,5h)
Berber et al. (2002)	GnRH 48h após PGF	-	26,5±9,6h após aplicação de GnRH
Berber et al. (2002)	LH 48h após PGF	-	24,4±7,9h após aplicação de LH
Pancarci et al. (2002)	<i>Heatsynch</i> , ECP 24h após PGF	-	48-72h após aplicação de ECP (55,4±2,7h)
Stevenson et al. (2004)	<i>Heatsynch</i> , ECP 24h após PGF	-	60-65h após aplicação de ECP (59±2h)
Ambrose et al. (2001)	GnRH 24h após remoção P4	8 dias	48-60h após remoção P4
Ambrose et al. (2001)	LH 24h após remoção P4	8 dias	48-168h após remoção P4
Hanlon et al. (1997)	BE 24h após remoção P4	12 dias	64h após aplicação de BE
Pfeifer et al. (2014)	BE 24h após remoção P4	9 dias	69h após remoção P4 (69,82±3,23h)
Pfeifer et al. (2014)	PGF 24h após remoção P4	9 dias	73h após remoção P4 (73,1±3,23h)
Pfeifer et al. (2016)	BE 24h após remoção P4	9 dias	66-78h após remoção P4 (71,1±1,6h)
Pfeifer et al. (2016)	PGF 24h após remoção P4	9 dias	66-120h após remoção P4 (84,0±5,6h)
Ambrose et al. (2001)	ECP no momento retirada P4	8 dias	48-84h após remoção P4

\* Para obter o protocolo hormonal completo, consultar o estudo citado.

## 2.2 Artigo 2

### **Efeito da prostaglandina e anti-inflamatório não esteroidal sobre a esteroidogênese no período pré-ovulatório em vacas**

C.A. D'Avila, F.C. Oliveira, S.F. Vargas Jr, C.S. Haas, F. B. Moraes, B.G. Gasperin,  
T. Lucia Jr

Artigo será submetido a revista Animal Reproduction

**Efeito da prostaglandina sobre os níveis de estradiol e progesterona intra-folicular  
no período pré-ovulatório em vacas**

Camila Amaral D'Avila<sup>1</sup>, Fernando Caetano de Oliveira<sup>1</sup>, Sérgio Farias Vargas Júnior<sup>1</sup>,  
Cristina Sangoi Haas<sup>1</sup>, Fabiane Pereira de Moraes<sup>1</sup>, Bernardo Garziera Gasperin<sup>1</sup>,  
Thomaz Lucia Júnior<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), Campus  
Universitário, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil. E-mail: tluciajr@gmail.com \*autor  
correspondente

**Resumo**

Objetivou-se avaliar o efeito da prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF) aplicada sistemicamente no processo ovulatório e testar se a PGF é capaz de reverter os efeitos inibitórios de um anti-inflamatório não esteroideal (AINE) na ovulação induzida pelo hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Vacas tiveram a onda folicular sincronizada com benzoato de estradiol (D0), dispositivo intravaginal de progesterona (P4) (DIVP4; 9 dias) e aplicação de PGF (cloprostenol sódico, 241µg; i.m.) no D8. No experimento 1, após 12h da retirada do DIVP4, as vacas (n=19) foram alocadas em três grupos: controle: solução salina 0,9% i.m (n=6); GnRH: 100µg de acetato de gonadorelina i.m (n=7); e PGF: 500µg de cloprostenol sódico i.m. (n=6). Os folículos foram aspirados 24 h após os tratamentos. Não foi observada diferença significativa (P>0,05) nas concentrações de P4 no fluido folicular (FF). Os níveis de estradiol (E2) no FF não diferiram entre os grupos controle e PGF, mas foram menores no GnRH (P<0,05). No experimento 2, aplicou-se GnRH



(acetato de gonadorelina; 100 $\mu$ g i.m.) 20h após a remoção do DIVP4 (hora 0), em todos os animais. Imediatamente após, as vacas foram alocadas em três grupos: controle: solução salina 0,9% i.m (n=6); AINE: 2,2mg/kg i.m. de flunixin meglumine (FM) 17h após GnRH (n=6); e grupo AINE+PGF, 2,2mg/kg i.m. de FM 17h após aplicação de GnRH e 25mg i.m. de PGF (Dinoprost trometamina) 23h após GnRH (n=6). Menores concentrações de P4 no FF e menor vascularização da parede folicular foram observados no grupo AINE+PGF ( $P<0,05$ ) 24h após GnRH. Os tratamentos não afetaram significativamente os níveis de E2. Conclui-se que a administração de PGF não induz os mesmos efeitos observados sobre a esteroidogênese após o tratamento com GnRH.

Palavras-chave: luteinização; esteroidogênese; foliculogênese.

### **Introdução:**

A eficiência reprodutiva em propriedades é um fator muito importante para gerar satisfatório retorno econômico. Nesse sentido, o uso de biotecnologias reprodutivas como a inseminação artificial (IA) e inseminação artificial em tempo fixo (IATF) permite otimizar a reprodução na propriedade. Os protocolos de sincronização para a IATF geralmente se iniciam com a aplicação de um implante intravaginal de progesterona (P4) para simular a fase luteal, em conjunto com benzoato de estradiol (BE), para ocorrer emergência de nova onda folicular (Macmillan & Peterson, 1993; Baruselli et al., 2006). Ao final do período de suplementação de progestágeno (geralmente de 7 a 9 dias) são administrados análogos de prostaglandina F $2\alpha$  (PGF) para promover a luteólise e um indutor de ovulação como ésteres de estradiol ou análogos de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) (Pfeifer et al., 2014).

O uso de PGF com o objetivo de promover a luteólise foi estabelecido há décadas (Kindahl et al., 1976; Tsai and Wiltbank, 1997; Ireland and Roche, 1982; Silvia et al.,

1991). Embora sua ação principal seja como agente luteolítico, estudos sugerem efeitos sobre o desenvolvimento folicular em novilhas (Leonardi et al., 2012), ovulação em vacas (Castro et al., 2018; Pfeifer et al., 2014; Pfeifer et al., 2016), ovelhas (Davies et al., 2006), éguas (Aguilar et al., 2018) e leitoas (Hunter and Poyser, 1985; Downey and Ainsworth, 1980; Srikandakumar and Downey, 1989). Apesar de todas estas evidências, os mecanismos envolvidos no efeito da PGF na ovulação são desconhecidos.

As prostaglandinas quimicamente são parte de um grupo chamado eicosanóides, derivados do ácido araquidônico e liberado a partir de fosfolipídios de membrana de células lesadas, por ação catalítica da fosfolipase A2 que dá início a cascata do ácido araquidônico. As enzimas cicloxigenases (COX-1 e COX-2) participam do processo de metabolização em etapas sequenciais das prostaglandinas (Monteiro et al., 2008; Moses and Bertone 2002). Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) amplamente utilizados na medicina veterinária atuam na inibição das enzimas COX-1 e COX-2 (Moses and Bertone 2002). Desse modo a utilização de AINES pode afetar a produção de prostaglandinas. Nos momentos próximos a ovulação a expressão de COX-2 e de prostaglandinas no fluido folicular atingem seus níveis máximos. A expressão de mRNA para COX-2 e a concentração de prostaglandina E (PGE) e PGF aumenta somente horas antes da ovulação (Bridges et al., 2007; Sirois 1994).

O fato de que as prostaglandinas são indispensáveis para a ovulação foi demonstrado em bovinos e suínos através da administração de AINES imediatamente antes da ovulação. Em leitoas, a ovulação foi inibida após tratamento com indometacina, o que foi revertido após tratamento com PGF, enquanto que a PGE não foi eficaz em induzir ovulação (Downey and Ainsworth, 1980). O uso de AINES também afetou o processo ovulatório em mulheres (Priddy et al., 1990), vacas (De Silva and Reeves, 1985)

e éguas (Cuervo-Arango and Domingo-Ortiz, 2011). Portanto, o uso de AINEs durante o período pré-ovulatório pode representar um bom modelo para se estudar a função das prostaglandinas na indução da ovulação.

Com base nas considerações apresentadas, formulou-se a hipótese que a aplicação i.m de prostaglandina F2 $\alpha$  altera o processo ovulatório em bovinos, afetando a luteinização e vascularização folicular. Desta forma os objetivos deste estudo foram: (1) avaliar o efeito da prostaglandina F2 $\alpha$  aplicada intramuscular (i.m) durante o processo ovulatório em comparação com o GnRH; e (2) avaliar se o tratamento com PGF é capaz de reverter os efeitos inibitórios de um anti-inflamatório não esteroideal na ovulação induzida pelo GnRH.

### **Metodologia:**

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

### **Experimento 1:**

Para testar a hipótese de que a aplicação i.m de PGF estimula eventos relacionados ao processo ovulatório em bovinos, objetivou-se avaliar o efeito da PGF aplicada i.m. em vacas no período pré-ovulatório. Foram utilizadas 19 vacas adultas das raças Jersey e Holandês, cíclicas, não lactantes e não gestantes, com condição corporal acima de 2,5 (escala de 1-5). Todos os animais foram mantidos em campo nativo com livre acesso a sal mineral e água.

Conforme mostrado na Figura 1, a onda folicular foi sincronizada com aplicação de benzoato de estradiol (Gonadiol®, Zoetis, Brasil; 2 mg. i.m.) no D0, simultaneamente à inserção de um dispositivo intravaginal (DIV, Sincrogest®, Ourofino, Brasil) contendo 1 g de P4, juntamente com a aplicação de 241  $\mu$ g de PGF (cloprostenol sódico) (Estron®,

Agener União, Brasil), i.m. Ainda no D0, os folículos com diâmetro maior que 8 mm foram puncionados. No D8, foi feita a aplicação i.m. de 241 µg de PGF (cloprostenol sódico) (Estron®, Agener União, Brasil), com o objetivo de remover possíveis fontes de P4 endógena. Os folículos foram acompanhados diariamente por ultrassonografia transretal (SonoScape A5V, com sonda de 7,5 MHz) do D7 ao D11, para identificação dos folículos dominantes saudáveis. O DIV foi mantido por 9 dias, para que os folículos atingissem aproximadamente 12 mm de diâmetro, e tivessem capacidade de responder ao pico de LH induzido por GnRH (Sartori et al., 2001). Para evitar um pico de LH endógeno prévio ao tratamento, 12 h após a retirada do DIV as vacas foram alocadas a três grupos: controle, que recebeu aplicação de solução salina 0,9% i.m. (n = 6); GnRH, que recebeu 100 µg de acetato de gonadorelina (Gestran Plus®, Tecnopec, Brasil) i.m. (n = 7); e PGF, que recebeu 500 µg de cloprostenol sódico (Ciosin®, MSD Saúde Animal, Brasil) i.m. (n = 6). O diâmetro dos folículos pré-ovulatórios foi equilibrado entre os grupos para que todos tivesse o diâmetro mais semelhante possível.

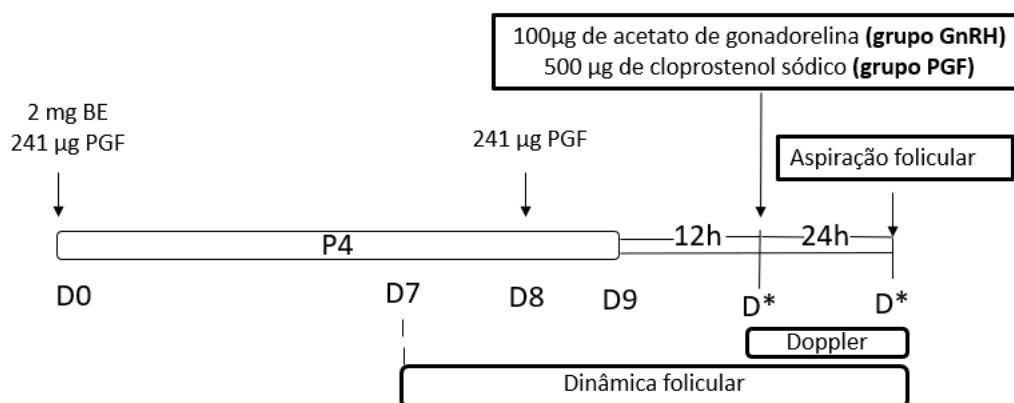


Figura 1: Desenho experimental do Experimento 1

Para a coleta das amostras, as vacas foram submetidas à limpeza perineal e anestesia epidural com 80 mg de lidocaína (Anestex Fagra®, Vétoquinol, Brasil). A aspiração folicular foi realizada através de ultrassonografia transvaginal (PieMedical esaote AguilaVet, equipado com sonda micro convexa de 6MHz), utilizando um sistema estéril de mangueiras e cateteres 16 G (Jelco®). O conteúdo aspirado foi imediatamente centrifugado a 3500 rpm por 7 min para separação das células e do fluido folicular, que foram armazenados em nitrogênio líquido.

### **Experimento 2:**

Para testar a hipótese de que a aplicação intramuscular de anti-inflamatório não esteroideal retarda ou impede o processo ovulatório, objetivou-se avaliar a esteroidogênese e a vascularização folicular comparando o uso de AINE associado ou não ao tratamento com prostaglandina após aplicação de GnRH. Foram utilizadas 18 vacas adultas da raça Jersey, cíclicas, não lactantes e não gestantes, com condição corporal igual ou superior a 3 (escala de 1-5). As vacas foram mantidas em campo nativo, com acesso livre a sal mineral e água.

O protocolo hormonal utilizado para sincronização da onda folicular foi o mesmo usado no Experimento 1. Os folículos foram acompanhados diariamente por ultrassonografia transretal (SonoScape A5V com com sonda de 7,5 MHz), desde o D7 até o D11, para identificação dos folículos dominantes saudáveis. O DIV foi mantido por 9 dias, até que os folículos em crescimento atingissem pelo menos 12 mm de diâmetro e tivessem capacidade de responder ao pico de LH (Sartori et al., 2001). Foi realizada a aplicação de 100 µg de GnRH (acetato de gonadorelina; Gestran Plus® - TecnoPec), i.m., 20 h após a remoção do DIV (hora 0). Após a aplicação de GnRH, as vacas foram alocadas a três tratamentos: controle, que receberam solução salina 0,9% i.m (n = 6); AINE, que

receberam 2,2 mg/kg de flunixin meglumine (Flumedin®, Jofadel, Brasil) i.m., 17 h após a aplicação de GnRH (n=6); e AINE+PGF, que receberam 2,2 mg/kg de flunixin meglumine (Flumedin®, Jofadel, Brasil) i.m., 17 h após a aplicação de GnRH, seguidos de 25 mg de PGF (Dinoprost trometamina) (Lutalyse®, Pfizer, Brasil), i.m., 23 h após a aplicação de GnRH (n=6) (Figura 2). A aplicação de AINE após GnRH foi para que não houvesse nenhuma possível inibição de prostaglandinas e que a cascata ovulatória fosse normalmente induzida pelo GnRH sendo o mais fisiológico possível. Além disso, o momento de aplicação de AINE 17h após GnRH foi devido a meia vida do fármaco e também devido ao aumento intrafolicular de prostaglandinas que corre aproximadamente entre 18-24h horas após aplicação de gonadotrofinas (Algire et al., 1992). O diâmetro dos folículos pré-ovulatórios foi equilibrado entre os grupos para que todos tivesse o diâmetro mais semelhante possível.

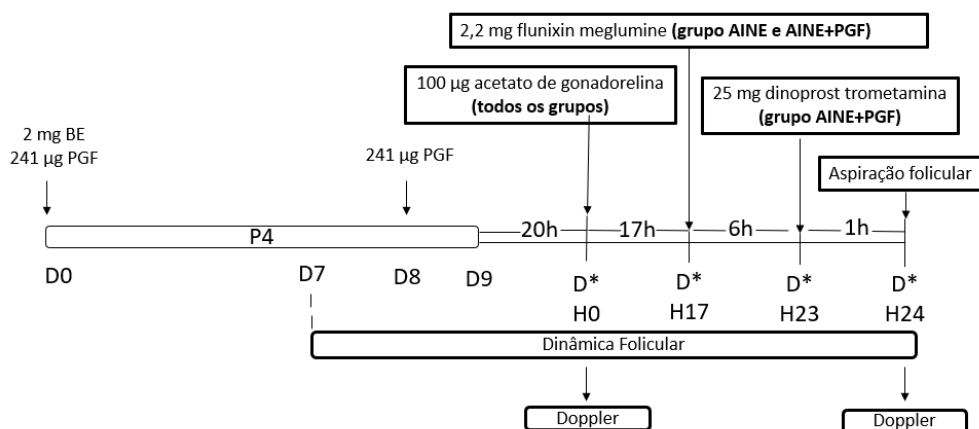


Figura 2: Desenho experimental do Experimento 2

Os folículos tiveram o fluxo sanguíneo avaliado por ultrassonografia transretal doppler colorido (Mindray M5 com sonda linear de 6,5 MHz) no momento da aplicação do GnRH e 24h após. As imagens dos folículos foram obtidas a partir de avaliações com

máxima intensidade de cor e com foco na imagem em que o folículo demonstrou diâmetro mais amplo. A avaliação realizada foi subjetiva com escores de 1-5 de acordo com Ginther & Utt (2004) com adaptações. Os procedimentos de aspiração folicular e armazenagem das amostras foram realizados conforme descrito no experimento 1.

#### **Dosagens hormonais:**

As amostras de fluido folicular provenientes dos folículos pré-ovulatórios foram centrifugadas e armazenadas em microtubos a  $-196^{\circ}\text{C}$ . As dosagens de P4 e E2 do fluido folicular foram realizadas através da técnica de quimioluminescência em laboratório comercial.

#### **Análise estatística:**

Os valores obtidos para as concentrações de E2 e P4 no fluido folicular foram testados quanto à normalidade e normalizados quando necessário. As comparações entre os grupos foram realizadas através de análise de variância (ANOVA) seguida do teste t de Student utilizando um nível de significância de 5%.

A avaliação da vascularização folicular foi conduzida por três técnicos treinados, em ordem aleatória e as cegas (sem o conhecimento das avaliações feitas pelos demais técnicos). Posteriormente, a mediana dos três escores foi calculada e comparada entre os tratamentos através de análise de variância de Kruskal-Wallis para métodos não paramétricos.

#### **Resultados:**

##### **Experimento 1:**

Não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) nas concentrações de P4 (Figura 3) no fluido folicular, tendo sido observados:  $226,7 \pm 70,8$  ng/mL no grupo controle;  $606,3 \pm 185,0$  ng/mL no grupo GnRH; e  $270,7 \pm 119,4$  ng/mL no grupo PGF.

Os níveis de E2 no fluido folicular (Figura 3) não diferiram entre o grupo controle ( $467,5 \pm 80,9$  pg/mL) e o grupo PGF ( $456,1 \pm 93,9$  pg/mL). Por outro lado, o grupo GnRH apresentou menor concentração de E2 ( $83,3 \pm 24,1$  pg/mL,  $P < 0,05$ ).

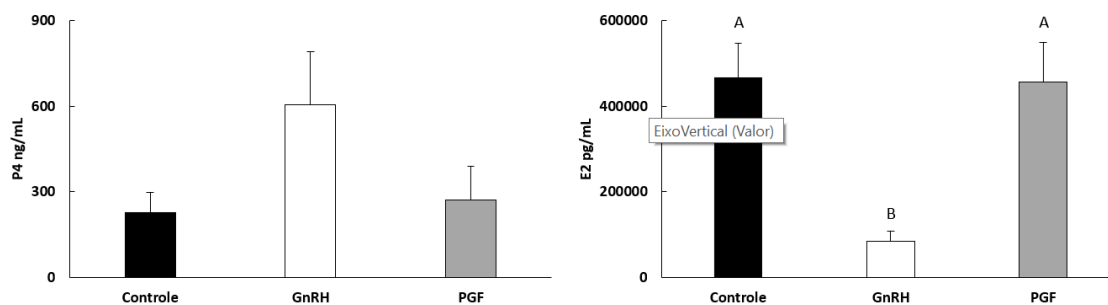


Figura 3: Concentração de progesterona (A) e estradiol (B) no fluido folicular (Experimento 1)\*

\*Controle: solução salina 0,9% (n = 6);

GnRH: 100  $\mu$ g de acetato de gonadorelina (n = 7);

PGF: 500  $\mu$ g de cloprostenol sódico (n = 6);

<sup>A,B</sup>Médias com expoentes distintos diferem ( $P = 0,001$ ).

## Experimento 2:

Os níveis de P4 no fluido folicular no grupo AINE+PGF ( $305,3 \pm 24,6$  ng/mL) foram menores ( $P = 0,06$ ) em comparação com os grupos controle ( $477,5 \pm 80,8$  ng/mL) e AINE ( $344,9 \pm 31,7$  ng/mL) (Figura 4). Os tratamentos não afetaram as concentrações de E2 ( $P > 0,05$ ), sendo observados  $93,9 \pm 17,5$  pg/mL no grupo controle,  $95,2 \pm 12,1$  pg/mL no grupo AINE+PGF e  $81,6 \pm 24,3$  pg/mL no grupo AINE (Figura 4).

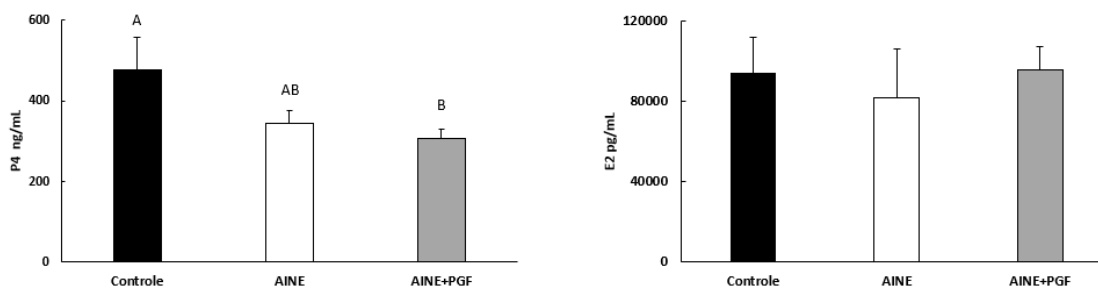




Figura 4: Concentração de progesterona (A) e estrogênio (B) no fluido folicular (Experimento 2)\*

\*Controle: solução salina 0,9% i.m (n = 6);

AINE+PGF: 2,2 mg/kg de flunixin meglumine 17 h após a aplicação de GnRH e 25 mg de PGF, 23 h após a aplicação de GnRH (n=6);

AINE: 2,2 mg/kg de flunixin meglumine 17 h após a aplicação de GnRH (n = 6);

<sup>A,B</sup>Médias com expoentes distintos diferem (P = 0,06).

Na figura 5 são demonstradas imagens da avaliação com ultrassonografia Doppler colorido em cada grupo, 24 h após a aplicação de GnRH. As imagens são do momento de maior vascularização de cada vaca, obtidas após análise de cada vídeo formado no momento da avaliação. Na figura 6 observa-se o grau de vascularização no momento 0h e 24h após GnRH.

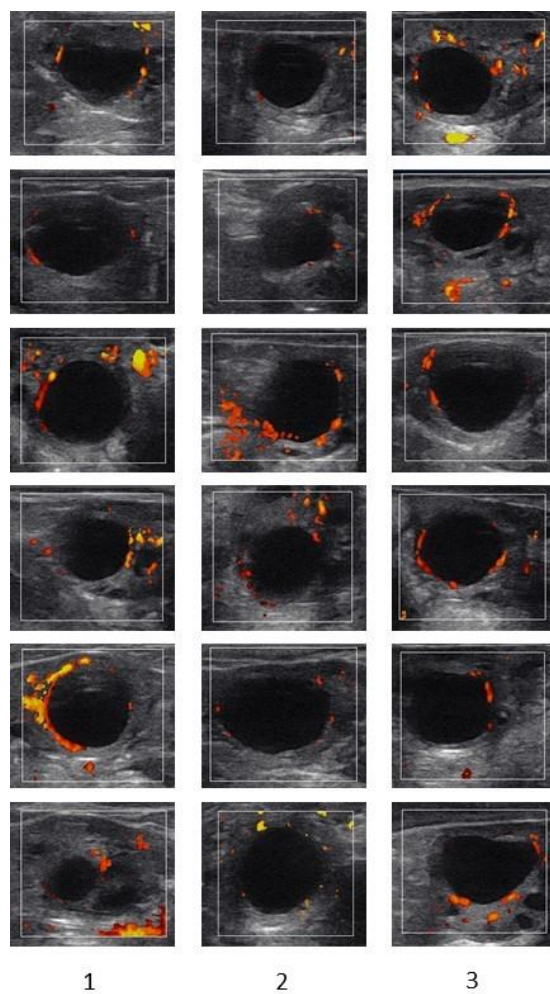


Figura 5: Imagens da avaliação com doppler 24 h após aplicação de GnRH\*

\*(1) Controle: solução salina 0,9% (n = 6);

(2) AINE+PGF: 2,2 mg/kg de flunixin meglumine 17 h após a aplicação de GnRH e 25 mg de PGF, 23 h após a aplicação de GnRH (n=6);

(3) AINE: 2,2 mg/kg de flunixin meglumine 17 h após a aplicação de GnRH (n = 6).

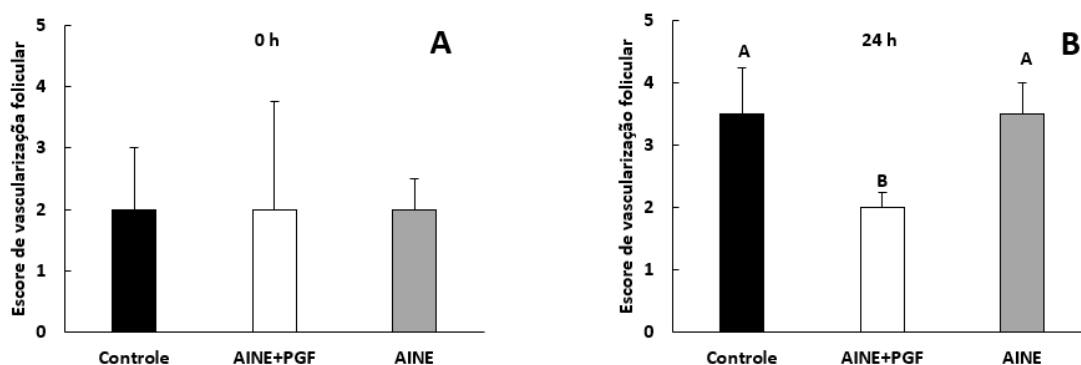


Figura 6: Grau de vascularização folicular no momento da aplicação dos tratamentos (0 h) e 24 h após\*

\*(1) Controle: solução salina 0,9% (n = 6);

(2) AINE+PGF: 2,2 mg/kg de flunixin meglumine 17 h após a aplicação de GnRH e 25 mg de PGF, 23 h após a aplicação de GnRH (n=6);

(3) AINE: 2,2 mg/kg de flunixin meglumine 17 h após a aplicação de GnRH (n = 6).

## Discussão

O primeiro estudo foi delineado para avaliar se uma aplicação de PGF é capaz de induzir alterações no ambiente folicular compatíveis com as observadas após o tratamento com GnRH, potente indutor de ovulação. Não foi observada diferença entre os grupos em relação à concentração de P4 no FF. Em relação a concentração de E2 observou-se uma diminuição no grupo tratado com GnRH em relação aos demais. O GnRH age diretamente na hipófise e é responsável pela liberação do hormônio luteinizante (LH), sendo que o pico de LH resultante induz uma série de alterações que desencadeiam na ovulação e liberação de um oócito capacitado para ser fecundado (Espey, 1980). Em vacas, o pico de LH ocorre 2h após a aplicação de GnRH (Komar et al., 2001) sendo que, após o pico de LH, observa-se uma inversão nos níveis de esteroides no FF, ocorrendo aumento na concentração de P4 e diminuição nos níveis de E2, o que caracteriza o processo de luteinização pré-ovulatória (Komar et al., 2001). Os níveis de E2 no fluido folicular diminuem gradativamente após a aplicação de GnRH, devido à queda na expressão da enzima esteroidogênica CYP19A1 (Komar et al., 2001; Santos et al., 2011). Portanto,

ossos dados demonstram que a PGF não foi capaz de induzir as alterações observadas no grupo GnRH, no qual o pico de LH resultante promoveu a diferenciação e luteinização das células da granulosa (Robinson et al., 2008).

A avaliação com a ultrassonografia doppler demonstrou que na hora 0 (aplicação GnRH) não houve diferença entre os grupos na vascularização folicular, porém, na hora 24, observou-se uma diferença entre os grupos, o grupo AINE+PGF apresentou menor vascularização folicular e os grupos Controle e AINE não diferiram entre si. Uma menor vascularização era esperada no grupo AINE, uma vez que, em éguas, a aplicação de flunixin meglumine, o mesmo AINE utilizado no presente estudo, bloqueou a ovulação induzida por hCG (Cuervo-Arango and Domingo-Ortiz, 2011). Outros AINEs como Meloxicam e Fenilbutazona também inibiram a ovulação induzida por deslorelina em éguas (92% e 83% de bloqueio, respectivamente) (Lima et al., 2015). Ainda, a aplicação de doses terapêuticas de Fenilbutazona após o uso de deslorelina atrasou, mas não bloqueou, o processo de ovulação em éguas (Larentis et al., 2018). Em vacas, a administração de indometacina intraovariana bloqueou a ovulação (De Silva and Reeves, 1985), enquanto que, em mulheres, a administração de indometacina causou atraso na ruptura folicular (Athanasίου et al., 1996). Nesse sentido, recentemente foi demonstrado que a indometacina pode ser usada de forma segura e eficaz para prevenir ovulações prematuras em mulheres submetidas a protocolos de superestimulação ovariana após o uso de hCG e GnRH, o que poderia aumentar o número de oócitos obtidos através de aspiração folicular (Cheng and Li, 2018). O motivo pelo qual, em nosso estudo, as vacas tratadas com AINE e PGF apresentaram menor vascularização é desconhecido. Pode-se especular que a PGF alterou o processo ovulatório, sendo necessário repetir o

delineamento observando o momento da ovulação para concluir se houve uma antecipação, atraso ou bloqueio do processo ovulatório.

Apesar de nossos resultados demonstrarem que o nível de P4 foi mais baixo nos grupos tratados com AINE e que o tratamento com PGF não foi capaz de reverter o efeito inibitório, outros estudos demonstraram a capacidade da PGF em induzir a ovulação. A aplicação exógena de análogo de PGF foi associada com ovulação em novilhas pré-púberes, independentemente do uso de progesterona exógena como pré-tratamento (Leonardi et al., 2012). O processo ovulatório foi independente da luteólise, visto que as novilhas pré-púberes ovularam 94h após o tratamento com cloprostenol (Leonardi et al., 2012). Além disso, a aplicação de análogo da PGF 24h após a remoção da fonte exógena de P4 pode ser utilizada para induzir ovulação de forma sincronizada em novilhas (Pfeifer et al., 2014). Recentemente, ao comparar o uso de PGF e BE como indutores da ovulação na IATF de vacas leiteiras no pós-parto, foi demonstrado que a PGF promoveu a indução sincronizada da ovulação, sendo um potencial indutor de ovulação (Pfeifer et al., 2016). Ainda, ao comparar o uso de PGF como indutor da ovulação em protocolos utilizando GnRH e progesterona, demonstrou-se que a PGF foi tão eficaz quanto o ECP e também permitiu que o folículo pré-ovulatório alcançasse um maior diâmetro (Castro et al., 2018). Corroborando com os dados obtidos em bovinos, em éguas a injeção intrafolicular de PGE e PGF adiantou a ovulação em 50h, quando comparado ao grupo controle (Aguilar et al., 2018).

O mecanismo pelo qual a PGF induz a ovulação não está totalmente claro, mas sugere-se que seja por efeitos locais e/ou centrais. Sugere-se que PGF tenha ação no eixo hipofisário-hipotalâmico, podendo aumentar a capacidade de resposta da hipófise ao GnRH, uma vez que demonstrou-se um aumento na frequência de liberação de LH 6h

após o tratamento com um análogo de PGF em vacas que estavam em anestro pós-parto (Randel et al., 1996). Outro estudo com ovelhas em anestro relatou que a aplicação de PGF causou ovulação devido a um efeito direto a nível ovariano, sem ter relação com a diminuição nos níveis de progesterona (Davies et al., 2006). Em touros, a injeção subcutânea de PGF aumentou as concentrações de LH (Kiser et al., 1976). Porém, em outro trabalho foi demonstrado que a PGF inibiu a secreção de LH em células hipofisárias de ratos (Naor et al., 2007). Além deste efeito na regulação de gonadotrofinas estudos relatam que a PGF tem um efeito local no ovário. Prostaglandinas produzidas pelas células da granulosa (PGE<sub>2</sub> e PGF) agem diretamente no folículo pré-ovulatório (Bridges and Fortune, 2003), sendo que a PGF secretada pelo folículo pré-ovulatório está intimamente ligada à ruptura do estigma ovulatório (Murdoch et al., 1993). A cicloxigenase 2 (PTGS2) regula a taxa de produção de prostaglandinas. Aproximadamente 10h antes da ruptura do folículo dominante, ocorre um aumento da expressão de PTGS2 nas células da granulosa e há um aumento na concentração de prostaglandinas. A deleção do gene PTGS2 em camundongas diminuiu o número de ovulações por ovário (Lim et al., 1997). Após o pico de LH demonstrou-se aumento da isoforma PGHS2 em folículos pre-ovulatórios de bovinos e também aumento no FF de PGE e PGF2 $\alpha$  (Liu et al., 1997).

A ultrassonografia Doppler associada com a ultrassonografia tradicional é capaz de prover informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e as características hemodinâmicas dos vasos, permitindo avaliar a presença e direção do fluxo sanguíneo (Carvalho et al., 2008). Na nossa avaliação ultrassonográfica foi utilizado o modo Doppler colorido em que as diferenças de frequências são visualizadas de forma colorida no monitor, em tons de vermelho a amarelo e azul a verde, em uma imagem de modo B

convencional, que nada mais é que uma imagem preto e cinza. As avaliações do modo doppler colorido podem ser subjetivas em escalas de 0-4 (Silva and Ginther, 2010), (Silva et al., 2005) ou objetivas através de softwares desenvolvidos que baseiam-se na quantidade de pixels coloridos (Pugliesi et al., 2017). A avaliação realizada foi subjetiva, conforme Ginther & Utt (2004), com adaptações. Observou-se que houve diferença entre os grupos apenas na hora 24, o grupo AINE+PGF apresentou menor vascularização. Sabe-se que durante o processo de ovulação ocorre aumento do fluxo sanguíneo, o qual parece ser controlado pela prostaglandina E2 (PGE2) (Martin and Ferreira, 2009). Em vacas a ultrassonografia Doppler modo colorido foi eficiente para demonstrar a divergência da vascularização de paredes de folículos ovulatórios quando comparados com folículos não ovulatórios (Acosta et al., 2003). Em nossos estudos foi realizada aplicação de PGF a qual já foi atribuída funções de contração e vasoconstrição (Martin and Ferreira, 2009; Trevisol et al., 2013). Porém qual prostaglandina é essencial para ovulação ainda demonstra resultados controversos. Em porcas a aplicação de indometacina, um AINE, foi revertida pela aplicação de PGF (Downey and Ainsworth, 1980), o que também foi observado em coelhas (Diaz-Infante Jr et al., 1974). Já em ratos o bloqueio causado pela indometacina foi revertido pela aplicação de PGE (Tsafriri et al., 1973). Estes estudos demonstram que as prostaglandinas parecem ter ação específica em cada espécie.

### **Conclusão**

Baseado nos resultados obtidos a prostaglandina não foi efetiva como indutor da ovulação quando comparada ao tratamento com GnRH. A administração intramuscular de AINE afetou a síntese de progesterona em folículos pré-ovulatórios in vivo, sugerindo-se utilizar estes fármacos com cautela quando associado a programas reprodutivos. O

nível de progesterona foi mais baixo nos grupos tratados com AINE, mas o tratamento com PGF não foi capaz de reverter este efeito inibitório. Mais estudos in vivo sobre o efeito da prostaglandina no controle da síntese de esteroides são necessários.

#### Referências:

**Acosta TJ, Hayashi KG, Ohtani M, Miyamoto A.** 2003. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reproduction*, 125:759-767.

**Aguilar J, Castañeira C, Alonso C, Flores A, Marín J, Cuervo-Arango J, Martínez-Boví R, Mouguelar H, Losinno L.** 2018. Intrafollicular Injection of Prostaglandins in the Preovulatory Follicle of the Mare. *Journal of Equine Veterinary Science*, 66:183.

**Algire JE, Srikanthakumar A, Guilbault LA, Downey BR.** 1992. Preovulatory changes in follicular prostaglandins and their role in ovulation in cattle. *Can J Vet Res*, 56(1):67-69.

**Athanasiou S, Bourne TH, Khalid A, Okokon EV, Crayford TJB, Hagstrom HG, Campbell S, Collins WP.** 1996. Effects of indomethacin on follicular structure, vascularity, and function over the periovulatory period in women. *Fertil Steril*, 65:556-560.

**Baruselli, PS, Ayres H, Souza AH, Martins CM, Gimenes LU, Torres-Júnior JRS.** 2006. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. *Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada*, 2:113-132.

**Bridges PJ, Fortune JE.** 2007. Regulation, action and transport of prostaglandins during the periovulatory period in cattle. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 263:1-9.

**Bridges PJ, Fortune JE.** 2003. Progesterone mediates gonadotrophin induced secretion of prostaglandins E and F<sub>2a</sub> (PGE, PGF) by follicular cells from bovine preovulatory follicles. *Biology of Reproduction*, 68(1):47.

**Carvalho CF, Chammas MC, Cerri GG.** 2008. Princípios físicos do Doppler em ultrasonografia. *Ciência Rural*, 38:872-879.

**Castro NA, Neves PMA, Cestaro JP, Melo VTO, Schneider A, Pfeifer LFM.** 2018. Use of prostaglandin F<sub>2α</sub> as ovulatory stimulus for synchronizing dairy cattle. *Research in Veterinary Science*, 118:151-154.

**Cheng HY, Li HY.** 2018. Successful prevention of follicular rupture at 45 h after hCG and GnRHa triggering by emergent administration of indomethacin: A case report. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 57:760-762.



**Cuervo-Arango J, Domingo-Ortiz R.** 2011. Systemic treatment with high dose of flunixin-meglumine is able to block ovulation in mares by inducing hemorrhage and luteinisation of follicles. *Theriogenology*, 75:707-714.

**Davies KL, Bartlewski PM, Epp T, Duggavathi R, Barrett DMW, Bagu ET, Cook SJ, Rawlings NC.** 2006. Does injection of prostaglandin F(2alpha) (PGF2alpha) cause ovulation in anestrous Western White Face ewes? *Theriogenology*, 66:251-259.

**De Silva M, Reeves JJ.** 1985. Indomethacin inhibition of ovulation in the cow. *Journal of reproduction and fertility*, 75:547-549.

**Diaz-Infante Jr A, Wright KH, Wallach EE.** 1974. Effects of indomethacin and prostaglandin F2 $\alpha$  on ovulation and ovarian contractility in the rabbit. *Prostaglandins*, 5:567-581.

**Downey BR, Ainsworth L.** 1980. Reversal of indomethacin blockade of ovulation in gilts by prostaglandins. *Prostaglandins*, 19:17-22.

**Espey LL.** 1980. Ovulation as an inflammatory reaction--a hypothesis. *Biol Reprod*, 22:73-106.

**Fortune JE, Willis EL, Bridges PJ, Yang CS.** 2009 The periovulatory period in cattle: progesterone, prostaglandins, oxytocin and ADAMTS proteases. *Animal reproduction/Colegio Brasileiro de Reproducao Animal*, 6:60-71.

**Ginther OJ, Utt MD.** 2004. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. *Journal of Equine Veterinary Science*, 24:516-526.

**Hamada Y, Bronson RA, Wright KH, Wallach EF.** 1977. Ovulation in the Perfused Rabbit Ovary: The Influence of Prostaglandins and Prostaglandin Inhibitors. *Biology of Reproduction*, 17:58-63.

**Hunter R, Poyser N.** 1985. Ovarian follicular fluid concentrations of prostaglandins E<sub>2</sub>, F<sub>2</sub> $\alpha$  and I<sub>2</sub> during the pre-ovulatory period in pigs. *Reproduction Nutrition Développement*, 25:909-917.

**Ireland JJ, Roche JF.** 1982. Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis: changes in serum hormones, steroids in follicular fluid, and gonadotropin receptors. *Endocrinology*, 111:2077-2086.

**Jo M, Komar CM, Fortune JE.** 2002. Gonadotropin surge induces two separate increases in messenger RNA for progesterone receptor in bovine preovulatory follicles. *Biol Reprod*, 67(6):1981-8.

**Kindahl H, Edqvist LE, Granström E, Bane A.** 1976. The release of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  as reflected by 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers. *Prostaglandins*, 11:871-878.

**Kiser TE, Hafs HD, Oxender WD.** 1976 Increased blood LH and testosterone after administration of prostaglandin F2alpha in bulls. *Prostaglandins*, 11:545-553.

**Komar CM, Berndtson AK, Evans ACO, Fortune JE.** 2001. Decline in circulating estradiol during the periovulatory period is correlated with decreases in estradiol and androgen, and in messenger RNA for p450 aromatase and p450 17alpha-hydroxylase, in bovine preovulatory follicles. *Biol Reprod*, 64:1797-1805.

**Larentis GR, Bastos HBA, Camozzato GC, Santos GO, Mattos RC.** 2018. Do Therapeutic Doses of Phenilbutazone Affect Ovulation Processes in Mares? *Journal of Equine Veterinary Science*, 66:150-151.

**Leonardi CEP, Pfeifer LFM, Rubin MIB, Singh J, Mapletoft RJ, Pessoa GA, Bainy AM, Silva CAM.** 2012. Prostaglandin F2alpha promotes ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology*, 78:1578-1582.

**Lim H, Paria BC, Das SK, Dinchuk JE, Langenbach R, Trzaskos JM, Dey SK.** 1997. Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. *Cell*, 91:197-208.

**Lima AG, Costa LCB, Alvarenga MA, Martins CB.** 2015. Does Clinical Treatment with Phenylbutazone and Meloxicam in the Pre-ovulatory Period Influence the Ovulation Rate in Mares? *Reprod Domest Anim*, 50:771-775.

**Liu J, Carriere PD, Dore M, Sirois J.** 1997. Prostaglandin G/H synthase-2 is expressed in bovine preovulatory follicles after the endogenous surge of luteinizing hormone. *Biol Reprod*, 57:1524-1531.

**Macmillan KL, Peterson, AJ.** 1993. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrus synchronization, increasing pregnancy rate and the treatment of post-partum anestrus. *Animal Reproduction Science*, 33:1-25, 1993.

**Martin I, Ferreira JCP.** 2009. Fisiologia da ovulação e da formação do corpo lúteo bovino. *Veterinária e Zootecnia*, 16:270-279.

**Monteiro ECA, Trindade JMF, Duarte ALBP, Chahade WH.** 2008. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). *Temas de reumatologia clínica*, 9:2.

**Moses VS, Bertone AL.** 2002. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Vet Clin Equine*, 18:21-37.

**Murdoch WJ, Hansen TR, McPherson LA.** 1993. A review--role of eicosanoids in vertebrate ovulation. *Prostaglandins*, 46:85-115.

**Naor Z, Jabbour HN, Naidich M, Pawson AJ, Morgan K, Battersby S, Millar MR, Brown P, Millar RP.** 2007. Reciprocal cross talk between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin receptors regulates GnRH receptor expression and differential gonadotropin secretion. *Mol Endocrinol*, 21:524-537.

**Pfeifer LFM, Siqueira LGB, Arashiro EKN, Castro NA, Viana JHM.** 2016, Prostaglandin F2 $\alpha$  or estradiol benzoate to induce ovulation in timed artificially inseminated dairy cows. *Pesq. agropec. bras.*, 51:738-744.

**Pfeifer LFM, Leonardi CEP, Castro NA, Viana JHM, Siqueira LGG, Castilho EM, Singh J, Krusser RH, Rubin MIB.** 2014. The use of PGF2alpha as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. *Theriogenology*, 81:689-695.

**Priddy AR, Killick SR, Elstein M, Morris J, Sullivan M, Patel L, Elder M.** 1990 The effect of prostaglandin synthetase inhibitors on human preovulatory follicular fluid prostaglandin, thromboxane, and leukotriene concentrations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 71:235-242.

**Pugliesi G, Rezende RG, Silva JCD, Lopes E, Nishimura TK, Baruselli PS, Madureira EH, Binelli M.** 2017. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 41:140-150.

**Randel RD, Lammoglia MA, Lewis AW, Neuendorff DA, Guthrie MJ.** 1996. Exogenous PGF(2)alpha enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology*, 45:643-654.

**Robinson RS, Hammond AJ, Wathes DC, Hunter MG, Mann GE.** 2008. Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. *Reprod Domest Anim*, 43:104-112.

**Santos JT, Ferreira R, Gasperin BG, Siqueira LC, Oliveira JF, Santos R, Reis AM, Gonçalves P.** 2011. Molecular characterization and regulation of the angiotensin-converting enzyme type 2/Angiotensin-(1-7)/MAS receptor axis during the ovulation process in cattle. *Journal of Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 13:91-8.

**Sartori R, Fricke PM, Ferreira JoC, Ginther OJ, Wiltbank MC.** 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction*, 65:1403-1409.

**Silva LA, Gastal EL, Beg MA, Ginther OJ.** 2005. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. *Biol Reprod*, 72:755-761.

**Silva LA, Ginther OJ.** 2010. Local effect of the conceptus on uterine vascular perfusion during early pregnancy in heifers. *Reproduction*, 139:453-463.

**Silvia WJ, Lewis GS, McCracken JA, Thatcher WW, Wilson, JrL.** 1991 Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2 alpha during luteolysis in ruminants. *Biol Reprod*, 45:655-663.

**Sirois, J.** 1994. Induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 by human

chorionic gonadotropin in bovine preovulatory follicles in vivo. *Endocrinology* 135: 841–848.

**Srikandakumar A, Downey BR.** 1989. Induction of ovulation in gilts with cloprostenol. *Theriogenology*, 32:445-449.

**Trevisol E, Ferreira JCP, Ackermann CL, Destro FC, Amaral JBd.** 2013. Luteólise em bovinos: revisão. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 37:29-36.

**Tsafri A, Koch Y, Lindner HR.** 1973. Ovulation rate and serum LH levels in rats treated with indomethacin or prostaglandin E2. *Prostaglandins*, 3:461-467.

**Tsai SJ, Wiltbank MC.** 1997. Prostaglandin F2 $\alpha$  Induces Expression of Prostaglandin G/H Synthase-2 in the Ovine Corpus Luteum: A Potential Positive Feedback Loop during Luteolysis. *Biology of Reproduction*, 57:1016-1022.

### **3 Considerações finais**

Com base nos recentes estudos utilizando prostaglandina F2 $\alpha$  exógena é possível afirmar que ela induz a ovulação em novilhas e vacas. Baseado nos dados apresentados em nosso trabalho, é possível afirmar que a prostaglandina F2 $\alpha$  exógena tem efeitos no período pré-ovulatório sobre a esteroidogênese em fêmeas bovinas, porém não podemos afirmar sua ação sobre a ovulação neste estudo pois não foi avaliado nos animais. Diante dos resultados obtidos acredita-se que devido aos baixos níveis de progesterona exista uma relação entre prostaglandina e síntese de hormônios esteroides.

Ao utilizar a prostaglandina comparada ao GnRH, demonstrou-se que ela não foi efetiva em induzir as alterações promovidas pelo GnRH. Porém em outros trabalhos foi demonstrado que ela foi efetiva em sincronização da ovulação quando comparado aos ésteres de estradiol.

A administração intramuscular de AINE afetou a síntese de progesterona em folículos pré-ovulatórios in vivo. Mais estudos in vivo sobre o efeito da prostaglandina no controle da síntese de esteroides são necessários. Desse modo, de acordo com os resultados obtidos sugere-se utilizar estes fármacos com cautela quando associado a programas reprodutivos.

## Referências

ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K. G.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Reproduction**, v.125, n.5, p.759-767, 2003.

AGUILAR, J.; CASTAÑEIRA, C.; ALONSO, C.; FLORES, A.; MARÍN, J.; CUERVO-ARANGO, J.; MARTINEZ-BOVÍ, R.; MOUGUELAR, H.; LOSINNO, L. Intrafollicular Injection of Prostaglandins in the Preovulatory Follicle of the Mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.66, n.183, 2018.

ALGIRE, J. E.; SRIKANDAKUMAR, A.; GUILBAULT, L. A.; DOWNEY, B. R. Preovulatory changes in follicular prostaglandins and their role in ovulation in cattle. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.56, n.1, p.67-69, 1992.

AMBROSE, D. J.; RAJAMAHENDRAN, R.; KASTELIC, J. P.; SMALL, J. A. Synchronization of Ovulation and conception rates in Holstein heifers given an intravaginal progesterone-releasing device (CIDR), and estradiol cypionate, porcine LH or gonadotropin releasing hormone, **Archiv fur Tierzucht**, v.44, p.77-79, 2001.

ATHANASIOU, S.; BOURNE, T. H.; KHALID, A.; OKOKON, E. V.; CRAYFORD, T.; HAGSTROM, H. G.; CAMPBELL, S.; COLLINS, W. P. Effects of indomethacin on follicular structure, vascularity, and function over the periovulatory period in women. **Fertility and Sterility**, v.65, n.3, p.556-560, 1996.

AYRES, H.; PENTEADO, L.; TORRES JUNIOR, J. R. S.; SOUZA, J. R.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progéstágeno associado ao Benzoato ou ao Cipionato. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.410, 2006.

BARUSELLI, P. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.22, n.69, p.57-60, 2016.

BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, N. A. T.; JACOMINI, J. O. Eficiência uso da inseminação artificial em búfalos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.6, p.104-110, 2009.

BARUSELLI, P. S.; AYRES, H.; SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v.2, n.2006, p.113-132, 2006.

BÓ, G. A.; CUTAIA, I.; BARUSELLI, P. S. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. **1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, p.56-81, 2004.

BÓ, G. A.; ADAMNS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v.43, n.1, p.31-40, 1995.

BOURNE, G.R. A review of metabolism and clearance studies with 14C-cloprostenol in the cow. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.77, p.5-9, 1981.

BRIDGES, P. J.; J. E. FORTUNE. Regulation, action and transport of prostaglandins during the periovulatory period in cattle. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.263, n.1-2, p.1-9, 2007.

BRIDGES, P. J.; FORTUNE, J.E. Progesterone mediates gonadotrophin induced secretion of prostaglandins E and F2 $\alpha$  (PGE, PGF) by follicular cells from bovine preovulatory follicles. **Biology of Reproduction**, v.68, n.1, p.47, 2003.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia. **Ciência Rural**, v.38, p.872-879, 2008.

CASTRO, N. A.; NEVES, P. M. A.; CESTARO, J. P.; MELO, V. T. O.; SCHNEIDER, A.; PFEIFER, L. F. M. Use of prostaglandin F2 $\alpha$  as ovulatory stimulus for synchronizing dairy cattle. **Research in Veterinary Science**, v.118, p.151-154, 2018.

CHENG, H-Y.; LI, H-Y. Successful prevention of follicular rupture at 45 h after hCG and GnRHa triggering by emergent administration of indomethacin: A case report. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.57, p.760-762, 2018.

COSTA, D. S.; TORRES, C. A. A.; ÂNGULO, L. A. M.; JUNQUEIRA, L. A. C.; SILVA, L. A. Sincronização da Onda Follicular com hCG Prévia à Indução da Luteólise com Cloprostenol em Bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, n.4, p.701-705, 1999.

CREPALDI, G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF.** 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa em Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

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, p.707-714, 2011.

DAHLEN, C. R.; Bird, S. L.; Martel, C. A.; Olson, K.; Stevenson, J. S.; Lamb, G. C. Administration of human chorionic gonadotropin 7 days after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v.88, n.7, p.2337-2345, 2010.

DAVIES, K. L.; BARTLEWSKI, P. M.; EPP, T.; DUGGAVATHI, R.; BARRETT, D. M. W.; BAGU, E. T.; COOK, S. J.; RAWLINGS, N. C. Does injection of prostaglandin F(2alpha) (PGF2alpha) cause ovulation in anestrous Western White Face ewes? **Theriogenology**, v.66, p.251-259, 2006.

DE ARAUJO BERBER, R. C.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.57, n.5, p.1421-30. 2002.

DE RENSIS, F.; VALENTINI, R.; GORRIERI, F.; BOTTARELLI, E.; LOPEZ-GATIUS, F. Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. **Theriogenology**, v.69, n.9, p.1077-82, 2008.

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

DIAZ-INFANTE, JR. A. D.; WRIGHT, K. H.; WALLACH, E. E. Effects of indomethacin and prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  on ovulation and ovarian contractility in the rabbit. **Prostaglandins**, v.5, p.567-581, 1974.

DIAZ, T.; SCHMITT, E. J. P.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, M. J.; THATCHER, W. W. Human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. **Journal of Animal Science**, v.76, n.7, p.1929-36, 1998.



DINIZ SANTOS, M.; FIALKOSKI, D. A. J.; TOMA, C. D. M.; TOMA, H. S.; FREITAS, S. H.; COSTA, D. S.; KOETZ, C. J. Taxas de gestação e formação de corpo lúteo acessório em novilhas nelore tratadas com hcg após a inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.4, p.231-235, 2014.

DI SALVO, P.; BOCCI, F.; ZELLI, R.; POLISCA, A. Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in the bitch. **Research in Veterinary Science**, v.81, p.382-388, 2006.

DOWNEY, B. R.; AINSWORTH, L. Reversal of indomethacin blockade of ovulation in gilts by prostaglandins. **Prostaglandins**, v.19, n.1, p.17-22, 1980.

ESPEY, L. L.; Ovulation as an inflammatory reaction-a hypothesis. **Biology of Reproduction**, v.22, p.73-106, 1980.

FANTINI FILHO, J. C.; KOZICKI, L. E.; SOUZA, F. P. Gonadotrofina coriônica humana (hcg) na indução de corpo lúteo acessório em vacas da raça caracú. **Archives of Veterinary Science**, v.8, n.2, p.63-67, 2003.

FERNANDES, C.; FIGUEIREDO, A. C. S. Avanços na utilização de prostaglandinas, na reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.108-113, 2007.

FERRÃO, S. P. B.; BRESSAN, M. C. O uso de agentes anabolizantes na produção de carnes e suas implicações. **Veterinaria Notícias**, v.12, n.1, p.69-78, 2006.

FERREIRA, M. N.; MIRANDA, R.; FIGUEIREDO, M. A.; COSTA, O. M.; PALHANO, H. B. Impacto da condição corporal sobre a taxa de prenhez de vacas da raça nelore sob regime de pasto em programa de inseminação artificial em tempo fixo (iatf). **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n.4, p.1861-1868, 2013.

FONSECA, J. F.; SILVA, J. M.; PALHARES, M. S.; RUAS, J. R. M.; NETO, A. P. Concentração plasmática de progesterona em novilhas receptoras submetidas à administração de rbST, GnRH ou hCG no quinto dia do ciclo estral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, p.1-8, 2001.

FORTUNE, J. E.; WILLIS, E. L.; BRIDGES, P. J.; YANG, C. The perioovulatory period in cattle: progesterone, prostaglandins, oxytocin and ADAMTS proteases. **Animal reproduction**, v.6, p.60-71, 2009.

FRANÇA, L. M.; RODRIGUES, A. S.; BRANDÃO, L. G. N.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M.; FERRAZ, P. A.; BITTENCOURT, R. F.; JESUS, E. O.; RIBEIRO FILHO, A. L. Comparação de dois ésteres de estradiol como indutores da ovulação sobre o diâmetro folicular e a taxa de gestação de bovinos leiteiros submetidos a programa de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, vol.16, n.4, p.958-965, 2015.

GARCIA-ISPIERTO, I.; DE RENSIS, F.; CASAS, X.; CABALLERO, F.; MUR-NOVALES, R.; LOPEZ-GATIUS, F. Reproductive performance of lactating dairy cows after inducing ovulation using hCG in a five-day progesterone-based fixed-time AI protocol. **Theriogenology**, v.107, p.175-179, 2018.

GEARY, T. W.; DOWNING, E. R.; BRUEMMER, J. E.; WHITTIER, J. C. Ovarian and Estrous Response of Suckled Beef Cows to the Select Synch Estrous Synchronization Protocol. **The Professional Animal Scientist**, v.16, n.1, p.1-5, 2000.

GINTHER, O. J.; UTT, M. D. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.24, p.516-526, 2004.

GIORDANO, J. O.; FRICKE, P. M.; GUENTHER, J. N.; LOPES G. J.; HERLIHY, M. M.; NASCIMENTO, A. B.; MILTBANK, M. C. Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.7, p.3781-93, 2012.

GOTTSCHALL, C. S.; SILVA, L. R.; ALMEIDA, M. R. Análise econômica de dois protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em novilhas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.40, n.3, p.99-104, 2016.

HAMADA, Y.; BRONSON, R. A.; WRIGHT, K. H.; WALLACH, E. F. Ovulation in the Perfused Rabbit Ovary: The Influence of Prostaglandins and Prostaglandin Inhibitors. **Biology of Reproduction**, v.17, p.58-63, 1977.

HANLON, D. W.; WILLIAMSON, N. B.; WICHTEL, J. J.; STEFFERT, I. J.; CRAIGIE, A.L.; PFEIFFER, D. U. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.47, n.5, p.963-75, 1997.

HUMBLOT, P.; GRIMARD, B.; RIBON, O.; KHIREDDINE, B.; DERVISHI, V.; THIBIER, M. Sources of variation of post-partum cyclicity, ovulation and pregnancy

rates in primiparous Charolais cows treated with norgestomet implants and PMSG. **Theriogenology**, v.46, n.6, p.1085-96, 1996.

HUNTER, R.; POYSER, N. Ovarian follicular fluid concentrations of prostaglandins E<sub>2</sub>, F<sub>2</sub> $\alpha$  and I<sub>2</sub> during the pre-ovulatory period in pigs. **Reproduction Nutrition Développement**, v.25, p.909-917, 1985.

IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis: changes in serum hormones, steroids in follicular fluid, and gonadotropin receptors. **Endocrinology**, v.111, n.6, p.2077-2086, 1982.

JO, M.; KOMAR, C. M.; FORTUNE, J. E. Gonadotropin surge induces two separate increases in messenger RNA for progesterone receptor in bovine preovulatory follicles. **Biology of Reproduction**, v.67, n.6, p1981-8, 2002.

KESKIN, A.; YILMAZBAS-MECITOGLU, G.; GUMEN, A.; KARAKAYA, E.; DARICI, E.; OKUT, H. Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.74, n.4, p.602-607. 2010.

KINDAHL, H.; EDQVIST, L. E.; GRANSTROM, E.; BANE, A. The release of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  as reflected by 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in the peripheral circulation during normal luteolysis in heifers. **Prostaglandins**, v.11, n.5, p.871-878, 1976.

KISER, T. E.; HAFS, H. D.; OXENDER, W. D. Increased blood LH and testosterone after administration of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in bulls. **Prostaglandins**, v.11, n.3, p.545-53, 1976.

KOMAR, C. M.; BERNDTSON, A. K.; EVANS, A. C.; FORTUNE, J. E. Decline in circulating estradiol during the periovulatory period is correlated with decreases in estradiol and androgen, and in messenger RNA for p450 aromatase and p450 17 $\alpha$ -hydroxylase, in bovine preovulatory follicles. **Biology of Reproduction**, v.64, p.1797-1805, 2011.

LARENTIS, G. R.; BASTOS, H. B.A.; CAMOZZATO, G. C.; SANTOS, G. O.; MATTOS, R. C. Do Therapeutic Doses of Phenilbutazone Affect Ovulation Processes in Mares? **Journal of Equine Veterinary Science**, v.66, p.150-151, 2018.

LEONARDI, C. E. P.; PFEIFER, L. F. M.; RUBIN, M. I. B.; SINGH, J.; MAPLETOFT, R. J.; PESSOA, G. A.; BAINY, A. M.; SILVA, C. A. M. Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$

promotes ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**, v.78, n.7, p.1578-82, 2012.

LIM, H.; PARIA, B. C.; DAS, S. K.; DINCHUK, J. E.; LANGENBACH, R.; TRZASKOS, J. M.; DEY, S. K. Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. **Cell**, v.91, n.2, p.197-208, 1997.

LIMA, A. G.; COSTA, L. C. B.; ALVARENGA, M. A.; MARTINS, C. B. Does clinical treatment with phenylbutazone and meloxicam in the pre-ovulatory period influence the ovulation rate in mares? **Reproduction in Domestic Animals**, v.50, p.771-775, 2015.

LIU, T. C.; CHIANG, C. F.; HO, C. T.; CHAN, J. P. W. Effect of GnRH on ovulatory response after luteolysis induced by two low doses of PGF<sub>2</sub>alpha in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.105, p.45-50, 2018.

LIU, J.; CARRIERE, P. D.; DORE, M.; SIROIS, J. Prostaglandin G/H synthase-2 is expressed in bovine preovulatory follicles after the endogenous surge of luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, v.57, n.6, p.1524-1531, 1997.

LUCY, M. C.; MCDUGALL, S.; NATION, D. P. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.495-512, 2004.

MACMILLAN, K. L.; PETERSON, A. J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrus synchronization, increasing pregnancy rate and the treatment of post-partum anestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 33, p. 1-25, 1993.

MAILLO, V.; DUFFY, P.; O'HARA, L.; FRUTOS, C.; KELLY, A. K.; LONERGAN, P.; RIZOS, D. Effect of hCG administration during corpus luteum establishment on subsequent corpus luteum development and circulating progesterone concentrations in beef heifers. **Reproduction Fertility and Development**, v.26, n.3, p.367-74, 2014.

MARTIN, I.; FERREIRA, J. C. P. Fisiologia da ovulação e da formação do corpo lúteo bovino. **Veterinária e Zootecnia**, v.16, n.2, p.270-279, 2009.

MARTINEZ, M. F.; ADAMS, G. P.; BERGFELT, D. R.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.57, n.1-2, p.23-33, 1999.

McCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E, Lamsa, J. C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v.79, p.263–323, 1999.

MONTEIRO, E. C. A.; TRINDADE, J. M. F.; DUARTE, A. L. B. P.; CHAHADE, W. H. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). **Temas de reumatologia clínica**, v.9, n.2, 2008.

MORETTO, B.; TULIO, L. M.; ZANETTI, E. M. Influência dos diferentes escores corporais na taxa de prenhez de vacas zebuínas. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v.1, n.1, 2018.

MOSES, V. S.; BERTONE, A. L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Veterinary Clinics Equine**, v.18, p.21–37, 2002.

MURDOCH, W. J.; HANSEN, T. R.; MCPHERSON, L. A. A review--role of eicosanoids in vertebrate ovulation. **Prostaglandins**, v.46, n.2, p.85-115, 1993.

NAOR, Z.; JABBOUR, H. N.; NAIDICH, M.; ADAM, J. P.; MORGAN, K.; BATTERSBY, S.; MILLAR, M. R.; BROWN, P.; MILLAR, R. P. Reciprocal cross talk between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin receptors regulates GnRH receptor expression and differential gonadotropin secretion. **Molecular Endocrinology**, v.21, n.2, p.524-37, 2007.

NOGUEIRA, M.; BARROS, C. Timing of ovulation in Nelore cows superstimulated with P36 protocol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, p.509, 2003.

PANCARCI, S. M.; JORDAN, E. R.; RISCO, C. A.; SCHOUTEN, M. J.; LOPES, F. L.; MOREIRA, F.; THATCHER, W. W. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.1, p.122-31, 2002.

PATE, J.; TOWNSON, D. Novel Local Regulators in Luteal Regression. **Journal of Animal Science**, v.73, n.3, p.31-42, 1994.

PAZ, T. W. G.; DOWNING, E. R.; BRUEMMER, J. E.; PAZ, J. C. W. Ovarian and Estrous Response of Suckled Beef Cows to the Select Synch Estrous Synchronization Protocol. **The Professional Animal Scientist**, v.16, n.1, p.1-5, 2000.

PFEIFER, L. F. M.; SIQUEIRA, L. G.; MAPLETOFT, R. J.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; COLAZO, M. G.; SINGH, J. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**, v.72, n.8, p.1054-64, 2009.

PFEIFER, L. F. M.; LEONARDI, C. E. P.; CASTRO, N. A.; VIANA, J. H. M.; SIQUEIRA, L. G. B.; CASTILHO, E. M.; SINGH, J.; KRUSSER, R. H.; RUBIN, M. I. B. The use of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. **Theriogenology**, v.81, n.5, p.689-695, 2014.

PFEIFER, L. F. M.; SIQUEIRA, L. G. B.; ARASHIRO, E. K. N.; CASTRO, N. A.; VIANA, J. H. M. Prostaglandin F<sub>2</sub> $\pm$  or estradiol benzoate to induce ovulation in timed artificially inseminated dairy cows. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, p.738-744, 2016.

PRATA, A. B.; DRUM, J. N.; MELO, L. F.; ARAUJO, E. R.; SARTORI, R. Effect of different chorionic gonadotropins on final growth of the dominant follicle in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.111, p.52-55. 2018.

PRIDDY, A. R.; KILLICK, S. R.; ELSTEIN, M.; MORRIS, J.; SULLIVAN, M.; PATEL, L.; ELDER, M. The effect of prostaglandin synthetase inhibitors on human preovulatory follicular fluid prostaglandin, thromboxane, and leukotriene concentrations. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.71, n.1, p.235-242, 1990.

PUGLIESI, G.; REZENDE, R. G.; SILVA, J. C. B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T.K.; BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E. H.; BINELLI, M. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.41, n.1, p.140-150, 2017.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH. **Theriogenology**, v.44, n.7, p.915-23, 1995.

RAJAMAHENDRAN, R.; SIANANGANLA, P.C. Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on dominant follicles in cows: accessory corpus luteum formation, progesterone production and pregnancy rates. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.95, p.577-584, 1992.

RANDEL, R. D.; LAMMOGLIA, M. A.; LEWIS, A. W.; NEUENDORFF, D. A.; GUTHRIE, M. J. Exogenous PGF(2) $\alpha$  enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. **Theriogenology**, v.45, n.3, p.643-54. 1996.

ROBINSON, R. S.; HAMMOND, A. J. ; WATHES, D. C.; HUNTER, M. G.; MANN, G. E. Corpus luteum-endometrium-embryo interactions in the dairy cow: underlying mechanisms and clinical relevance. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, n.2, p.104-12, 2008.

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REIS, E. L.; REIS, T. A. N. P. S.; GALVÃO, K. N.; BARUSELLI, P. S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v.79, n.4, p.625-32, 2013.

SANTOS, J.; FERREIRA, R.; GASPERIN, B. G.; SIQUEIRA, L. C.; OLIVEIRA, J. F.; SANTOS, R.; REIS, A.; GONÇALVES, P. Molecular characterization and regulation of the angiotensin-converting enzyme type 2/Angiotensin-(1-7)/MAS receptor axis during the ovulation process in cattle. **Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System** ,v.13, n.1, p.91-98, 2012.

SARTORI, R.; FRICKE, P. M.; FERREIRA, J. C. P.; GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.

SCHMITZ, W.; KRAMER, M.; ERHARDT, G.; GAULYC, M.; DRIANCOURTD, M.; HOLTZ, W. Pregnancy rate after fixed-time artificial insemination of suckled beef cows subjected to a cosynch protocol with either buserelin or hCG as ovulation inducing agent. **Livestock Science**, v.206, p.141-147, 2017.

SILVA, L. A.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology of Reproduction**, v.72, p.755-761, 2005.

SILVA, L. A.; GINTHER, O. J. Local effect of the conceptus on uterine vascular perfusion during early pregnancy in heifers. **Reproduction**, v.139, p.453-463., 2010.

SILVIA, W. J.; LEWIS, G. S.; MCCRACKEN J. A.; THATCHER, W. W.; WILSON, L. JR. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F2 alpha during luteolysis in ruminants. **Biology of Reproduction**, v.45, n.5, p.655-63, 1991.

SIROIS, J. Induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 by human chorionic gonadotropin in bovine preovulatory follicles in vivo. **Endocrinology**, v.135, p.841-848, 1994.

SRIKANDAKUMAR, A.; DOWNEY, B. Induction of ovulation in gilts with cloprostenol. **Theriogenology**, v.32, n.3, p.445-449, 1989.

STEVENSON, J. S.; TIFFANY, S. M.; LUCY, M. C. Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronizing ovulation in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.10, p.3298-305, 2004.

TAIRA, E. M.; PINTO, F. I.; DI RAIMO, L.; DE CAMARGO NETO, W. D.; GIUFFRIDA, R.; CASTILHO, C. Uso de LH como indutor de ovulação em protocolo de IATF para Novilhas da raça Nelore. **Colloquium Agrariae**, v.6, n.1, p.43-49, 2011.

TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; PENTEADO, L.; SALES, J. N. S.; SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; BARUSELLIE, P. S. A comparison of two different esters of estradiol for the induction of ovulation in an estradiol plus progestin-based timed artificial insemination protocol for suckled *Bos indicus* beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.151, n.1, p.9-14. 2014.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J. C. P.; ACKERMANN, C. L. DESTRO, F. C.; AMARAL, J. B. Luteólise em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, n.1, p.29-36, 2013.

TSAFRIRI, A.; KOCH, Y.; LINDNER, H. Ovulation rate and serum LH levels in rats treated with indomethacin or prostaglandin E2. **Prostaglandins**, v.3, n.4, p.461-467, 1973.

TSAI, S-J.; WILTBANK, M. C. Prostaglandin F2 $\alpha$  Induces Expression of Prostaglandin G/H Synthase-2 in the Ovine Corpus Luteum: A Potential Positive Feedback Loop during Luteolysis. **Biology of Reproduction**, v.57, p.1016-1022, 1997.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L. A.; DUFOUR, J. J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3141–3151, 1995.

VIANNA, G. N. O.; KOZICKI, L. E.; WEISS, R. R.; SEGUI, M. S.; MEIRELLES, C.; EFING, A. C.; BREDA, J. C.; GIACOMELLI, A. Comparação de diferentes protocolos para a sincronização de estro e inseminação artificial em tempo fixo em vacas da raça nelore em anestro pós-parto. **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.4, p.247-254, 2008.



WILLIAMS, C.; G. STANCEL. Estrogênios e progestogênios. In. **A Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12ª edição. 1996.

## **Anexos**

## Anexo I - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal



Pelotas, 16 de novembro de 2015

**De:** M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix  
*Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)*

**Para:** Prof. Bernardo Garzeira Gasperin  
*Departamento de Patologia - Faculdade de Veterinária*

Senhor Pesquisador:

A CEEA analisou a solicitação o projeto intitulado: “**Controle da ovulação em bovinos e suínos**”, processo nº23110.000288/2015-65, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, Subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, pois está de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

**Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.**

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao COBALTO para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 0288-2015).

Vigência do Projeto: 17/11/2015 a 20/12/2019

Espécie/Linhagem: Suínos e Bovinos/variados

Nº de animais: 740 suínos e 110 bovinos

Idade: 4 meses a 4 anos (suínos) e 2 a 8 anos (bovinos)

Sexo: Fêmeas

Origem: Granjas comerciais de suínos e Fazenda Experimental de Bovinos

  
\_\_\_\_\_  
**M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix**  
*Presidente da CEEA*

Ciente em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2015

Assinatura do Professor Responsável: \_\_\_\_\_