

Dinâmica folicular em fêmeas bovinas sob diferentes níveis endócrinos no período periovulatório

**TAMIRES SILVA DOS SANTOS¹; ROBERTO VASCONSELOS ESCOBAR²;
FERNANDO CAETANO DE OLIVEIRA³; CRISTINA SANGOI HAAS⁴;
BERNARDO GARZIERA GASPERIN⁵**

¹Universidade Federal de Pelotas – myres_santos@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - roberto.escobar@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fernando_oliveira88@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - cristinasangoi@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – bggasperin@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As biotécnicas para controle do ciclo estral em bovinos são principalmente utilizadas para otimizar processos reprodutivos. Dentre as principais estão a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a transferência de embriões (TE) e a TE em tempo fixo (TETF). Estes processos permitem um melhor uso do material genético do macho e da fêmea. Neste contexto, a prostaglandina F_{2α} (PGF) e seus análogos são comumente utilizados em protocolos para sincronização de estro, tendo seu efeito clássico no processo de luteólise em bovinos, independente da via de administração (ROVANI et al., 2012). Embora a PGF seja utilizada principalmente como um agente luteolítico, estudos têm demonstrado que a PGF possui um efeito sobre o crescimento folicular e sobre o processo de ovulação (LEONARDI et al., 2012; PFEIFER et al., 2014), por mecanismos ainda não conhecidos.

A importância da PGF no processo ovulatório é demonstrada em várias espécies domésticas. A enzima PTGS2, responsável pela síntese de PGF, está presente nas células da granulosa (LIU et al., 1997) e, quando bloqueada com indometacina, leva a um bloqueio da ovulação na égua (Mori et al., 1980), vaca (De SILVA AND REEVES, 1985) e porca (DOWNEY AND AINSWORTH, 1980). Na ovelha o bloqueio inibiu a ovulação, mas não a luteinização (MURDOCH AND DUNN, 1983). Trabalhando com ovelhas em anestro, DAVIES et al. (2006) demonstraram que a PGF é capaz de estimular a ovulação mesmo durante a suplementação com acetato de medroxiprogesterona (MAP), o que parece ser um efeito local, na ruptura do folículo, pois esta ação foi independente dos níveis de progesterona circulantes.

O melhor entendimento das funções da PGF no crescimento folicular e ovulação pode impactar diretamente no aprimoramento dos protocolos hormonais utilizados nas biotécnicas da reprodução das espécies domésticas, permitindo a elaboração de estratégias alternativas que possibilitem melhor controle da função reprodutiva. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo identificar o efeito do tratamento com PGF sobre o crescimento folicular em fêmeas bovinas, submetidas a um protocolo de sincronização e sob perfis endócrinos de alta ou baixa progesterona.

2. METODOLOGIA

Todos os procedimentos realizados obtiveram parecer favorável a realização pelo comitê de ética em experimentação animal UFPEL. Para avaliação do efeito da PGF no crescimento folicular sob um ambiente endócrino de alta progesterona, foram utilizadas fêmeas bovinas múltiparas e cíclicas, da raça Jersey (n=15). Uma nova onda folicular foi induzida, de acordo com o protocolo de sincronização (Figura 1) a base de progesterona (P4), com 2mg de benzoato de estradiol (BE) no dia da inserção do dispositivo intravaginal contendo 1g de progesterona (DIV). No D6 foi administrado 500µg de PGF (luteólise) e 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG), para promover o crescimento folicular na presença de progesterona. No D9, foi realizada uma administração i.m. de 500µg de D-clospirotenol (n=8) ou solução salina (n=7). Para acompanhamento da dinâmica folicular, foi utilizado um ultrassom PieMedical AquilaVet equipado com um transdutor linear de 6 MHz, através da via transretal, em D8, D9 e D10.

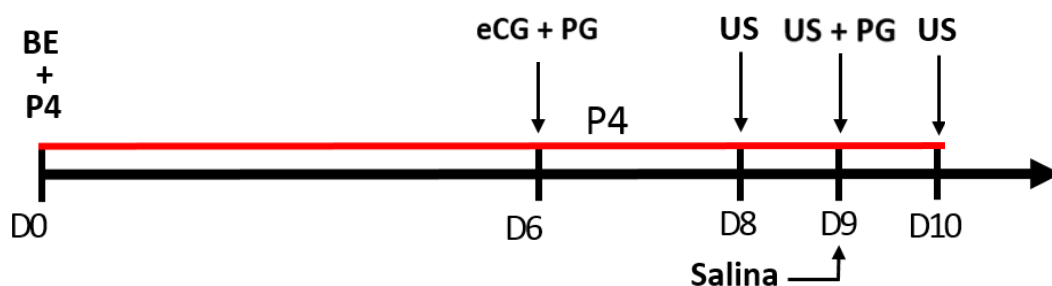


Figura 1 - Efeito do tratamento com PGF sobre o ambiente folicular pré-ovulatório na presença de progesterona exógena. BE: Benzoato de estradiol; P4: progesterona; eCG: gonadotrofina coriônica equina; PG: d-cloprostenol (PGF2α).

Para avaliar o efeito da PGF sobre o ambiente folicular pré-ovulatório em um ambiente sistêmico de baixa progesterona (proestro), foram utilizadas fêmeas bovinas múltiparas e cíclicas, da raça Angus (n=30). A sincronização base dos animais foi realizada conforme descrito no experimento anterior, com BE e P4 no D0, e os tratamentos realizados com base no protocolo proposto por PFEIFER et al. (2014), sendo a PGF (luteolítica) administrada no dia 8 e a PGF ovulatória aplicada no D9 (proestro/estro) (figura 2).

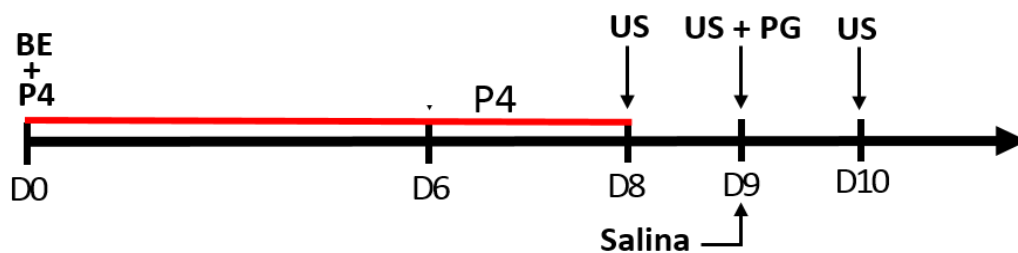


Figura 2 – Efeito do tratamento com PGF sobre o ambiente folicular pré-ovulatório na presença de baixos níveis de progesterona. BE: Benzoato de estradiol; P4: progesterona; eCG: gonadotrofina coriônica equina; PG: d-cloprostenol (PGF2α).

Os dados são apresentados como Média \pm SEM. O efeito dos tratamentos sobre o tamanho dos folículos e sobre a taxa de crescimento foi calculado por análise de variância utilizando o software JMP, SAS, determinando o efeito do grupo. O nível de significância utilizado foi 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, no D8 os animais foram alocados nos diferentes grupos de acordo com o diâmetro folicular. Portanto, não houve diferença estatística entre o diâmetro médio dos folículos entre os grupos PGF ($9,12 \pm 0,61$ mm) e controle ($9,55 \pm 0,88$ mm; $P > 0,05$). Da mesma forma, 24 horas após os tratamentos (D10), o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios não diferiu entre as fêmeas tratadas com PGF ($14,6 \pm 0,55$ mm) em comparação ao grupo controle ($15,3 \pm 0,7$ mm). Os diâmetros observados indicam a possibilidade de obtenção de folículos responsivos ao GnRH/LH (SARTORI et al., 2001), mesmo na presença de progesterona. A taxa de crescimento diária (aproximadamente 2mm), não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$), sendo superior às médias diárias de 1 a 1,5 mm/dia relatadas em bovinos (LUSSIER et al., 1987). A elevada taxa de crescimento folicular e diâmetro final dos folículos pode ser decorrente do tratamento com eCG, potente indutor de crescimento folicular, e pelo fato das vacas utilizadas no estudo serem cíclicas e não lactantes. Portanto, é necessário ter cautela na interpretação dos dados de crescimento e diâmetro folicular obtidos. Amostras de fluido e células foliculares foram obtidas no D10 para investigar eventuais alterações no ambiente folicular em decorrência dos diferentes tratamentos.

Quando a aplicação da PGF foi realizada durante o proestro, em um ambiente endócrino de baixa progesterona, não se observou efeito sobre o tamanho final dos folículos ($P > 0,05$). Neste caso, no D10, o diâmetro do maior folículo das vacas do grupo controle e PGF foram de $12,4 \pm 0,2$ e $12,1 \pm 0,5$, respectivamente. A mensuração do diâmetro folicular no D8 e D9 possibilitou a avaliação de taxa crescimento folicular diária, para os grupos Controle e PGF, apresentando $1,5 \pm 0,3$ e $1,4 \pm 0,2$ mm/dia, respectivamente, não diferindo entre os grupos ($P > 0,05$). LEONARDI et al., (2012) trabalhando com novilhas pré-púberes, observaram taxas de crescimento semelhantes entre fêmeas tratadas com PGF previamente expostas, ou não, à P4. Entretanto, as fêmeas tratadas com PGF apresentaram maior diâmetro folicular em comparação às fêmeas que não receberam nenhum tratamento. Portanto, a condição cíclica dos animais pode ser um fator a ser explorado para elucidar os efeitos da PGF sobre o crescimento folicular em bovinos. Em nossos estudos, as variáveis taxa de crescimento e diâmetro folicular no D10 não foram influenciadas pelo tratamento i.m. de PGF. Dosagens hormonais e estudos moleculares estão sendo conduzidos para investigar possíveis efeitos da PGF sobre o ambiente folicular.

4. CONCLUSÕES

A aplicação de prostaglandina não alterou o crescimento folicular de vacas cíclicas, independentemente dos níveis de progesterona exógena. Entretanto, não se pode descartar possíveis efeitos sobre a esteroidogênese e remodelamento da

matriz celular, eventos relacionados ao processo de ovulação/luteinização e em bovinos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRIDGES, P., KOMAR, C., FORTUNE, J., 2006. Gonadotropin-induced expression of messenger ribonucleic acid for cyclooxygenase-2 and production of prostaglandins E and F₂ α in bovine preovulatory follicles are regulated by the progesterone receptor. **Endocrinology** 147, 4713-4722.

DAVIES, K., BARTLEWSKI, P., EPP, T., DUGGAVATHI, R., BARRETT, D., BAGU, E., COOK, S., RAWLINGS, N., 2006. Does injection of prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) cause ovulation in anestrous Western White Face ewes? **Theriogenology** 66, 251-259.

DE SILVA, M., REEVES, J., 1985. Indomethacin inhibition of ovulation in the cow. **Journal of reproduction and fertility** 75, 547-549.

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

GINTHER, O.J., BERGFELT, D.R., BEG, M.A., KOT, K., 2001. Follicle Selection in Cattle: Relationships among Growth Rate, Diameter Ranking, and Capacity for Dominance. **Biology of reproduction** 65, 345-350.

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., 2012. Prostaglandin F₂ α promotes ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology** 78, 1578-1582.

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

LUSSIER, J.G., MATTON, P., DUFOUR, J.J., 1987. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **Journal of reproduction and fertility** 81, 301-307.

MORI, T., KOHDA, H., KINOSHITA, Y., EZAKI, Y., MORIMOTO, N., NISHIMURA, T., 1980. Inhibition by indomethacin of ovulation induced by human chorionic gonadotrophin in immature rats primed with pregnant mare serum gonadotrophin. **Journal of Endocrinology** 84, 333-341.

MURDOCH, W., DUNN, T., 1983. Luteal function after ovulation blockade by intrafollicular injection of indomethacin in the ewe. **Journal of reproduction and fertility** 69, 671-675.

NOSEIR, W.M.B., 2003. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. **Reproductive biology and endocrinology** 1, 50-50.

PFEIFER, L.F.M., LEONARDI, C.E.P., CASTRO, N.A., VIANA, J.H.M., SIQUEIRA, L.G.B., CASTILHO, E.M., SINGH, J., KRUSSE, R.H., RUBIN, M.I.B., 2014. The use of PGF₂ α as ovulatory stimulus for timed artificial insemination in cattle. **Theriogenology** 81, 689-695.

ROVANI, M.T., BARRETA, M.H., FERREIRA, R., GASPERIN, B.G., ANTONIAZZI, A.Q., FESTUGATTO, R., OLIVEIRA, J.F.C., GONÇALVES, P.B.D., 2012. Luteolysis after the intravulvosubmucosal injection of prostaglandin F₂ α in cattle: Systemic or local mechanism? **Livestock Science** 148, 60-66.

SARTORI, R., FRICKE, P.M., FERREIRA, J.C.P., GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C., 2001. Follicular Deviation and Acquisition of Ovulatory Capacity in Bovine Follicles. **Biology of reproduction** 65, 1403-1409.