

O DO GnRH COMO ALTERNATIVA PARA SUBSTITUIÇÃO DO ESTRÓGENO NO INÍCIO DE PROTOCOLOS DE IATF EM BOVINOS LEITEIROS

HELENA LEITES FREITAS¹; JÉSSICA LAZZARI²; JULIA NOBRE BLANK CAMOZZATO³; FABIANE PEREIRA DE MORAES⁴; SERGIO FARIAS VARGAS Jr⁵; BERNARDO GARZIERA GASPERIN⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – helenafreitasvet@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jelazzari@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – julia.camozzato@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – fabypmoraes@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – sergiofvjunior@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – bggasperin@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) é uma biotécnica reprodutiva que possibilita a sincronização da ovulação, padronização de lotes e dispensa a observação de estro (BÓ, et al., 2008). Tradicionalmente, nos protocolos de sincronização do estro, o benzoato de estradiol (BE) é utilizado no dia zero (D0) associado à progesterona (P4) para induzir a regressão da onda folicular e o surgimento de nova onda em 3 ou 4 dias (SOUZA, et al., 2009).

No entanto, apesar do estrógeno não oferecer risco para o consumo (PARTSCH e SIPPEL, 2001), países como União Europeia, Uruguai, Estados Unidos e Canadá restringiram sua utilização. Este cenário levanta a possibilidade da proibição do estradiol em protocolos de IATF no Brasil, impactando no setor pecuário de exportação (LANE, et al., 2008). Como alternativa, pode-se utilizar o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), pois a partir do estímulo da secreção do hormônio luteinizante (LH), induz a ovulação ou luteinização do folículo dominante e a emergência de nova onda folicular em 1 ou 2 dias (PURSLEY, et al., 1995).

Uma das limitações do uso do GnRH no D0 é o fato de que apenas folículos maiores que 10mm são responsivos ao tratamento (LUZ, et al., 2023). Contudo, em bovinos de corte a alternativa demonstra ser promissora (FERRÉ, et al., 2023). Dessa forma, tendo em vista as diferenças fisiológicas entre grupos genéticos e categorias, o estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar a eficiência da substituição do BE por análogo de GnRH no início de um protocolo de sincronização de estro em vacas e novilhas leiteiras.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em Santana do Livramento - RS. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL.

Para condução do experimento foram utilizadas vacas (n=68; produção média de 25,2 L/dia e 97±3,2 dias de lactação) e novilhas (n=29) da raça Holandês, com escore corporal entre 2,5 e 3,5 (escala de 1 a 5), mantidas em sistema semi-extensivo com livre acesso a pastagem de aveia e azevém e água, sendo ordenhadas 2x/dia. Os animais foram submetidos ao protocolo de sincronização de estro e ovulação, em que, no D0, o grupo GnRH/GnRH (15

novilhas e 33 vacas) recebeu 50µg de lecirelina im (análogo do GnRH, Tec-Relin, Agener União) e o grupo BE/GnRH (14 novilhas e 35 vacas) recebeu 2 mg de BE im (Ric-Be, Agener União). Além disso, ambos os grupos receberam o dispositivo intravaginal (DIV) de progesterona (1g, Primer, Agener União). No D7 os animais do grupo GnRH/GnRH receberam 526 µg de cloprostenol (Estron, Agener União). No D8, ambos os grupos receberam 526 µg de cloprostenol (Estron, Agener União), foi retirado o DIV e realizada a pintura da base da cauda (bastão) para posterior identificação de estro. No D10, todos os animais receberam 25 µg de Lecirelina (GnRH, Tec-Relin, Agener União) e as vacas que haviam apresentado cio pela manhã foram inseminadas à tarde. No D11 foi realizada a IATF no restante das fêmeas pela manhã.

A IA foi realizada com sêmen de oito touros da raça Holandês distribuídos entre os grupos. Foi feito exame ultrassonográfico via retal dos animais para diagnóstico de gestação 30 dias após a IA. A taxa de manifestação de estro e prenhez foram avaliadas por regressão logística utilizando o Software JMP17 PRO.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de manifestação de estro não diferiu entre os grupos (BE: 74%; GnRH: 65,3%; $p=0,58$), enquanto a taxa de prenhez, foi maior no grupo GnRH (BE: 50%; GnRH: 69%; $p=0,04$). Além disso, vacas tenderam a apresentar maior taxa de prenhez que novilhas ($p=0,08$), sem interação entre grupo*categoria ($p=0,69$), sendo em novilhas, 33,3% para BE e 60% para GnRH e em vacas, 57,1% para BE e 73,5% para GnRH.

Com a restrição do uso de estradiol para fins reprodutivos em alguns países e a falta de evidências da eficácia de protocolos de IATF baseados em progesterona e GnRH em bovinos leiteiros, houve a necessidade da condução do presente, no qual confirmamos nossa hipótese de que o BE pode ser substituído pelo análogo de GnRH no D0. O GnRH na sincronização da emergência de nova onda folicular já é utilizado para bovinos leiteiros em protocolos Ovsynch (DUARTE, et al. 2016), que são similares aos dos nossos experimentos. Os protocolos Ovsynch consistem na utilização de três hormônios, o GnRH (D0) induz a emergência de uma nova onda folicular, a administração de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$; D7), induz a luteólise que possibilita o crescimento e a maturação do folículo dominante e a segunda administração de GnRH (D9) induz o pico de LH para resultar em ovulação do folículo dominante cerca de 28 horas após a sua administração (PURSLEY, et al., 1995). Nesta adaptação com o implante de P4, assim como no protocolo padrão de IATF, soma-se a P4 endógena, oriunda da luteinização folicular ou corpo lúteo, com a P4 exógena. Esse ambiente endócrino com maior concentração de progesterona, favorece o crescimento folicular de bovinos leiteiros (STEVENSON, et al., 2008), uma vez que possuem maior atividade metabólica. A maior concentração de P4 impacta diretamente na qualidade oocitária e folicular (SARTORI, R. et al., 2004).

A ovulação de oócitos de maior qualidade está correlacionada positivamente com a taxa de prenhez (SÁ FILHO, et al., 2010), motivo pelo qual justifica os resultados encontrados. Além disso, folículos de maior diâmetro produzem maiores concentrações de estradiol, responsável pela indução do pico de LH, pelo desencadeamento do estro, pelas modificações no ambiente uterino, como o aumento das contrações para o transporte de espermatozoides, alteração do pH para melhorar a vida útil das células espermáticas (PERRY, et al., 2008) e

aumento das secreções do oviduto para aumentar as taxas de fecundação (RODRIGUEZ, 2007). Ainda, folículos maiores originam corpos lúteos maiores que, por conseguinte, produzem maior quantidade de P4, hormônio responsável pela manutenção da gestação (BARUSELLI, et al., 2003).

Apesar de nos programas de IATF não ser necessário a detecção, é favorável que os animais apresentem estro já que há uma correlação positiva entre manifestação de estro e a taxa de prenhez, pois indica um ambiente endócrino favorável para que ocorra a ovulação (LUZ, et al., 2023). Assim, apesar de no presente estudo não ter sido avaliada a taxa de ovulação por ultrassonografia, por exemplo, a ausência de diferença na taxa de manifestação de estro e resultados positivos na prenhez, sugerem a eficácia do GnRH em gerar nova onda folicular. Os mesmos resultados já foram observados em outros estudos, como no de NAVA (2021), e como no de FERRÉ, et al. (2023), onde os grupos tratados com GnRH obtiveram melhor taxa de prenhez. Além disso, no mesmo estudo, os autores observaram que a utilização de GnRH em animais que não manifestaram estro aumentou a taxa prenhez.

4. CONCLUSÕES

O uso de GnRH no início do protocolo de sincronização do estro e ovulação de fêmeas bovinas da raça Holandês é eficiente na substituição do BE, pois foi capaz de sincronizar a ovulação e resultar em maior taxa de prenhez.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A. T.; BERBER, R.C.A.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, A.F.; COSTA NETO, W.P. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo "Ovsynch" para inovulação em tempo fixo. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science** v.40, p.96-106.2003. DOI: 10.1590/S1413-95962003000800003.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L.E.; SOUZA, A.H. et al. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos. 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. Londrina-PR. p. 95-110. 2008. Disponível em: https://siraa.com.br/novo/wp-content/uploads/2018/04/3_siraa.pdf.

de NAVA, G. Protocolos de IATF alternativos sin estradiol: resultados de ensayos nacionales. **XLVIII Jornadas Uruguayas de Buiatría**, 2021. Disponível em: https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/3025/JB2021_142-152.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

DUARTE, V.; FERREIRA, R.P.; FERNANDES, E.N.; JUNTOLLI, F.V. **Pecuária de leite no Brasil : cenários e avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. P.3. Cap.2, p.325-343. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/163441/1/Parte03-cap02.pdf>.

FERRÉ, L.B.; JAESCHKE, J.; GATTI, J.; BALADÓN, G.; BELLOCQ, E.; FERNÁNDEZ, G.; REARTE, R.; KJELLAND, M.E.; COLAZO, M.G.; THOMAS, J.M. "Comparison of Gonadotropin-Releasing Hormone versus Estrogen-Based Fixed-Time Artificial Insemination Protocols in Grazing *Bos taurus* Suckled Beef Cows". **Animals** 13. 2023, no. 17: 2803. DOI: 10.3390/ani13172803.

LANE, E.A.; AUSTIN, E.J.; CROWE, M.A. Sincronização do estro em bovinos - Opções atuais seguindo os regulamentos da UE que restringem o uso de compostos estrogênicos em animais produtores de alimentos: Uma revisão. **Anim. Reprod. Sci.** 2008 , 109 , 1–16. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2008.08.009.

LUZ, M.R.; CELEGHINI, E.C.; BRANDÃO, F.Z. **Reprodução animal: bovinos, caprinos e ovinos.** v.2. Barueri: Editora Manole, 2023. E-book. ISBN 9788520465318. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788520465318/>.

PARTSCH, C.J., SIPPELL, W.G. Pathogenesis and epidemiology of precocious puberty. Effects of exogenous oestrogens. **Hum Reprod Update.** 2001. DOI: 10.1093/humupd/7.3.292.

PERRY, G.A.; PERRY, B.L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domest. Anim. Endocrinol.** 2008, 34, 333–338. DOI: 10.1016/j.domaniend.2007.09.003.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, 1995. 44:915-923. DOI: 10.1016/0093-691x(95)00279-h.

RODRIGUEZ–MARTINEZ, H. Role of the Oviduct in Sperm Capacitation. **Theriogenology**, 2007, 68, S138–S146. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.03.018.

SÁ FILHO, M.F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.; PERRY, G.A.; BARUSELLI, P.S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled Bos indicus cows. **Animal Reproduction Science**, v.120, p.23 – 30, 2010. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2010.03.007.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J.M.; SHAVER, R.D.; ROSA, G.J.; WILTBANK, M.C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.4, p.905-920, 2004. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73235-X.

SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A.; SILVA, F.F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G.A.; WILTBANK, M.C.; BARUSELLI, P.S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology** 72, 2009, p. 10-21. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2008.12.025.

STEVENSON, J.S.; TENHOUSE, D.E.; KRISHER, R.L.; LAMB, G.C.; LARSON, J.E.; DAHLEN, C.R.; PURSLEY, J.R.; BELLO, N.M.; FRICKE, P.M.; WILTBANK, M.C.; BRUSVEEN, D.J.; BURKHART, M.; YOUNGQUIST, R.S.; GARVERICK, H.A. Detection of anovulation by heatmount detectors and transrectal ultrasonography before treatment with progesterone in a timed insemination protocol. **Journal of Dairy Science**, 91 (2008), pp. 2901-2915. DOI: <10.3168/jds.2007-0856>.