

Interferência do folículo dominante no início do tratamento superovulatório em vacas Nelore*(Interference of the dominant follicle at the beginning of the superovulatory treatment in Nelore cows)*MARTINEZ, Antonio Campanha^{1*}, PIRES, Rita Maria Ladeira², CONDESSA, Manoel Augusto Klempovus Villela³, ALVAREZ, Rafael Herrera⁴¹ Docente Universidade Estadual de Maringá – Campus UMUARAMA, Departamento de Medicina Veterinária. * Autor para correspondência: acmartinez@uem.br² Pesquisador VI - Instituto de Zootecnia de Nova Odessa, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Genética e Reprodução Animal.³ Acadêmico do Programa de Mestrado em Produção Sustentável e Saúde Animal da Universidade Estadual de Maringá – Campus UMUARAMA⁴ Pesquisador VI APTA Polo Regional Centro Sul – Piracicaba

Artigo enviado em 08/11/2015, aceito para publicação em 16/04/2016.

ABSTRACT

Several factors may alter the superovulatory response, amongst them the presence of a dominant follicle at the beginning of the superovulatory treatment. The objective of this experiment has been to evaluate the influence of the dominant follicle presence at the beginning of the superovulatory treatment, in response of cows submitted to a hormone process of synchronization of follicular growth wave. Twenty-one cows, Nelore breed, were synchronized and superovulated three times within intervals of two months. During the superovulatory period, these animals have been submitted to daily ultra-sound examinations. All animals inseminated with semen from the same bull, and the collection had been done seven days after insemination. It has been evaluated the total quantity of structures collected, number of viable embryos, number of degenerated and non-fertilized structures. There was no observed difference between the analyzed parameters when compared to the presence or not of the dominant follicle at the beginning of the superovulatory protocol.

KEY-WORDS: follicle dominance, super ovulation, embryonic quality.**RESUMO**

Diversos fatores podem alterar a resposta superovulatória, dentre eles a presença de um folículo dominante no início do tratamento superovulatório. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da presença do folículo dominante, no início do tratamento superovulatório, na resposta de vacas submetidas a um processo hormonal de sincronização de onda de crescimento folicular. Vinte e uma vacas da raça Nelore foram sincronizadas e superovuladas por três vezes em intervalos de dois meses. Durante o período de superovulação os animais foram submetidos a exames ultrassonográficos diários. Todos os animais foram inseminados com sêmen de um mesmo reprodutor e a coleta foi realizada sete dias após a inseminação. Foram avaliadas quantidades totais de estruturas coletadas, número de embriões viáveis, número de estruturas degeneradas e não fecundadas. Não se observou diferença entre os parâmetros analisados quando comparados à presença ou não do folículo dominante no início do protocolo superovulatório.

PALAVRAS-CHAVE: dominância folicular, superovulação, qualidade embrionária.**INTRODUÇÃO**

Há mais de 50 anos é conhecida a ação das gonadotrofinas para aumentar o número de ovulações (HAMMOND, 1949). Em bovinos, esse conhecimento tem sido explorado para induzir superovulações associadas a programas de transferência de embriões. As melhores respostas, em termos de produção de embriões, são obtidas com o tratamento FSH

(GOULDING *et al.*, 1991). Um inconveniente do emprego do hormônio folículo estimulante (FSH), deriva da necessidade de aplicar várias injeções a fim de manter uma quantidade suficientemente elevada de FSH no organismo, capaz de provocar uma superovulação. No entanto apesar de ser um tema amplamente investigado, continua sem solução a grande variabilidade da resposta, entre indivíduos e

Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ., v. 2, n.2, p. 087-091, 2015

dentro de um mesmo indivíduo, a uma determinada quantidade de gonadotrofinas (DONALDSON, 1984; BOLAND *et al.*, 1991; ARMSTRONG, 1993; ALVAREZ, 1994). Essa variabilidade da resposta constitui provavelmente o principal obstáculo para um uso mais amplo da tecnologia de transferência de embriões.

Os fatores responsáveis por essa variabilidade são de origem múltipla e ainda pouco compreendidos (BOLAND *et al.*, 1991; ARMSTRONG, 1993; ALVAREZ, 1994; KAFI & MCGOWAN, 1997). Alguns fatores têm sido relatados como responsáveis pela variabilidade da resposta superovulatória de bovinos, sendo que os principais são os que envolvem: aspectos genéticos, como raças mais ou menos prolíficas; sensibilidade às gonadotrofinas; sanitários; nutricionais, como condição corporal, deficiência ou excesso de nutrientes; tipo de hormônio utilizado; FSH recombinante; extratos hipofisários contendo FSH, com maior ou menor conteúdo de hormônio luteinizante (LH); gonadotrofina coriônica equina (eCG); gonadotrofina humana (HMG); inibina; dose, via e forma de aplicação; fatores fisiológicos, por exemplo idade, população de folículos e dominância folicular no momento da superovulação (ARMSTRONG, 1993; BREUEL *et al.*, 1991; KAFI & MCGOWAN, 1997).

A presença de um folículo dominante no início do tratamento superovulatório pode inibir a resposta a este tratamento ou gerar embriões de qualidade inferior pelo provável nível estrogênico apresentado pelo animal a ser superovulado. Apesar de ainda persistir o problema da variabilidade da resposta, apesar de ter-se conseguido avanços significativos em termos de rendimento de embriões utilizando diferentes procedimentos para sincronizar o desenvolvimento folicular antes de iniciar o tratamento de superovulação. A remoção do efeito inibitório do folículo dominante levando ao início de uma nova onda de crescimento folicular tem sido conseguido pela destruição física (BERGFELT *et al.*, 1994) ou

hormonal (BO *et al.*, 1995 e 2002) do folículo dominante.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da presença do folículo dominante, no início do tratamento, na resposta superovulatória de vacas submetidas a um processo hormonal de sincronização de onda de crescimento folicular.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste experimento foram utilizadas 21 vacas Nelore, mantidas em condições padrão de manejo em pastagens de *Panicum maximum* cv. Tanzânia e, quando necessário, suplementadas com concentrado de forma a atender requerimentos nutricionais. Sal mineral e água foram disponíveis *ad libitum*. Todos os animais foram tratados com um dispositivo intravaginal contendo progesterona (CiDR-B, InterAg, New Zealand) juntamente com uma injeção intramuscular de 3 mg de benzoato de estradiol (Estrogin, Farmavet), sendo este o dia zero (D0) do tratamento. Cinco dias após iniciou-se o tratamento superovulatório, com dosagem total de 400 UI de FSH (Pluset, Lab. Calier, Espanha), e exame ultrassonográfico (Scanner 200 Pie Medical) dos ovários dos animais, com a finalidade de observar a presença de folículo dominante (> 10 mm), este exame foi realizado diariamente até o dia da inseminação artificial. No dia 7, os animais receberam uma dose luteolítica de análogo da prostaglandina_{F2}, cloprostenol (Veteglan, Lab. Calier, Espanha) e o implante com progestágeno foi retirado. Os animais foram inseminados, com sêmen de um mesmo reprodutor. Sete dias após a inseminação os animais foram submetidos a coleta de embriões e as estruturas recuperados foram classificadas segundo critérios morfológicos definidos pela IETS (1998). Este tratamento teve três repetições com os mesmos animais, com intervalo de sessenta dias entre as coletas.

Os dados foram analisados no software SAS System V8. As diferenças entre os grupos, que apresentaram ou não folículo dominante, relacionados *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v. 2, n.2, p. 087-091, 2015

ao número total de embriões, número de embriões viáveis, número de estruturas degeneradas e número de estruturas não fecundadas foram realizadas por análise de variância (PROC GLM).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os mecanismos que regulam a taxa de ovulação ainda não estão definidos, especialmente em fêmeas monovulatórias (LOPEZ et al., 2005), em contrapartida a dominância folicular está melhor elucidada e a ocorrência de folículo dominante é determinada quando o folículo atinge um diâmetro ao redor de 4mm (GINTHER, 2000). Segundo Figueiredo et al. (1997), que trabalharam com animais da raça Nelore, o maior tamanho que o folículo dominante apresenta é de 12,05 mm $\pm$ 0,29, já o início da dominância ocorre quando este folículo apresenta ao redor de 4 mm (GINTHER et al., 1997; 1999; GINTHER, 2000; KULICK et al., 1999). Dentre as sessenta e três coletas realizadas verificou-se a ocorrência de folículo dominante (>10 mm), no início do tratamento superovulatório, em 7 animais (11%),

este número relativamente reduzido se deu pela aplicação de benzoato de estradiol (Estrogin, Farmavet) no início da sincronização do crescimento folicular, pois segundo BO et al. (2002), quando se realiza a associação deste estrógeno a um progestágeno há a indução de uma nova onda de crescimento folicular, pela supressão do crescimento do folículo antral existente ou pela indução da ovulação. Entretanto nestes animais cinco dias após a aplicação intramuscular de 3 mg de benzoato de estradiol, associado a um implante vaginal com progestágeno, havia a presença de um folículo dominante o qual foi detectado pelo exame ultra-sonográfico, e confirmado pelo acompanhamento da sua presença por todo o programa superovulatório, através de ultra-sonografia diária.

Na Tabela 1 estão os resultados obtidos na presença ou ausência do folículo dominante para a quantidade de embriões, número total de embriões viáveis, número de estruturas degeneradas e número de estruturas não fecundadas.

Tabela 1. Número total de embriões, número total de embriões viáveis, quantidade total de estruturas degeneradas e número total de estruturas não fecundadas, comparadas com a presença ou não de folículo dominante no início do tratamento superovulatório.

Folículo Dominante	Quantidade de Embriões	Total de Embriões viáveis	Total de Estruturas degeneradas	Estruturas Não fecundadas
Presente	6,50 ^a	1,83 ^a	4,33 ^a	0,83 ^a
Ausente	7,00 ^a	2,84 ^a	3,14 ^a	1,04 ^a

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não diferiram entre si

Apesar de alguns autores (GUILBAULT et al., 1991; HUHTINEN et al., 1992; BUNGARTZ e NIEMAN, 1994; LUSSIER et al, 1995) afirmarem que a presença de um folículo dominante funcional possa ser um fator que altere a resposta superovulatória em fêmeas bovinas, não foram encontradas diferenças entre os parâmetros analisados, quando comparados à presença ou não de folículo dominante no início do tratamento superovulatório. E Atanasov, et al. (2015) demonstraram que ocorre uma maior taxa de

progesterona circulante em novilhas quando comparado com vacas, quando estas apresentam um folículo dominante no momento da inserção do implante de progesterona.

Guilbault et al. (1991), mostraram que quando o processo superovulatório se inicia sem a presença de um folículo dominante, há uma maior taxa de ovulação e uma menor variabilidade entre as respostas superovulatórias quando comparadas às respostas na presença de um folículo dominante. Entretanto Maciel *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v. 2, n.2, p. 087-091, 2015

et al. (1995), não encontraram diferenças no número total de estruturas no momento da coleta, nos animais que apresentavam ou não folículo dominante no início do programa de superovulação.

É notório que a presença de folículos grandes determinam uma maior secreção de estrógenos, segundo Kelly et al. (1997), a presença de uma elevada taxa de estrógeno plasmático pode resultar em uma maior taxa de embriões degenerados, entretanto também não foi determinada diferença entre o número de estruturas degeneradas ou não fecundada (Tabela 1). Contudo o tamanho folicular no momento da inseminação artificial em tempo fixo pode afetar índices reprodutivos, Colazzo et al. (2015) verificaram que o tamanho do folículo pré ovulatório não interfere na taxa de concepção, entretanto animais que ovularam grandes folículos tiveram uma maior mortalidade embrionária.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que não há alteração na quantidade e qualidade dos embriões recuperados, assim como no número total de estruturas degeneradas ou não fecundadas, quando comparadas com a presença ou não de folículo dominante no início do tratamento superovulatório, em vacas nelore submetidas a um processo hormonal de sincronização de onda de crescimento folicular, com uso de progestágeno associado a benzoato de estradiol.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ, R. H. Recentes progressos na superovulação dos bovinos. **Zootecnia (Supl.)**, v. 32, p. 3-10, 1994.

ARMSTRONG, D. T. Recent advances in superovulation of cattle. **Theriogenology**, v. 39, p. 7-24, 1993.

ATANASOV, B.; DE KOSTER, J.; BOMMELÉC, L.; DOVENSKI, T.; OPSOMER, G. Pathways of the dominant follicle after exposure to sub-luteal circulating progesterone concentrations are different in

lactating dairy cows versus non-lactating heifers. **Animal Reproduction Science**, v.154, p. 8–15, 2015.

BERGFELT, D. R.; LIGHTFOOT, K. C.; ADAMS, G. P. Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. **Theriogenology**, v. 42, p. 895-900, 1994.

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

BO, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBULO, R.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53-72, 2002.

BOLAND, M. P.; GOULDING, D.; ROCHE, J. F. Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. **Theriogenology**, v. 35, p. 5-17, 1991.

BREUEL, K. F.; BAKER, R. D.; BUTCHER, R. L.; TOWNSEND, E. C.; INSKEEP, E. K.; DAILEY, R. A. LERNER, S. P. Effect of breed, age of donor and dosage of follicle stimulating hormone on the superovulatory response of beef cows. **Theriogenology**, v. 36, p. 241-255, 1991.

BUNGARTZ, L.; NIEMANN, H. Assessment of the presence of dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulation by a single ultrasound examination. **Journal Reproduction Fertility**, v 101, p. 583-591, 1994.

COLAZO, M.G.; BEHROUZI, A.; AMBROSE, D.J.; MAPLETOFT, R.J. Diameter of the ovulatory follicle at timed artificial insemination as a predictor of pregnancy status in lactating dairy cows subjected to GnRH-based protocols. **Theriogenology**, v. 84, p. 377-383, 2015.

DONALDSON, L. E. Embryo production in superovulated cows: transferable embryos correlated with total embryos. **Theriogenology**, v. 21, p. 517-524, 1984.

FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. P. Ovarian follicular dynamics in *Rev. Ciên. Vet. Saúde Públ.*, v. 2, n.2, p. 087-091, 2015

- Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 1489-1505, 1997.
- GINTHER, O. J. Selection of fominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p. 61-79, 2000.
- GINTHER, O. J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M. C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v.48, p. 75-87, 1997.
- GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less 8h through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**, v.52, p. 1079-1093, 1999.
- GOULDING, D.; WILLIAMS, D. H.; ROCHE, J. F.; BOLAND, M. P. Superovulation in heifers using either pregnant mares serum gonadotropin or follicle-stimulating-hormone during the mid luteal stage of the estrous-cycle. **Theriogenology**, v. 36, p. 949-958, 1991.
- GUILBAULT, L. A.; GRASSO, F.; LUSSIER, J. G.; ROUILLIER, P.; MATTON, P. Decreased superovulatory response in heifers superovulated in the presence of a dominant follicle. **Journal Reproduction Fertility**, v 91, p. 81-89, 1991.
- HAMMOND, J. Induced twin ovulations and multiple pregnancy in cattle. *J. Agri. Sci.*, v. 39, p. 222-225, 1949.
- HUHTINEN, M.; RAINIO, V.; ALATO, J.; BREDBACKA, P.; MAKI-TANILA, A. Increase ovarian responses in the absence of a dominant follicle in superovulated cows. **Theriogenology**, v. 37, p. 457-463, 1992.
- KAFI, M.; MCGOWAN, M. R. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, n. 48, p. 137-157, 1997.
- KELY, P.; DUFFY, P.; ROCHE, J. F.; BOLAND, M. P. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. **Animal Reproduction Science**, v. 46, p. 1-14, 1997.
- KULICK, L.J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v.52, p. 913-921, 1999.
- LOPEZ, H.; SARTORI, R.; WILTBANK, M.C. Reproductive hormones and follicular growt during development of one or multiple dominant follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 72, 788-795, 2005.
- LUSSIER, J. G.; LAMOTHE, P.; PACHOLEK, X. Effects of follicular dominance and different gonadotrophin preparations on the superovulatory response in cows. **Theriogenology**, v. 43, p. 270, 1995.
- MACIEL, M.; GUSTAFSSON, H.; RODRÍGUEZ-MARTINEZ, F. Superovulatory response in lactating cows with different follicular dynamics. **Journal Veterinary Medical Association**, v. 42, p. 123-129, 1995.