



## Estratégias farmacológicas para a manipulação do ciclo estral de fêmeas bovinas de raças de corte taurinas

*Pharmacological approaches to manipulate bovine estrous cycle in taurine beef breeds*

Jéssica Lazzari<sup>1</sup>, Gabriella dos Santos Velho<sup>2</sup>, Bernardo Garziera Gasperin<sup>3</sup>, Monique Tomazele Rovani<sup>4</sup>, Luiz Francisco Machado Pfeifer<sup>5</sup>; Rafael Gianella Mondadori<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Grupo FiBRA. jelazzari@hotmail.com,

<sup>2</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Setor de Grande Ruminantes. gabriellavelho95@gmail.com, <sup>3</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Grupo FiBRA. bbgasperin@gmail.com, <sup>4</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Setor de

Grande Ruminantes. mtrovani@gmail.com, <sup>5</sup>Embrapa Rondônia, Laboratório de Biotecnologia.

luizfembrapa@gmail.com, <sup>6</sup>Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Grupo FiBRA

### Resumo

Este texto discute as estratégias farmacológicas para a manipulação do ciclo estral de fêmeas taurinas de corte, com foco na inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Os zebuínos, rebanho predominante no Brasil, apresentam características de ciclo estral diferentes das raças taurinas, o que justifica a busca por estratégias hormonais adaptadas para o controle do ciclo estral nas subespécies. O estradiol combinado com a progesterona (P4) e prostaglandina F2 alfa (PGF) é o esquema hormonal mais comumente utilizado para a manipulação do ciclo estral em protocolos de IATF. Porém, o uso de GnRH combinado ou em substituição aos ésteres de estradiol vem sendo considerado. Coletivamente, os dados do nosso grupo reforçam a necessidade de customizar as abordagens para o controle do ciclo estral de acordo com a composição genética das fêmeas bovinas.

**Palavras-chave:** inseminação artificial em tempo fixo, ciclo estral, ovulação, raças taurinas, raças zebuínas

### Abstract

*This text discusses pharmacological strategies to manipulate the estrous cycle of taurine and synthetic females, with a focus on timed artificial insemination (TAI). Zebu cattle, the predominant herd in Brazil, have different estrous cycle characteristics than taurine breeds, requiring different synchronization hormonal strategies for each subspecies. Estradiol combined with progesterone (P4) and prostaglandin F2 alpha (PGF) is the most used hormonal scheme for estrous cycle manipulation in TAI protocols. But the use of GnRH instead of estradiol esters is being considered. Collectively, our group's data reinforce the need to customize approaches to estrous cycle control according to the genetic composition of bovine females.*

**Keywords:** timed artificial insemination, estrous cycle, ovulation, taurine breeds, zebu breeds

### Introdução

Dentre as biotécnicas reprodutivas, a inseminação artificial (IA) abrange 73% dos municípios brasileiros, com 23,5% das matrizes de corte sendo inseminadas (ASBIA, 2022). Os resultados demonstram um gargalo no melhoramento genético do país que pode ser ainda mais alavancado através da manipulação do ciclo estral juntamente à IA em tempo fixo (IATF). Para tal, faz-se necessário compreender as particularidades entre os grupos genéticos *Bos indicus* e *Bos taurus*, bem como das raças sintéticas, a fim de adequar as estratégias hormonais. Embora o rebanho nacional seja majoritariamente composto por raças zebuínas, há predominância de raças taurinas e sintéticas na região Sul do Brasil. Além disso, há crescente demanda por sêmen de raças taurinas e sintéticas para utilização em IATF nos cruzamentos com fêmeas zebuínas, o que pode gradativamente aumentar a participação da genética taurina no rebanho nacional.

O ciclo estral de fêmeas bovinas é caracterizado por apresentar de duas a três ondas foliculares, sendo que para fêmeas zebuínas há predominância de três ondas e em cada onda, maior número de folículos antrais são recrutados. A manifestação do estro é mais facilmente monitorada em fêmeas taurinas, pois as zebuínas apresentam menor duração do estro e manifestação principalmente à noite. Além disso, o diâmetro



do folículo dominante e ovulatório, a área do corpo lúteo (CL) e produção de progesterona (P4) são maiores em taurinas. Todavia, como o metabolismo hepático de fêmeas taurinas é maior, observa-se menor concentração sérica de hormônios esteroides (ALVAREZ *et al.*, 2000). Assim, a maior circulação de P4 endógena em zebrúinos explica a sensibilidade aos tratamentos com progestágeno em protocolos de sincronização e a possibilidade de múltipla utilização de implantes intravaginais. Nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido estudos em raças zebrúinas, taurinas e sintéticas com o objetivo de identificar as melhores estratégias para o controle do ciclo estral em novilhas e vacas. Nesta revisão serão discutidos os dados recentes de nosso grupo com foco nas particularidades e no controle do ciclo estral de fêmeas taurinas e sintéticas.

### Controle do ciclo estral em novilhas

A puberdade é caracterizada pelo primeiro estro seguido de ovulação e desenvolvimento de um corpo lúteo com duração adequada para o desenvolvimento embrionário até o reconhecimento materno da gestação, o que ocorre por volta dos dias 16 e 17 do ciclo. Uma característica de raças taurinas é a precocidade, em que novilhas *Bos taurus* podem atingir a maturidade sexual de 6 a 12 meses, enquanto fêmeas *Bos indicus* tornam-se púberes entre 18 e 24 meses (LASTER; SMITH; GREGORY, 1976; NOGUEIRA, 2004). A P4, na forma de dispositivo intravaginal (DIV) ou injetável (P4i) de longa ação (LA), pode ser usada previamente ao protocolo de IATF para induzir puberdade (DE LIMA *et al.*, 2020; KASIMANICKAM *et al.*, 2020), reduzindo a sensibilidade do hipotálamo à retroalimentação negativa do estrógeno produzido pelos folículos ovarianos.

Diversos estudos evidenciam a eficácia do tratamento com P4 para indução da puberdade em novilhas zebrúinas (DE LIMA *et al.*, 2020; KASIMANICKAM *et al.*, 2020). Em um estudo recente do nosso grupo, a P4i LA foi administrada (175 mg i.m.) em novilhas Angus (n = 462), de 14 a 16 meses, 48 e 24 dias (grupo 2P4i), ou apenas 24 dias (grupo 1P4i) antes do início do protocolo de IATF (D0: DIV P4+BE; D8: eCG, PGF, CE; D10: GnRH nas fêmeas sem cio), enquanto o grupo controle não recebeu P4i. Não foi observado diferença entre os grupos no escore de trato reprodutivo, taxa de ovulação, concentração sérica de P4 (7 e 14 dias pós IATF) e na taxa de prenhez (Controle = 49%; 2P4i = 46%; 1P4i=46%). Utilizando o mesmo delineamento em novilhas Brangus (n = 51), de 12 a 14 meses, também não foi observado efeito sobre a taxa de ovulação após o protocolo de IATF (D0: DIV P4+BE; D8: PGF+CE), sendo observado 56,2%, 61,1% e 58,8% de ovulação nos grupos controle, 2P4i e 1P4i, respectivamente (GULARTE, 2022 – dados não publicados). Acredita-se que os tratamentos com P4i não repercutiram em melhor taxa de prenhez de novilhas Angus devido à precocidade reprodutiva da raça e ao adequado ganho de peso médio diário (GMD; aproximadamente 0,7 kg/dia) durante o período experimental. Portanto, sugere-se que, em novilhas taurinas com adequado GMD, a utilização de protocolo convencional de IATF a base de E2-P4 com uso de gonadotrofina coriônica equina é suficiente para obter adequadas taxas de prenhez. Por outro lado, o tratamento com P4i em novilhas Brangus com peso médio de 302,1 kg no dia da IATF e baixo GMD (0,114 kg/dia) nos 60 dias que antecederam a IATF não repercutiu em aumento na taxa de ovulação possivelmente por se tratar de fêmeas com 14 a 16 meses que não apresentaram um GMD adequado. Além disso, as novilhas Brangus não receberam eCG, o que pode ter contribuído para a baixa taxa de ovulação observada.

Além de avaliar tratamentos hormonais previamente à IATF, nosso grupo tem buscado identificar parâmetros associados com o melhor desempenho reprodutivo de novilhas cíclicas. É bem estabelecido que o tamanho do folículo ovulatório está diretamente relacionado ao tamanho do CL, produção de P4 e manutenção da gestação (PFEIFER *et al.*, 2012). Em um estudo com novilhas *Bos taurus*, observamos que as fêmeas com CL maior que 14,95 mm apresentam maior taxa de prenhez do que novilhas com CL igual ou menor a esse limiar. Quando avaliada a perfusão sanguínea lútea (escores de 0 a 3), concluiu-se que os CL de 7 dias com escores 2 e 3 possuíam maior diâmetro e que a concentração de P4 era superior a 2,39 ng/ml quando o escore de perfusão era  $\geq 1$  (Velho *et al.*, 2022). Portanto, estudos em andamento têm buscado identificar abordagens que possibilitem maior crescimento folicular para obter melhores taxas de prenhez na IATF de novilhas taurinas.

### Abordagens para o controle do ciclo em vacas com cria

Dentre os esquemas hormonais para manipulação do ciclo para IATF, a associação de estradiol com P4 (DIV) é a mais difundida, associada a PGF para indução da luteólise, que é geralmente administrada



próximo ou no momento da remoção do DIV. Ainda, em vacas com cria geralmente é administrada a eCG no momento da remoção do DIV, para estimular o crescimento folicular final e aumentar as chances de ovulação e concepção. Finalmente, nesses protocolos são adicionados indutores de ovulação, principalmente cipionato de estradiol (CE) ou benzoato de estradiol (BE), opções de menor custo se comparados com análogos do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).

Em um estudo recente realizado com 506 vacas nelore pós-parto observou-se que a associação CE+GnRH (CE na retirada do implante e GnRH 34 h depois, com IATF às 48 h após CE) melhorou a sincronia da ovulação e intervalo entre ovulação e IATF, refletido na maior taxa de prenhez em comparação com vacas que receberam apenas CE (63.0% vs. 50.4% de prenhez, respectivamente) (BARBOSA et al., 2022). Entretanto, em vacas taurinas e sintéticas, utilizando um delineamento similar, não foi observado efeito sobre a síntese de P4 pelo CL e taxa de concepção (n = 430; CE = 51,6%; CE+GnRH = 54,1%) (VELHO et al., 2023 – dados não publicados). Em outro estudo realizado em vacas taurinas pós-parto que receberam CE na retirada do implante, avaliou-se o efeito da administração de GnRH no momento da IATF (48 h após CE). O tratamento foi positivo apenas nas vacas que não demonstraram estro (grupo GnRH seletivo), em comparação com a administração de GnRH em todas as vacas, independente do estro (grupo GnRH geral). No referido estudo, ainda não publicado, concluiu-se que a administração seletiva de GnRH, apenas nas vacas que não manifestam estro, é mais adequada, pois representa economia significativa de hormônio e possibilita taxa de concepção similar (n = 454; GnRH seletivo = 56,3%; GnRH geral = 53,4%).

Dada a necessidade de adaptação às exigências aos mercados internacionais, considerando a proibição do uso de ésteres de estradiol para fins reprodutivos em muitos países, a substituição do BE por GnRH tem se mostrado uma alternativa eficaz na sincronização de estro com fins de IATF. Em um estudo avaliando a aplicação de BE ou GnRH no D0; e o tratamento ou não com GnRH no momento da IATF em *Bos indicus*, as vacas tratadas com GnRH no D0 manifestaram mais estro, sem diferir na taxa de ovulação, conforme relatado por Madureira et al. (2020). Como indutor de ovulação, os mesmos autores demonstraram que a aplicação de GnRH no momento da IATF melhorou a taxa prenhez apenas em vacas submetidas ao protocolo BE/P4, que não haviam manifestado estro. Em *Bos taurus*, resultados preliminares do nosso grupo (*dados não publicados*) apontam que o GnRH pode substituir o BE em vacas taurinas com escore de condição corporal adequado (>3,5 em uma escala de 1 a 5), previamente sincronizadas com P4i, sem afetar o desempenho reprodutivo. Nesse estudo, comparando três protocolos hormonais distintos (n = 455), foram observadas taxas de prenhez superiores a 50% após a IATF, mesmo nas vacas que não receberam estradiol em nenhum momento. Não foi observada diferença no tamanho do folículo dominante, porcentagem de manifestação de estro e taxa de prenhez nos protocolos com e sem o uso de ésteres de estradiol.

### Fisiopatologia da ovulação em fêmeas bovinas

Além de estudos aplicados envolvendo o controle do ciclo estral, nosso grupo tem desenvolvido pesquisas avaliando mecanismos fisiológicos e patológicos da ovulação em bovinos. É bem estabelecido que a PGF é sintetizada em resposta ao pico pré-ovulatório do hormônio luteinizante (LH), sendo observado drástico aumento de sua concentração no fluido folicular cerca de 6 h antes da ovulação. Além disso, observamos que seus receptores estão presentes em maior proporção no folículo dominante que em subordinados e a expressão do seu receptor é estimulada concomitantemente com as enzimas envolvidas na ovulação (DE MORAES et al., 2021). Portanto, essa molécula também vem sendo estudada como um potencial indutor de ovulação. No estudo de Castro et al. (2021) observamos que a utilização de PGF, por via intramuscular, não induziu a ovulação quando associada a protocolos de sincronização de estro com alto ou baixo nível de P4. Contudo, a maior vascularização do folículo dominante indica seu efeito local. Da mesma forma, no estudo de De Moraes et al. (2021) não observamos efeitos na ovulação e, em vacas tratadas com o anti-inflamatório não esteroide flunixin meglumine (inibidor da síntese de PGF), o tratamento com dinoprost (análogo de PGF) repercutiu em diminuição na vascularização folicular e na concentração de PGF no fluido folicular. A fim de investigar o efeito local da PGF, no mesmo estudo de De Moraes et al. (2021), aplicou-se a PGF pela via intrafolicular e concluiu-se que não afetou o diâmetro do folículo pré-ovulatório e o tempo entre tratamento e ovulação, em relação ao grupo controle tratado com salina pela mesma via. Ainda, no estudo de Castro et al. (2021), a aplicação de PGF não induziu um pico de LH e não modificou as concentrações de estradiol e P4, não sendo capaz de induzir a luteinização folicular. Dessa forma, concluímos que a PGF isoladamente não é capaz de induzir a ovulação, embora seja sintetizada localmente, imediatamente antes da ruptura do folículo.

O processo de crescimento folicular e de ovulação é multifatorial, sendo dependente de fatores



secretados pelo oócito e pela condição metabólica da fêmea. Neste sentido, é necessário avaliar o ambiente folicular para determinação das diferentes rotas envolvidas nesses processos. Dentre os fatores secretados pelo oócito, a proteína morfogenética óssea 15 (BMP15) inibe o crescimento final do folículo dominante e a ovulação em bovinos. Ademais, a abundância de RNAm de receptores de BMP15 (BMPR1B) nas células da granulosa de folículos pré-ovulatórios foi correlacionada negativamente com a concentração de P4 e não apresentou correlação com a concentração de estradiol (HAAS *et al.*, 2022).

O estresse metabólico decorrente do balanço energético negativo culmina na produção de corpos cetônicos, como o  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB), que afeta negativamente a retomada da fertilidade no pós-parto (RUTHERFORD; OIKONOMOU; SMITH, 2016), uma vez que reduz a taxa de crescimento folicular (MISSIO *et al.*, 2022). Missio *et al.* (2022) ao avaliarem os efeitos do BHB aplicado por via intrafolicular, observaram que essa molécula não afetou a concentração de estradiol nem de P4 e não alterou a expressão de genes da cascata ovulatória. Uma vez que os animais não se encontravam em balanço energético negativo, especulou-se que o BHB foi metabolizado pelas células da granulosa, reestabelecendo sua funcionalidade sem prejudicar a ovulação.

### Considerações finais

O presente artigo mostra a necessidade de compreender as particularidades entre os grupos genéticos (*Bos indicus* x *Bos taurus*) para adequar as estratégias hormonais para controle do ciclo estral em bovinos. Em novilhas Angus de 14 meses, nossos resultados mostram que a progesterona de longa ação não foi eficaz em promover aumento da taxa de concepção devido à precocidade reprodutiva da raça e ao adequado ganho de peso médio diário. No que se refere aos indutores de ovulação, a associação de CE+GnRH demonstrou-se vantajosa em vacas zebuínas, mas não em taurinas. A administração seletiva de GnRH, apenas nas vacas que não manifestam estro até o momento da IATF, é a abordagem mais racional, em comparação ao tratamento de todos os animais. A substituição do estradiol pelo GnRH tem se mostrado uma alternativa eficaz na sincronização de estro com fins de IATF em vacas taurinas com adequada condição corporal, considerando a proibição do uso de ésteres de estradiol para fins reprodutivos em muitos países.

### Referências

- Alvarez, P. et al.** Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal of animal science*, v.78, n.5, p.1291–1302, 2000. ASBIA. INDEX ASBIA 2022. Disponível em: <<https://asbia.org.br/index-asbia/>>. Acesso em: 15 abr. 2023.
- Barbosa IP. et al.** GnRH34: an alternative for increasing pregnancy in timed AI beef cows. *Theriogenology*, v.179, p.1–6, 2022.
- De Castro NÁ. et al.** The role of prostaglandin F2 $\alpha$  on ovulation and LH release in cows. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.58, p.175001–175001, 2021.
- De Lima RS. et al.** Effect of a puberty induction protocol based on injectable long acting progesterone on pregnancy success of beef heifers serviced by TAI. *Theriogenology*, v.154, p.128–134, 2020.
- De Moraes FP. et al.** Prostaglandin F2 $\alpha$  regulation and function during ovulation and luteinization in cows. *Theriogenology*, v.171, p.30–37, 2021.
- Haas CS. et al.** Bone morphogenetic protein 15 intrafollicular injection inhibits ovulation in cattle. *Theriogenology*, v.182, p.148–154, 2022.
- Kasimanickam RK. et al.** Cyclicity, estrus expression and pregnancy rates in beef heifers with different reproductive tract scores following progesterone supplementation. *Theriogenology*, v.145, p.39–47, 2020.
- Laster DB, Smith GM, Gregory KE.** Characterization of biological types of cattle IV. Postweaning growth and puberty of heifers. *Journal of Animal Science*, v.43, n.1, p.63–70, 1976.
- Madureira G. et al.** Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle II: Reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. *Theriogenology*, v.145, p.86–93, 2020.
- Missio D. et al.** Increased  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHBA) concentration affect follicular growth in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.243, p.107033, 2022.
- Nogueira GP.** Puberty in South American *Bos indicus* (zebu) cattle. *Animal reproduction science*, v.82, p.361–372, 2004.



**Pfeifer LFM. et al.** Revista Brasileira de Zootecnia Effect of the ovulatory follicle diameter and progesterone concentration on the pregnancy rate of fixed-time inseminated lactating beef cows. Revista Brasileira de Zootecnia, v.41, n.4, p.1004–1008, 2012.

**Rutherford AJ, Oikonomou G, Smith RF.** The effect of subclinical ketosis on activity at estrus and reproductive performance in dairy cattle. Journal of dairy science, v.99, n.6, p.4808–4815, 2016.

**Velho G, Dos S. et al.** Blood perfusion and diameter of bovine corpus luteum as predictors of luteal function in early pregnancy. Reproduction in Domestic Animals, v.57, n.3, p.46–252, 2022.

---