

DIFERENTES POSOLOGIAS DE FLUNIXIN MEGGLUMINE NA PREVENÇÃO DA REGRESSÃO PREMATURA DE CORPOS LÚTEOS EM CABRAS SUPEROVULADAS

(Different flunixin meglumine administrations to control of the corpus luteum premature regression in superovulated goats)

Hévila Oliveira SALLES^{1*}, Adriana Trindade SOARES¹, Alice ANDRIOLI¹, Pedro Alves de Moura SOBRINHO¹ & Hymerson Costa AZEVEDO²

¹EMBRAPA-CNPC, ²EMBRAPA-CPATC

RESUMO

O presente trabalho objetivou testar a eficiência na redução da frequência de aplicações do flunixin meglumine a partir de duas dosagens, em relação à taxa de corpos lúteos regredidos prematuramente. Utilizou-se 18 fêmeas de raças caprinas leiteiras, Saanen e Anglo-nubiana, as quais foram submetidas à sincronização do estro com esponjas intravaginais e cloprostenol, e à superovulação com FSH suíno. Três dias após a retirada das esponjas os animais foram submetidos a três tratamentos (T1; T2 e T3) com as seguintes dosagens de flunixin meglumine por kg de peso corpóreo (PC) e por aplicação: 1,1mg; 1,1mg e 2,2 mg, respectivamente, sendo realizadas em T1 oito aplicações intervaladas por 12 horas e em T2 e T3 quatro aplicações intervaladas por 24 h. Observou-se diferença significativa ($P<0,05$) na percentagem de corpos lúteos regredidos para os tratamentos com uma única aplicação diária (T2 - 14,29 e T3 - 22,58) em relação ao tratameto com duas aplicações diárias (T1 - 0,00), o que leva a supor que a duração do efeito do flunixin meglumine, em cabras, seja inferior a 24 horas, tornando o regime de aplicação, com esse intervalo de frequência, ineficiente em inibir totalmente a regressão prematura de corpos lúteos. No entanto, a média de embriões colhidos e a viabilidade deles não variaram entre os tratamentos. Em adição, a percentagem de estruturas colhidas foi superior no tratamento que utilizou 1,1 mg.kg⁻¹ por PC em uma aplicação (T1 - 80,36) em relação a duas aplicações diárias (T1 - 54,88). Desta forma, buscando-se a praticidade e a redução na concentração da droga utilizada por cabra, pode-se indicar para o tratamento anti-luteolítico a dosagem de 1,1 mg.kg⁻¹ por PC, administrada uma vez ao dia.

PALAVRAS-CHAVE: caprinos, superovulação, corpo lúteo, regressão prematura

ABSTRACT

The present study has tested the efficiency of the reduction of frequency of applications of flunixin meglumine from a two doses use, in relation to the rate of premature corpus luteum regression. the oestrus cycles of 18 does of Saanen and Nubian breeds were synchronized with intravaginal pessaries and cloprostenol, and superovulated with porcine FSH. Three days after withdrawal of sponges three treatments were begun (T1;T2 e T3) with 1.1mg, 1.1mg and 2.2 mg.kg⁻¹ of flunixin meglumine administered, respectively. The does of T1 received eight applications, with 12 h of interval and T2 e T3, four applications with an interval of 24 hours. Significant difference ($P<0.05$) was observed on

*Autor para correspondência:
Cx Postal D-10, 62011-970, Sobral-CE,
e-mail: hevila@cnpc.embrapa.br

the percentage of regressed corpus lutea between the treatment that used only one application daily (T2 - 14.29 and T3 - 22.58), and that which used twice applications daily (T1 - 0.00). This finding suggests that the duration of the flunixin effect in goats is shorter than 24 hours, making the application regime with this interval of frequency inefficient to completely inhibit the premature regression of the corpus luteum. However, the rate of recovered and embryos viability did not change between treatments. In addition, the percentage of recovered structures was higher in the treatment that used 1.1 mg.kg⁻¹ on one administration daily (T2 - 80.36) than that used two daily administration (T1 - 54.88). Thus our study suggests that in respect of convenient treatment and reduction of the dose used in goats, the dosage of 1.1 mg.kg⁻¹ once daily is indicated.

KEY WORDS: goats, superovulation, corpus luteum, premature regression

INTRODUÇÃO

Através da superovulação, técnica básica em um programa de transferência de embriões, a taxa de ovulação pode ser aumentada mediante uso de hormônios gonadotróficos exógenos, ao proporcionarem que um número maior de folículos se desenvolva e resulte em ovulações (SCHIEWE et al., 1990; PENDLETON et al., 1992). Entretanto, na espécie caprina, a regressão prematura de corpos lúteos é ressaltada como o grande obstáculo na produção de embriões, atingindo percentuais de 45,05 a 48,40% em cabras superovuladas (SOARES et al., 1995; TRALDI et al., 1996) o que leva, geralmente, independente da gonadotrofina utilizada, a uma baixa taxa de recuperação de embriões viáveis (ARMSTRONG et al., 1983a).

Dentre as possíveis causas da regressão do corpo lúteo, a liberação precoce de prostaglandina foi avaliada por BATTYE et al. (1988) podendo ter origem folicular, sendo proveniente de folículos estimulados mas que não ovularam; ou uterina, em resposta ao prolongado estímulo de elevados níveis circulantes de estrógeno (ARMSTRONG et al., 1983b). Esta hipótese levou alguns autores a avaliarem a eficiência de drogas anti-prostaglandínicas, como o flunixin meglumine, no controle da regressão prematura de corpos lúteos (BATTYE et al., 1988, GILBERT et al., 1990, TRALDI et al., 1995; 1996). SOARES et al. (1995), também testando a eficiência do flunixin meglumine, aliaram a este o objetivo de reduzir a dosagem utilizada até então (2,2 mg.kg⁻¹ por peso corpóreo)

e concluíram que a aplicação de 1,1 mg.kg⁻¹ por peso corpóreo, por cabra superovulada, é efetiva em reduzir o número de corpos lúteos regredidos. Contudo, tem sido preconizadas, de oito a dez aplicações, com intervalo de 12 horas, por animal. Objetivando determinar um protocolo mais simplificado, o presente trabalho testou a eficiência na redução da dosagem e frequência das aplicações intramusculares de flunixin meglumine.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Fazenda Três Lagoas, sede da EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, localizada no município de Sobral-Ceará, Nordeste do Brasil.

Foram utilizadas 18 cabras em três grupos de seis animais sendo quatro da raça Saanen e duas da raça Anglo-nubiana distribuídas de acordo com o peso corporal e a idade, esta variando entre três e sete anos, todas pluríparas, em boa condição corporal e com média de peso de 41,51±3,35 kg.

Os animais foram mantidos em sistema semi-intensivo, onde tinham acesso diário à pastagem nativa, água, sal mineral e a capim elefante picado (*Pennisetum purpureum*) *ad-libitum*, a leucena (*Leucaena leucocephala*) no cocho e a 300 g por dia de uma mistura concentrada contendo 75% de NDT e 18% de proteína bruta.

Todas as fêmeas tiveram o estro sincronizado com esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (Promone-E: Rhodia-

Mérieux), durante 11 dias. No nono dia do tratamento com progestágeno aplicou-se 50 mg de cloprostenol (Ciosin: Pitman-Moore) e iniciou-se o tratamento superovulatório com 37,5 unidades de NIH-FSH-S1 (Super-ov: Ausa), fracionadas em seis aplicações decrescentes, intervaladas por 12 h. As observações de estros e de coberturas, foram monitoradas no início da manhã e final da tarde a partir de 12 h após o final do tratamento com progestágeno até a não mais aceitação da monta.

Três dias após a retirada das esponjas os animais foram subdivididos em três tratamentos (T1; T2 e T3). Os tratamentos constaram de aplicações intramusculares de flunixin meglumine (Banamine: Schering) em duas dosagens distintas por aplicação, 1,1 mg.kg⁻¹ por peso corpóreo (PC) em T1 e T2 sendo oito as aplicações no T1, intervaladas por 12 horas e quatro no T2, intervaladas de 24 h. Os animais do T3 receberam 2,2 mg.kg⁻¹ de PC em quatro aplicações, intervaladas por 24 h. O grupo T1 funcionou nesse trabalho como grupo testemunha, diante do fato de termos obtido em trabalho anterior (SOARES et al., 1995) os melhores resultados no controle da regressão prematura do corpo lúteo com o uso dessa dosagem em relação a outras dosagens e ao grupo não tratado.

Entre o 6° e o 7° dia após o início do estro (dia 0), todas as fêmeas foram submetidas à laparotomia para observação da resposta ovariana e colheita de embriões. Quarenta e oito horas antes da laparotomia foi iniciado jejum hidroalimentar. Para a intervenção cirúrgica realizou-se medicação pré-anestésica com sulfato de atropina a 1,0% (Atropina 1% Calbos: Calbos) seguida, dez minutos após, da aplicação de 0,30 mg.kg⁻¹ de PC de cloridrato de xilazina a 2,0% (Rompun: Bayer) e dez minutos depois, anestesia epidural (espaço lombo-sacro) com aplicação de 0,2 ml.kg⁻¹ de PC de cloridrato de lidocaína a 2,0% (Anestésico Bravet: Bravet).

Os animais foram contidos em mesa cirúrgica, em decúbito dorsal e em ângulo de 60°, com a cabeça posicionada para baixo. Uma incisão de 7 cm foi realizada na linha média a aproximadamente, 7 cm cranial ao úbere. O útero

e os ovários foram exteriorizados, para avaliação das respostas ovarianas e colheita dos embriões, sendo, posteriormente, reintroduzidos na cavidade abdominal.

Para a colheita de embriões utilizou-se sonda de Foley nº 8, que foi introduzida em uma incisão realizada com trocarer de 3 mm de diâmetro na curvatura maior do corno uterino. Na junção útero-tubárica foi introduzido um catéter de 0,5 mm de diâmetro, por onde foi injetado o líquido de colheita a 37°C, ou seja, solução salina fosfatada tamponada (PBS) acrescida de 1,0% de soro ovino inativado a 56°C por 30 min e de 40 mg de gamicina por litro.

Os embriões foram recuperados diretamente em placas de petri posicionadas próximas à sonda de Foley. Cada corno foi lavado, duas vezes, com 40 ml de PBS, dividido em duas porções de igual volume.

Sob estereomicroscópio, os embriões foram avaliados e classificados segundo o preconizado pela Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões (SBTE). Somente os embriões de grau I (excelente), II (bom) e III (regular) foram considerados viáveis.

Os dados referentes ao início e duração do estro e à taxa de ovulação foram submetidos à análise de variância, com comparação entre as médias, realizada através do teste t de Student. Utilizou-se o qui-quadrado (c²) para analisar as percentagens de fêmeas em estro, de corpos lúteos regredidos, de estruturas colhidas, de embriões por estruturas colhidas e de embriões viáveis (BANZATTO & KRONKA, 1989).

RESULTADOS

Todas as 18 fêmeas exibiram estro após a retirada das esponjas. As respostas de estro e ovulação estão sumarizadas na Tab. 1. Não houve diferença estatística (P>0,05) entre os tratamentos quanto à percentagem de animais em estro, ao início do estro após a retirada das esponjas, à duração do estro e à taxa de ovulação.

Das fêmeas que ovularam, ou seja, seis no T1, seis no T2 e cinco no T3, nenhuma (0,0%) do T1, uma (16,67%) do T2 e duas (40,0%) do

Tabela 1. Respostas de estros e ovarianas em cabras sincronizadas e superovuladas, tratadas com flunixin meglumine

Trat	N	Estro (%)	Início do estro ¹ (h)	Duração do estro (h)	Taxa de Ovulação	Corpos lúteos regredidos (%)
T1	6	100,0	30,0±6,57a	32,0±6,20 ^a	13,67±6,25a	0/82 (0,00)a
T2	6	100,0	32,0±9,80a	30,0±6,57 ^a	9,33±8,50	8/56 (14,29)b
T3	6	100,0	38,0±11,80a	28,0±6,20	12,40±3,65	14/62 (22,58)b

¹Período transcorrido entre a remoção das esponjas e o início do estro

* Letras diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística significativa (p<0,05)

T3 apresentaram corpos lúteos regredidos, sem diferirem estatisticamente (P>0,05) entre si. No entanto, ao se comparar as percentagens de corpos lúteos regredidos prematuramente, o T1 diferiu (P<0,05) do T2 e T3 e esses foram estatisticamente (P>0,05) similares.

Os dados referentes às estruturas recuperadas pós-colheita encontram-se na Tab. 2. No T1 houve uma redução significativa (P<0,05) na taxa de recuperação de estruturas em relação ao T2. Contudo, não houve diferença entre os tratamentos (P>0,05) ao se avaliar a média de embriões colhidos, a viabilidade dos embriões e a percentagem de embriões obtida em relação às estruturas colhidas.

Se comparada a taxa de recuperação embrionária entre fêmeas com corpos lúteos funcionais com a daquelas com corpos lúteos regredidos, 69,23% e 51,61%, respectivamente, independente do tratamento, não se observou diferença (P>0,05) entre os dois grupos, bem como quanto à taxa de ovulação, 12,07±7,09 e 10,33±2,08, respectivamente, e à qualidade embrionária, 94,95% e 100,0%, respectivamente.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente experimento demonstraram que a superovulação pode ser eficientemente induzida em cabras com o uso do protocolo adotado, onde a taxa de ovulação e a média de embriões obtidas mostraram ser similares às descritas por outros autores, como revisado por BARIL et al. (1993), após superovulação em caprinos com o uso de FSH suíno.

No entanto, a qualidade dos corpos lúteos por ocasião da colheita pode ser prejudicada pela liberação prematura de prostaglandina, determinando a luteólise.

O uso de drogas anti-prostaglandínicas no controle da regressão de corpos lúteos fundamenta-se no bloqueio da síntese das prostaglandinas, substâncias essas que se comportam como importantes mediadores na fase vascular da reação inflamatória aguda (FERREIRA, 1985), afora serem consideradas como o fator luteolítico mais potente e comum a todas as espécies (INSKEEP, 1973). O flunixin meglumine se caracteriza como uma eficiente droga anti-inflamatória, sendo usada em bovinos no tratamento de endotoxemia e mastite e como droga analgésica (ODENSVIK et al., 1991), a

Tabela 2: Estruturas e embriões recuperados por fêmeas superovuladas

Trat	N	Estruturas recuperadas (%)	Embriões colhidos (X±S)	Embriões viáveis (%)	Embriões/Estruturas colhidas (%)
T1	6	45/82 (54,88)a	6,5±3,21a	39/39 (100)a	39/45 (86,67)a
T2	6	45/56 (80,36)b	6,3±7,47a	34/38 (89,47)a	38/45 (84,44)a
T3	6	46/62 (69,35)ab	6,0±3,67a	29/30 (96,67)a	30/43 (69,77)a

qual detém a propriedade essencial de inibir seletivamente enzima ciclo-oxigenase, ação que resulta na reduzida formação de prostaglandina e substâncias relacionadas (ODENSVIK et al., 1989).

SOARES (1996) e TRALDI et al. (1996) relatam em seus trabalhos taxas de luteólise prematura de 45,05 e 48,40%, respectivamente, para cabras superovuladas e não tratadas com flunixin meglumine. No presente trabalho, sendo os percentuais de regressão lútea apresentados nos três tratamentos inferiores aos da literatura citada, confirma-se a eficácia do flunixin meglumine em reduzir a regressão prematura de corpos lúteos em cabras superovuladas, reforçando a existência do envolvimento da prostaglandina no processo.

A redução significativa ($P < 0,05$) na taxa de corpos lúteos regredidos, no grupo tratado com flunixin meglumine a intervalos de 12 h (T1), em relação aos grupos que receberam o tratamento a intervalos de 24 h (T2 e T3), sugere que, em caprinos, a meia vida dessa droga seja inferior a 24 h e que independa da dose utilizada, já que ao se aumentar a dose em T3, em relação a T2, não se reduziu a taxa de corpos lúteos regredidos. No entanto, diante de um certo controle na taxa de luteólise observada nos grupos T2 (14,29%) e T3 (22,58%), propõem-se que essa meia vida esteja sujeita a uma certa variação individual como observado por ODENSVIK et al. (1991), ao estudarem o efeito do flunixin meglumine nos níveis de metabólitos da prostagandina $F_{2\mu}$ em bovinos, e observarem que a duração do efeito da droga, após aplicação de $2,2 \text{ mg.kg}^{-1}$, em única aplicação, variou de 17,5 a 39,5 h, com média de 25 h.

Comparando as fêmeas com corpos lúteos funcionais com aquelas com corpos lúteos regredidos, os resultados alcançados para a taxa de recuperação embrionária estão de acordo aos observados por GILBERT et al. (1990) porém, vão de encontro às observações de ARMSTRONG et al. (1983a), ARMSTRONG et al. (1987) e SOARES (1996), os quais observaram redução na recuperação de embriões nos animais com corpos lúteos regredidos.

Não se observou redução na viabilidade

embrionária com o aumento da dose de flunixin meglumine, como reportado por SOARES (1996). Em adição, com a redução no número de aplicações foi possível aumentar a taxa de estruturas recuperadas (T1 - 54,88% vs. T2 - 80,36%) e se compararmos os achados do T₃, quanto à percentagem de estruturas recuperadas após a administração de flunixin meglumine em uma única aplicação diária, com os resultados obtidos no tratamento testado por SOARES (1996), onde se utilizou a mesma dosagem porém, em duas aplicações diárias, observa-se que com a redução no número de aplicações pode-se, de fato, aumentar a taxa de recuperação, ou seja, de 49,48% observada por SOARES (1996), para 69,35% obtida em T3 no presente trabalho.

Desta forma, embora a baixa concentração de flunixin meglumine na corrente sanguínea reduza a eficiência do tratamento anti-luteolítico ao permitir a ocorrência de regressão lútea prematura, altas concentrações podem reduzir a taxa de recuperação de estruturas. Sendo o objetivo de um programa de superovulação, a obtenção de um número significativo de embriões viáveis e observando-se, a partir dos resultados, que as médias de embriões obtidos não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$), bem como a viabilidade deles, para simplificar e reduzir os custos da utilização do tratamento anti-luteolítico em cabras, preconiza-se a adoção da dose de $1,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ de PC, em uma única administração diária.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMSTRONG, D. T., KIEHM, D. J., WARNES, G. M. & SEAMARK, R. F. 1987. *Corpus luteum* (CL) failure and embryonic loss in superovulated goats. *Theriogenology*, 27:207.
- ARMSTRONG, D. T., PFITZNER, A. P., WARNES, G. M., RALPH, M. M. & SEAMARK, R. F. 1983b. Endocrine responses of goats after induction of superovulation with PMSG and FSH. *J. Reprod. Fertil.*, 67:395-401.
- ARMSTRONG, D. T., PFITZNER, A. P., WARNES, G. M. & SEAMARK, R. F. 1983a. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J. Reprod. Fertil.*, 67:403-410.

- BANZATTO, D. A. & KRONKA, S. N. 1989. *Experimentação Agrícola*. FUNEP/FCAP-UNESP, Jaboticabal-SP, 247p.
- BARIL, G., BREBION, P. & CHESNÉ, P. 1993. Manuel de formation pratique pour la transplantation embryonnaire chez la brebis et la chèvre. Étude FAO production et santé animales, 115, FAO, Rome, 183p.
- BATTYE, K. M., FAIRCLOUGH, R. J., CAMERON, A. W. N. & TROUNSON, A. O. 1988. Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.*, 84:425-430.
- FERREIRA, S. H. 1985. Aspirinas x Dor, como funcionam estas drogas. *Ciência Hoje*, 3:56-62.
- GILBERT, D. E., COONROD, S. A., WHITING, C. J. & PASHEN, R. L. 1990. Comparison of a progesterone intravaginal device (CIDR™) with flunixin meglumine (Finadyne™) for reducing the effects of corpora lutea regression in the goat. *Theriogenology*, 33:230.
- INSKEEP, E. K. 1973. Potential uses of prostaglandins in control of reproduction cycles of domestic animals. *J. Anim. Sci.*, 36:1149-1157.
- ODENSVIK, K., AIUMLAMAI, S. & KINDHAL, H. 1991. Effect of flunixin meglumine on prostaglandin F₂μ metabolite levels in the heifer. *Acta Vet. Scand.*, 87:264-266.
- ODENSVIK, K., CORT, N., BASU, S. & KINDAHL, H. 1989. Effect of flunixin meglumine on prostaglandin F₂μ synthesis and metabolism in the pig. *J. Vet. Pharmacol Therap.*, 12:307-311.
- PENDLETON, R. J., YOUNGS, C. R., RORIE, R. W., POOL, S. H., MEMON, M. A. & GODKE, R. A. 1992. Follicle stimulating hormone versus pregnant mare serum gonadotropin for superovulation of dairy goats. *Small Rum. Res.*, 8:217-224.
- SCHIEWE, M. C., HOWARD, J. G., GOODROWE, K. L., STUART, L. D. & WILDT, D. E. 1990. Human menopausal gonadotropin induces ovulation in sheep, but embryo recovery after prostaglandin F₂a synchronization is compromised by premature luteal regression. *Theriogenology*, 34:469-486.
- SOARES, A. T. 1996. *Diferentes doses de flunixin meglumine na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em cabras superovuladas*. Pernambuco: Universidade Federal Rural de Pernambuco, (Dissertação Mestrado) 64 p.
- SOARES, A. T., SIMPLÍCIO, A. A., PINHEIRO-ANDRIOLI, A., SALLES, H. O., MOURA-SOBRI-NHO, P. A., SOARES, B. A., MORAES, J. B. & WANDERLEY, K. O. 1995. Uso de flunixin meglumine para impedir a regressão prematura de corpos lúteos após a superovulação em caprinos. *ARS Vet.*, 11:112-113.
- TRALDI, A. S., VISINTIN, J. A., MIZUTA, K. & DELA LIBERA, A. M. P. 1995. Utilização de antiprostaglandínico na prevenção da regressão prematura de corpos lúteos em caprinos. In: *XI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 1995, p.244.
- TRALDI, A. S., VISINTIN, J. A., MIZUTA, K., DE LA LIBERA, A. M. P., SILVA, E. C. & RODRIGUES, P. H. M. 1996. Resposta superovulatória de caprinos à gonadotrofina da menopausa humana (hMG). *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 24:218