



## USO DE GONADOTROFINA FOLÍCULO ESTIMULANTE PARA O AUXÍLIO DO CRESCIMENTO FOLICULAR FINAL EM VACAS EM ANESTRO NA IATF : FOLLTROPIN®

FOLLTROPIN® é um produto à base de Hormônio Folículo Estimulante (FSH) purificado (84% FSH: 16%LH), extraído de pituitárias (hipófises) de suínos abatidos para alimentação humana. Sua principal atividade é estimular o crescimento folicular nos ovários agindo através de receptores específicos.

Mundialmente consagrado, utilizado em altas doses para provocar superestimulação em fêmeas doadoras em programas de transferência de embriões por mais de 3 décadas, Folltropin® tem demonstrado também, nos últimos 3 anos, sua eficácia e segurança, em baixas doses, nos protocolos de inseminação em tempo fixo (IATF).

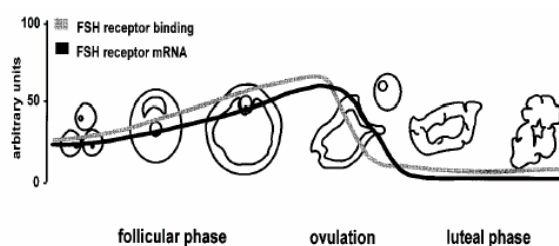
Na IATF, Folltropin® é utilizado como estimulante no crescimento folicular final, possibilitando que o folículo dominante atinja seu estágio pré-ovulatório responsivo ao estímulo de indução de ovulação, favorecendo uma maior taxa de ovulação e a formação de corpo lúteo bastante ativo na produção de progesterona. Tal contribuição é consistentemente observada em vacas em anestro, em pós-parto recente ou com baixo escore de condição corporal, as quais necessitam de um aporte extra de gonadotrofinas. Essa ação estimulatória do Folltropin é consistente, podendo ser utilizado repetidamente sem perda de eficiência, pois seu uso repetitivo não produz resposta imunológica, uma vez que se trata de uma glicoproteína de baixo peso molecular.

Adicionalmente, o FSH (Folltropin®) é, sem dúvida, o único princípio ativo disponível no mercado mundial, cuja escala de produção poderá acompanhar o aumento da demanda dessa droga nos programas de inseminação, à medida que o uso da IATF se torne cada vez mais comum no manejo reprodutivo do nosso rebanho, garantindo um melhor abastecimento do mercado.

Este boletim, tem por objetivo, elucidar melhor os mecanismos da atuação do FSH e do raciocínio que foi utilizado para se chegar a nova utilização desta droga que originalmente, e por mais de 3 décadas, foi utilizada para produzir superovulação em doadoras de embriões.

### Mecanismo de Ação

A ação do FSH sobre o crescimento folicular ocorre devido ao desencadeamento de uma cadeia de reações provocadas a partir da sua ligação com receptores localizados nas células da granulosa do ovário das fêmeas. Estes receptores de FSH estão presentes em folículos bem jovens com apenas 1 camada de células e, a medida que o folículo cresce (amadurece) e aumentam as camadas de células foliculares, os receptores de FSH também aumentam em quantidade e capacidade de ligação ao FSH, até o folículo atingir o estágio pré-ovulatório. Alguns estudos *in vitro* mostraram que o tratamento com FSH amplifica a expressão de seus próprios receptores (1). Após o pico de LH e a ovulação, as células foliculares se tornam luteínicas e a presença dos receptores de FSH diminui drasticamente.



Variações nas concentrações de FSH são observadas durante as fases folicular e luteínica do ciclo estral e em intervalos periódicos regulados pelo  $17\beta$ -estradiol e inibina (II). Após a fase de divergência da onda folicular e estabelecimento da dominância, os níveis de FSH são criticamente importantes ao folículo dominante, pois alguns estudos demonstraram interrupção de seu crescimento em situações de supressão deste hormônio (III e IV).

O grupo do Prof. D'occhio (University of Queensland, Austrália), o qual vem desenvolvendo trabalhos de pesquisa nesta área há mais de 10 anos, utiliza implantes de deslorelina (superagonista de GnRH) como modelo de estudo ao crescimento folicular e maturação oocitária em fêmeas bovinas. Estes implantes bloqueiam os receptores de GnRH na hipófise, insensibilizando-a à ação do GnRH endógeno, conseqüentemente bloqueando a pulsatilidade de LH e liberação de FSH endógenos, mantendo-os em níveis basais. Desta forma, os ovários das fêmeas tratadas apresentam uma população de folículos uniforme em estágios iniciais de crescimento, entre 2 -4 mm. Neste modelo, é possível verificar a exata atuação do FSH exógeno sobre esses folículos, sem a influencia de gonadotrofinas endógenas. Em um de seus estudos (2004), Dr. D'Occhio comprovou que uma única aplicação de Folltropin em solução salina, estimulou o crescimento desses folículos iniciais durante 48 horas, atingindo tamanhos de 6 a 8 mm, em fêmeas zebuínas. O FSH purificado foi capaz de desencadear o desenvolvimento folicular até estágios pré-ovulatórios, mesmo sem influência do LH endógeno. Tais achados também foram citados, por outros autores, em ovelhas, macacos e mulheres (V, VI, VII e VIII).

Alguns experimentos em andamento do grupo do Prof. Ciro Barros, ainda não publicados, mas apresentados na 36ª Conferência da IETS (2010), também mostraram indícios da importância do FSH no crescimento folicular final nos protocolos de superovulação. Comparou-se o protocolo convencional de 8 aplicações de FSH, em intervalo de 12/12h, com a substituição das últimas 2 doses por eCG, LH ou associação de FSH + LH. Os resultados demonstraram que o grupo onde o crescimento final foi estimulado somente com LH, não produziu ovulações ou embriões viáveis, enquanto que os grupos estimulados com a associação FSH/LH produziu normalmente, demonstrando a importância da presença de FSH na fase final de crescimento folicular.

## Pesquisas Tecnopec

Com base no conceito de que a atuação do FSH exógeno estimula o crescimento folicular por períodos próximos a 48 horas (V), a Tecnopec realizou experimentos objetivando diminuir o número de aplicações de FSH para facilitar o manejo dos programas de SOVTF. Os resultados dos experimentos com 3 aplicações de Folltropin® a cada 36 horas em fêmeas zebuínas comprovaram que a atuação do FSH foi eficiente em superestimular o ovário e o crescimento folicular de forma semelhante ao protocolo padrão com 8 aplicações a cada 12 horas, sem diferença no número de estruturas totais, embriões transferíveis, congeláveis (IX).

Resposta superovulatória e produção de embriões na redução de doses de FSH no tratamento de vacas Nelore. D0: inserção Primer® + RIC-BE®; D4: início dos tratamentos com Folltropin®; D6: Prolise®; D7: retirada Primer®; D8: Lutropin®.

	Estruturas Totais	Embriões Transferíveis	Embriões Congeláveis
G1 - 8 FSH	10,8 ± 3,3	7,2 ± 1,7	6,9 ± 1,5
G2 - 3 FSH	9,3 ± 2,7	7,0 ± 2,0	6,6 ± 2,0

*Martins C. M.; Santos I.C.C.; Valentim R. et al.; SBTE 2008*

Baseada nesse mesmo conceito do tempo de atuação do FSH, em 2006, a **Tecnopec** iniciou suas pesquisas na utilização do Folltropin® na IATF, com o objetivo de desenvolver protocolos mais precisos, seguros e com o melhor custo-benefício ao produtor, através da obtenção da máxima produtividade. No primeiro ano, estabeleceu-se a eficácia e segurança da dose de 10 mg de Folltropin® em vacas, comprovada tanto em situação experimental como no uso em situações de campo, utilizando-se o protocolo IATF-BED9. No ano subsequente, a eficácia dessa dose de Folltropin foi desafiada no protocolo IATF-BED8 (3 passagens), mostrando-se igualmente eficiente. Com isso, a partir de 2007, a Tecnopec tem indicado o uso do Folltropin na IATF e acompanhado o resultado de campo dos seus clientes, cada vez mais satisfeitos com a praticidade do uso dos protocolos e a consistência de seus resultados, ano após ano.

## Experimento I: Triagem de dose de Folltropin para IATF

Como não havia precedentes no uso do Folltropin® com o intuito de se obter o crescimento de um único folículo e a partir do seu estágio de dominância, o raciocínio do estudo de triagem de dose iniciou-se pela determinação da dose “teto”, tomando-se por referência a dose total utilizada no 3º dia do protocolo de superovulação (D6), isto é 20% da dose total para Zebu (133mg), considerando-se o protocolo decrescente, porque neste dia é que encontramos folículos de tamanho entre 6-8mm, tamanho semelhante ao que encontramos no momento da retirada do dispositivo de progesterona (D8) em vacas no protocolo IATF.

Partindo da dose máxima ( “teto”) de 30mg de Folltropin®, considerou-se testar duas doses menores, reduzindo-se em 35% (20 mg) e 70% (10 mg) aproximadamente, para se obter uma dose estimulante, porém que induzisse o crescimento de somente um folículo, já que na IATF buscamos produzir gestações singulares.

Nesse primeiro experimento, além de se mensurar taxa de gestação à IATF, foi feito um estudo da dinâmica folicular em parte das fêmeas de cada grupo, avaliando-se taxa de crescimento folicular, taxa e momento das ovulações para se ter certeza sobre o momento mais adequado para inseminação nesse novo protocolo.

### Parte I : Controle de Dinâmica

Como pode-se observar na tabela resumida a seguir , que a dose teto de 30 mg de FSH para vacas zebuínas, como esperado, foi excessiva e produziu ovulações múltiplas em 43% das fêmeas. No entanto, as doses 20 e 10 mg produziram somente ovulações simples. Isto significa a alta segurança no uso da dose de **10mg de Folltropin** na IATF, que mesmo havendo erros de aplicação do produto até o dobro da dose indicada, ainda assim, produzirá somente gestações singulares.

Dinâmica folicular de vacas Nelore em anestro durante protocolo de IATF. D0: inserção disp. P4 + RIC-BE®, D8: retirada disp. + Prolise® + Folltropin® ou eCG; D9: RIC-BE®; D10: IA.

	10 mg Folltropin®	15 mg Folltropin®	20 mg Folltropin®	30 mg Folltropin®	400 UI eCG	Controle
Taxa de ovulação	93,3% (28/30) <sup>a</sup>	92,8% (13/14) <sup>ab</sup>	93,7% (30/32) <sup>b</sup>	92,8% (13/14) <sup>ab</sup>	100% (30/30) <sup>b</sup>	74,1% (20/27) <sup>b</sup>
Taxa de superovulação	0% (0/30) <sup>a</sup>	0% (0/14) <sup>a</sup>	0% (0/32) <sup>a</sup>	43% (6/14) <sup>b</sup>	0% (0/30) <sup>a</sup>	0% (0/27) <sup>a</sup>

Santos, I.C.C.; Martins, C.M.; Baruselli, P.; Valentim, R.; D'Occhio, M. SBTE 2007

### Parte II : Taxa de Prenhez

Foram utilizadas nesse experimento, 314 vacas zebuínas com escore de condição corporal entre 2,5 a 3,0 (escala de 1 a 5) e entre 40 e 55 dias pós parto, divididas em 3 fazendas no Estado do Pará. Todos os animais foram examinados por ultra-som no Dia 0 para avaliação do estado ovariano e foram divididos de forma que os grupos ficassem balanceados quanto à atividade ovariana (tamanho dos folículos). Em nenhuma das vacas avaliadas se detectou presença de corpos lúteos, indicando a alta porcentagem de fêmeas em anestro desses lotes de parição recente (X e XI). Dois grupos controle foram adicionados no estudo, para se ter um resultado comparativo de um grupo com outro folículo estimulante (eCG), e com um grupo sem nenhuma gonadotrofina para se avaliar o grau de anestro do rebanho.

Taxa de prenhez (%) de vacas zebuínas em anestro tratadas com diferentes indutores de crescimento folicular no dia da retirada do dispositivo (D8).

Fazenda / Grupo	10 mg Folltropin®	20 mg Folltropin®	400 UI eCG	Controle
Faz. A	57,1% (4/7)	71,4% (5/7)	71,4% (5/7)	62,5% (5/8)
Faz. B	61,1% (33/54)	57,1% (32/56)	58,9% (33/56)	29,1% (16/55)
Faz. C	56,2 % (9/16)	57,9% (11/19)	60,0% (9/15)	12,5% (2/16)
Média	59,7% (46/77) <sup>b</sup>	58,5% (48/82) <sup>b</sup>	60,2% (47/78) <sup>b</sup>	29,9% (23/77) <sup>a</sup>

Santos, I.C.C.; Martins, C.M.; Valentim, R.; Baruselli, P. SBTE 2007

## Conclusões do Exp I:

- Foi possível verificar que a utilização do FSH (Folltropin®) foi tão eficaz quanto o eCG no estímulo ao crescimento folicular.
- Importante observar que, houve uma grande variação de resposta dos grupos controle (sem estímulo), demonstrando o grau de anestro das fêmeas de acordo com as características do rebanho e do manejo de cada fazenda e que quanto pior a condição básica do rebanho, maior será o benefício do uso do hormônio foliculo estimulante no protocolo IATF.
- Nos rebanhos das fazendas B e C, nas quais os grupos controles obtiveram baixos índices de prenhez, foi notória a eficácia da dose de 10 mg de Folltropin® para a recuperação desse índice.
- Na fazenda A, onde o grupo controle já apresentou uma resposta satisfatória, foi necessário doses mais elevadas de indutores hormonais para se obter uma diferença significativa em resposta ao tratamento.

## Resultados a campo

Após a comprovação da sua eficácia em experimentos metódicos e bem controlados, por mensuração da dinâmica folicular por ultrassonografia (12-12h) até ovulação, o Folltropin® foi incorporado na indicação de protocolos IATF pela Tecnopec a partir de 2007.

### RESULTADOS A CAMPO – ESTAÇÃO DE MONTA 2007/2008

TÉCNICOS	nº fazendas	nº. de fêmeas	Categorias	Protocolos	Taxa de prenhez
Ney Conti	2	BA 1.035	Vacas Nelore e cruzadas paridas	BE D9 10 mg Folltropin®	597/ 1035 (57,68%)
Raul Fontes/ Renato R. Azevedo e Milton M. Rabesquini	8	MG 3.100	Vacas e primíparas Nelore paridas	BE D8 10 mg Folltropin®	1542/ 3100 (49,74%)
Marcelo V. Selistre	2	RS 400	Vacas Angus e Hereford paridas	BE D9 10 mg Folltropin®	227/ 400 (56,75%)
Felipe Vianna/ Airton Trentin/ Redinilson M. Goes	5	SP 1.225	Vacas Nelore e cruzadas paridas e novilhas Nelore	BE D9 + 10 mg Folltropin® BE D8 + 10 mg Folltropin®	702/ 1225 (57,30%)
Witis B. Rodrigues/ Marcio R. Silva/ Rafael Tolentino/ Rogério M. de Souza/ Rafael Gandolfo/ Dorival Sornas	12	MS 3.727	Vacas Nelore, Brahman e Braford paridas e primíparas Nelore	BE D8 10 mg Folltropin®	1941/ 3727 (52,07%)
Alexandre Mansano/ Marcelo Seixas/ Tiago Hilgert/ Rodrigo de Souza Junqueira/ Eron B. Spinelli	6	RO 571	Vacas e primíparas Nelore	BE D9 + 10 mg Folltropin® BE D8 + 10 mg Folltropin®	364/ 571 (63,74%)
<b>RESULTADOS MÉDIO DOS PROGRAMAS IATF</b>					<b>5.373/ 10.058 (53,42%)</b>

Estação de monta 2007/2008

## Experimento II: Efeito do FSH e do eCG na dinâmica folicular e taxa de prenhez de protocolos de IATF em vacas zebuínas em anestro – SBTE, 2010 (XII).

Neste estudo foram utilizadas **588 vacas zebuínas** (*Bos indicus*) com 45 a 70 dias pós-parto. O escore de condição corporal (**ECC**) **médio dos animais foi de 2.6±0.3** (escala de 1 a 5 pontos) e apenas foram selecionadas fêmeas sem CL (anestro). Os animais foram submetidos ao protocolo Tecnopec de 3 passagens com BE no D8.

Taxa de ovulação e de prenhez de vacas Nelore em anestro submetidas a protocolos de IATF. D0: inserção do Primer® + RIC-BE®; D8: retirada do Primer® + RIC-BE® + Prolise + Folltropin ou eCG; D10:IA

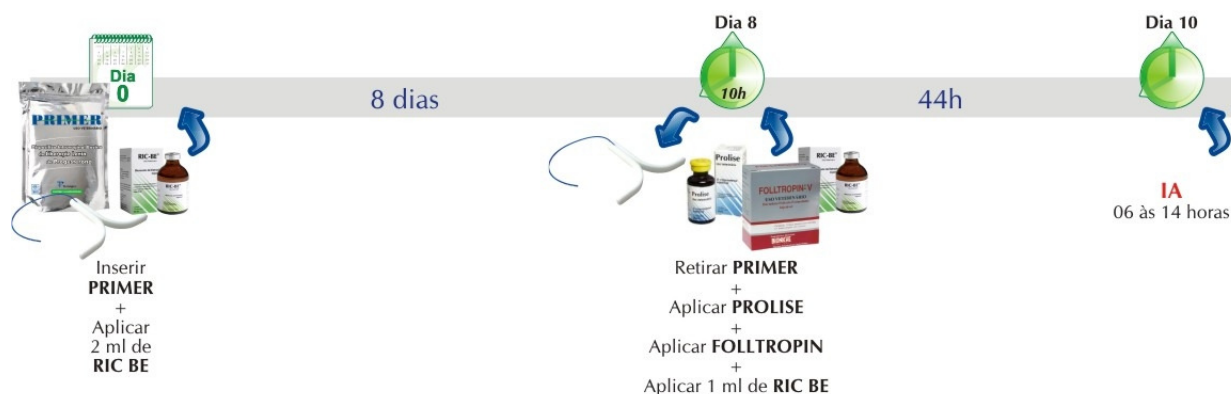
Tratamento	Taxa Ovulação	Taxa de Prenhez
Folltropin® 10 mg	85,5% (153/179) <sup>b</sup>	51,4% (92/179) <sup>b</sup>
eCG 300 UI	82,5% (146/177) <sup>b</sup>	55,9% (99/177) <sup>b</sup>
Controle	71,8% (127/177) <sup>a</sup>	38,9% (69/177) <sup>a</sup>

Martins et al, 2010.

Os resultados deste experimento reforçam que o uso do FSH ou do eCG, em protocolos IATF, foram semelhantes entre si e melhoraram significativamente as taxas de ovulação e prenhez em vacas zebuínas lactantes em anestro, comparativamente ao grupo controle.



## Programa IATF Tecnopec - 3 passagens, com BE no D8



### Experimento III: Taxa de prenhez de novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF com diferentes doses de FSHp (Folltropin-V®) após protocolo de indução de ciclicidade – SBTE, 2010 (XIII).

É de conhecimento geral que novilhas são mais sensíveis às gonadotrofinas do que fêmeas adultas. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de 2 doses de FSHp (Folltropin-V®, Bioniche, Canadá) quanto a taxa de prenhez em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF. O experimento foi realizado em Cocalinho - Mato Grosso, com 187 novilhas Nelore, de idade entre 18 a 25 meses e peso médio de 280 Kg. Em todos os animais foi realizado um protocolo prévio de indução de ciclicidade para uniformizar o estágio reprodutivo dessas novilhas.

Taxa de prenhez de novilhas zebuínas submetidas ao protocolo de indução de puberdade antes da IATF com Lutropin® (2,5 ml = 3,12mg). Protocolo - D0: inserção do Primer® + RIC-BE®; D8: retirada do Primer® + Prolise® + Folltropin®; D10:Lutropin® + IA.

Protocolo	n	Taxa de prenhez
LH + Folltropin 5mg	63	58,7% <sup>b</sup>
LH + Folltropin 10mg	62	54,8% <sup>ab</sup>
LH (sem FSH)	62	41,9% <sup>a</sup>

p=0,06

Cunha Junior et al, 2010

Os resultados deste experimento mostram que o uso da dose de 5mg de Folltropin-V® nos protocolos de IATF-LH em novilhas melhorou significativamente os resultados de IATF quando comparados com protocolo sem o uso do indutor de crescimento folicular, comprovando a eficiência da estimulação ovariana com essa dose.

# FOLLTROPIN® NA IATF – RESULTADO EM MAIS DE 1,0 MILHÃO DE VACAS TRATADAS (2007-2009)

## Uma Solução Eficiente e Segura - PODE CONFIAR !!!

Para mais informações ou comentários, contate nosso departamento técnico através do tel: (11) 5671-7070, website: [www.tecnopec.com.br](http://www.tecnopec.com.br) ou e-mail: [reproducao@tecnopec.com.br](mailto:reproducao@tecnopec.com.br)

### Referências:

- I. Simoni, M.; Gromoll, J.; Nieschlag, E. The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology and pathophysiology. *Endocrine Reviews* 18(6): 739-773, 1997.
- II. Mizuta, K. Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). 98 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- III. Turzillo, A.M.; Fortune, E. Effects of suppressing plasma FSH on ovarian follicular dominance in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 98:113-119, 1993
- IV. Bergfelt, D.R.; Kulick, L.J.; Kot, K.; Ginther, O.J. Follicular and hormonal response to experimental suppression of FSH during follicle deviation in cattle. *Theriogenology*, 54 (8): 1191-206, 2000.
- V. D'Occhio M.J.; Cremonesi, F.; Stacchezzini-Cremonesi; Trigg, T.E. Acute follicular response to FSH in heifers downregulated long term with a GnRH agonist and with suppressed ovarian follicular growth. Unpublished data.
- VI. D'Occhio M.J., Aspden W.J. Endocrine and reproductive responses of male and female cattle to agonists of gonadotrophin-releasing hormone. *J Reprod Fert Suppl* 1999; 54:101-114.
- VII. D'Occhio M.J., Fordyce G., Whyte T.R., Jubb T.F., Fitzpatrick L.A., Cooper N.J., Aspden W.J., Bolam M.J., Trigg T.E. Use of GnRH agonist bioimplants for long-term suppression of fertility in extensively managed heifers and cows. *Anim Reprod Sci* 2002; 74 (3-4): 151-62.
- VIII. D'Occhio M.J., Fordyce G., Whyte T.R., Aspden W.J., Trigg T.E. Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61:433-442.
- IX. Martins, C.M.; Santos, I.C.C.; Valentim, R.; Sales, J.N.S.; Reis, P.O.; Crepaldi, G.A.; Baruselli, P.S.; D'Occhio, M.J. Efeito da redução do número de administrações de FSH na resposta superovulatória e na produção de embriões de doadoras nelore. *SBTE*, pág.s636, 2008.
- X. Santos, I.C.C.; Martins, C.M.; Valentim, R.; Baruselli, P. Taxa de prenhez a IATF de vacas zebuínas em anestro tratadas com dose única de FSHp (Folltropin®). *SBTE*, pág. 1151, 2007.
- XI. Santos, I.C.C.; Martins, C.M.; Baruselli, P.S.; Valentim, R.; D'Occhio. Estudo da dinâmica folicular em vacas Nelore (*Bos indicus*) em anestro sincronizadas com protocolo IATF, utilizando Folltropin® (FSHp) como indutor de crescimento folicular. *SBTE*, pág. 1152, 2007.
- XII. Martins, C.M.; Valentim, R.; Bombonato, D.S.; Santos, I.C.C.; Baruselli, P.S. Efeito do FSH e do eCG na dinâmica folicular e taxa de prenhez de protocolos de IATF em vacas zebuínas em anestro. *SBTE*, 2010.
- XIII. Cunha Junior, V.L.P.; Santos, I.C.C.; Rodrigues, J.A.; Valentim, R. Taxa de prenhez de novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF com diferentes doses de FSHp (Folltropin-V®) após protocolo de indução de ciclicidade. *SBTE*, 2010.