

**CLEYTON DA SILVA SOUZA**

**O USO DO MELOXICAM COMO ESTRATÉGIA ANTILUTEOLÍTICA NA  
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES – TE: REVISÃO DE LITERATURA**

Ji-Paraná

2021

**CLEYTON DA SILVA SOUZA**

**O USO DO MELOXICAM COMO ESTRATÉGIA ANTILUTEOLÍTICA NA  
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO - TE: REVISÃO DE LITERATURA**

Monografia apresentada à Banca Examinadora do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, como requisito de aprovação para obtenção do Título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Me.: João Luiz Barbosa

Ji-Paraná

2021

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP**

S729u Souza, Cleyton da Silva.

O uso do meloxicam como estratégia antiluteolítica na transferência de embrião - te: revisão de literatura. / Cleyton da Silva Souza. – Ji-Paraná, 2021.

44 p. ; il.

Monografia (Bacharel em Medicina Veterinária) – Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, 2021.

Orientador: Prof. Me. João Luiz Barbosa.

1. Reprodução animal. 2. Antiluteolíticos. 3. reconhecimento materno. 4. Bovino - inseminação artificial. 5. Meloxicam (Anti-inflamatório). I. Barbosa, João Luiz. II. Título.

CDU 619:636.082.4

**Ficha Catalográfica Elaborada pelo Bibliotecário Giordani Nunes da Silva CRB 11/1125**

**CLEYTON DA SILVA SOUZA**

**O USO DO MELOXICAM COMO ESTRATÉGIA ANTILUTEOLÍTICA NA  
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO - TE: REVISÃO DE LITERATURA**

Monografia apresentada à Banca Examinadora do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná, como requisito de aprovação para obtenção do Título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Me João Luiz Barbosa

Ji-Paraná, 15 de junho de 2021

Avaliação/ Nota:

BANCA EXAMINADORA

Resultado: \_\_\_\_\_

Prof. Me João Luiz Barbosa

Centro Universitário São Lucas

Prof.<sup>a</sup>. Me. Taciane Letícia Melo Souza

Centro Universitário São Lucas

MV. Wilian Boni

Diretor de produção da EmbryoFiv

**Dedico**

*A ela que me incentivou em todos os momentos dessa árdua conquista,  
minha esposa "Tassi", e meus pais que não mediram esforços para me ajudar nessa  
conquista*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente quero agradecer a Deus que me proporcionou desenvolver este trabalho, em seguida minha esposa e meus pais que não mediram esforços para que hoje eu estivesse aqui.

Preciso agradecer a duas famílias as quais desenvolveram um papel crucial na minha formação acadêmica, que é a família Boni, que na pessoa do seu Jaime Luiz Boni foi um grande incentivador para eu começar meus estudos, e a família Modotte, que foram os meus primeiros empregadores no ramo, sem os quais eu não teria o conhecimento que tenho hoje.

Aos professores que aqui expresso minha gratidão na pessoa dos professores João Luiza Barbosas e da professora Carol Urpia. A todos os companheiros de estudo que de maneira ímpar contribuíram para minha formação.

## RESUMO

Com as demandas alimentícias crescendo, a pressão para que haja a tecnificação na produção, também cresce. Na pecuária não é diferente, o produtor precisa produzir mais em menos tempo. Nesse aumento da demanda na produção e por consequência a seleção genética, surgiram as biotecnologias aplicadas a reprodução, onde com elas otimizou-se o processo de cria e seleção nos bovinos. Para tal nesse trabalho o compromisso foi de fazer uma revisão bibliográfica quanto a um episódio que acontece em todas as biotecnologias reprodutivas, que é a lise do corpo lúteo precoce, fazendo com que caia os níveis de P4 levando a uma reabsorção embrionária. O processo ao qual denomina-se luteólise nos bovinos é mediado por uma substância produzida no endométrio uterino  $PGF2\alpha$ , um eicosanoide que tem a função de agir na cicatrização em processos inflamatórios, contudo em alguns mamíferos como os bovinos ela age também como agente indutor da luteólise. Para controlar esse episódio que não é normal, mas recorrente, surge a proposta da utilização do meloxicam um AINEs que tem preferência pela inibição da COX-2, enzima essa que é o ponto de partida para a síntese da  $PGF2$ . Muitas das vezes o manuseio do trato reprodutor feminino na execução da biotécnica, pode causar um injúria tecidual devido ao grau de dificuldade para se realizar o procedimento no animal, que levaria a pulsos de  $PGF2\alpha$  que irá mediar a lise do CL. Com o meloxicam é para inibir a síntese desses eicosanoides que nesse momento tem um grau elevado de toxicidade ao CL.

**Palavras-chave:** antiluteolítico; reconhecimento materno; transferência de embrião; inibidor da COX-2.

## **ABSTRACT**

As food demands grow, the pressure for technification in production also grows. With livestock it is no different, the producer needs to produce more in less time. In this increased demand in production and, consequently, genetic selection, biotechnologies applied to reproduction emerged, which with them optimized the process of breeding and selection in cattle. For this purpose, in this work, the commitment was to carry out a literature review regarding an episode that occurs in all reproductive biotechnologies, which is the early lysis of the corpus luteum, causing P4 levels to fall, leading to embryonic reabsorption. The process called luteolysis in cattle is mediated by a substance produced in the uterine endometrium PGF2 $\alpha$ , an eicosanoid that has the function of acting on healing in inflammatory processes, however in some mammals such as cattle it also acts as an inducing agent of luteolysis. To control this episode, which is not normal, but recurrent, there is a proposal to use meloxicam, an NSAID that prefers to inhibit COX-2, an enzyme that is the starting point for the synthesis of PGF2. Many times, handling the female reproductive tract in the execution of biotechnology can cause tissue damage due to the degree of difficulty in carrying out the procedure in the animal, which would lead to pulses of PGF2 $\alpha$  that will mediate the lysis of the CL. With meloxicam it is to inhibit the synthesis of these eicosanoids, which at this moment have a high degree of toxicity to the CL.

**Keywords:** antiluteolytic; maternal recognition; embryo transfer; COX-2 inhibitor.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> – Diagrama da Inseminação Artificial -----	15
<b>FIGURA 2</b> – Colheita de embriões produzido <i>In Vivo</i> -----	17
<b>FIGURA 3</b> – Diagrama da <i>OPU</i> -----	20
<b>FIGURA 4</b> – Oócitos maturados-----	21
<b>FIGURA 5</b> – Distribuição das diferentes camadas no Percoll®-----	22
<b>FIGURA 6</b> – CIV blastocisto com 7 dias-----	23
<b>FIGURA 7</b> – Classificação embrionária´-----	24
<b>FIGURA 8</b> – Corpo lúteo maduro; Corpo lúteo em regressão-----	27
<b>FIGURA 9</b> – Desenho esquemático da síntese de prostaglandinas e leucotrienos---	29
<b>FIGURA 10</b> – Molécula de Meloxicam forma esquelética-----	32

## LISTA DE ABREVIATURAS

kg - Quilogramas

mg – Miligramas

mm – Milímetros

PIVE – Produção *in Vitro* de Embriões

IA – Inseminação Artificial

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

TETF – Transferência de Embrião em Tempo Fixo

IFNt – Interferon Tau

AINE – antiinflamatório não esteroideal

BE – benzoato de estradiol

CL – corpo lúteo

COX - ciclooxigenase

COX-1- ciclooxigenase 1

COX-2 – ciclooxigenase 2

D0 – dia zero

D14 – dia quatorze

D21 – dia vinte e um

D7 – dia sete

E2 – estradiol

ECC- escore de condição corporal

eCG – gonadotrofina coriônica equina

EP – erro padrão

ESR1- receptor de estradiol 1

OXTR- receptor de ocitocina

P4 – progesterona

PG – prostaglandina

PGE2 – Prostaglandina E2

PGF2 $\alpha$  – prostaglandina F2 $\alpha$

PGI2 – Prostaglandina I2

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
1.1. PROBLEMATIZAÇÃO .....	12
1.2. OBJETIVOS.....	12
<b>1.2.1. Geral</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2.2. Específicos</b> .....	<b>13</b>
1.3. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO .....	13
1.4. RELEVÂNCIA DO ESTUDO .....	13
<b>2. BIOTECNOLOGIAS REPRODUTIVAS APLICADAS AOS BOVINOS</b> .....	<b>14</b>
2.1. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E EM TEMPO FIXO.....	14
2.2. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO .....	16
<b>2.2.1. Transferência de Embrião em Tempo Fixo</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2.2. Produção in Vitro de Embrião PIVE</b> .....	<b>19</b>
2.2.2.1. <i>Aspiração Folicular (OPU)</i> .....	19
2.2.2.2. <i>Maturação in Vitro (MIV)</i> .....	21
2.2.2.3. <i>Fertilização in Vitro (FIV)</i> .....	22
2.2.2.4. <i>Cultivo in vitro (CIV)</i> .....	23
2.2.2.5. <i>Classificação dos Embriões</i> .....	24
2.3. SINCRONIZAÇÃO DAS VACAS RECEPTORAS.....	25
<b>3. RECONHECIMENTO MATERNO DA GESTAÇÃO</b> .....	<b>26</b>
3.1. CORPO LÚTEO.....	26
3.2. A RELEVÂNCIA DO P4 NA GRAVIDEZ.....	27
3.3. PRODUÇÃO E LIBERAÇÃO DA PROSTAGLANDINA .....	28
3.4. LISE DO CORPO LÚTEO.....	29
<b>4. UTILIZAÇÃO DO MELOXICAM COMO ANTILUTEOLITICO</b> .....	<b>30</b>
4.1. A FARMACOPEIA DO MELOXICAM .....	31
4.2. A FARMACODINÂMICA E FARMACOCINÉTICA DO MELOXICAM .....	32
4.3. DOSE DE ADMINISTRAÇÃO DO MELOXICAM.....	33
4.4. A RELEVANCIA DO USO COMO AÇÃO ANTILUTEOLITICA.....	34
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>36</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. PROBLEMATIZAÇÃO**

Segundo Baruselli et al (2019), o crescimento da população mundial obrigou todos os setores de produção alimentícia a se tecnificar, buscando estratégias para produzir mais em menos tempo. A bovinocultura tem sido um dos pilares da economia no Brasil, para tal precisou buscar tecnologias para ser competitiva no mercado internacional.

O presente trabalho empreendeu por meio de uma revisão bibliográfica, estabelecer com cautela o fator preponderante que dentre as muitas biotecnologias usadas na reprodução de bovino pudesse causar a lise do CL de forma precoce, conseqüentemente, levando a reabsorção embrionária. Contudo fato de a prenhez não ter vindo a termo na fêmea leva prejuízos financeiro que pode direcionar o animal a descarte.

O meloxicam é um anti-inflamatório não esteroideal que tem preferência para inibir a COX-2, que é a enzima responsável por converter o ácido araquidônico em prostaglandinas atuante em quadros inflamatório, surge nesse trabalho como uma alternativa estratégica para mitigar a lise do CL de forma precoce, pois ele tem o poder de impedir a síntese de PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , que segundo Waite et al., (2005), é o principal agente que causa a lise do corpo lúteo.

Quando o embrião tem em um valor agregado de genética e procedência, como no caso da PIVE e da SOV, o valor do protocolo é o menor dos problemas, para tal é preciso fazer tudo o que está a disposição do conhecimento para que essa gestação venha a termo. Para tal a estratégia apresentada nesse trabalho, é um apanhado das principais produções científicas acerca do termo e torna-se subsidio para estruturação de novos trabalhos e protocolos reprodutivos em bovinos.

### **1.2. OBJETIVOS**

#### **1.2.1. Geral**

O objetivo com este trabalho é apresentar a utilização do meloxicam injetado no dia da transferência de embriões como uma estratégia para diminuir a luteólise precoce em receptoras.

### 1.2.2. Específicos

- Revisar as principais biotecnologias reprodutivas;
- Explicar como ocorre o reconhecimento materno da gestação;
- Descrever a farmacodinâmica do meloxicam e como ele pode diminuir o processo inflamatório decorrente da manipulação uterina durante a transferência de embrião.

### 1.3. DELIMITAÇÃO DO ESTUDO

O presente trabalho teve seus estudos em bibliografias produzidas no cenário nacional e internacional dos últimos 20 anos. Essas literaturas em grande parte são resultados de pesquisas experimentais envolvendo protocolos farmacológicos que possibilite a mitigação da perda embrionária precoce em receptoras de transferência de embrião.

### 1.4. RELEVÂNCIA DO ESTUDO

A relevância do estudo desse trabalho, se encontra na possibilidade de poder diminuir as perdas econômicas decorrentes da perda embrionária em receptoras de transferência de embrião. Muitas dessas perdas são resultado de um processo inflamatório decorrido da manipulação do trato reprodutor para fazer a transferência do embrião. Buscou-se então por meio desse trabalho, alternativas que pudessem diminuir as perdas embrionárias que acontecem nas receptoras decorrentes dessa manipulação.

## 2. BIOTECNOLOGIAS REPRODUTIVAS APLICADAS AOS BOVINOS

As biotecnologias surgiram para a difusão do material genético, com isso otimizar trabalho de seleção do pecuarista, tendo em vista de que o papel primordial dessas biotecnologias é promover o melhoramento genético (VIEIRA, 2012).

Uma vez que o pecuarista utiliza dessas ferramentas, ele tem a possibilidade de acelerar a sua seleção, diminuindo o tempo para se contemplar um produto, a exemplo disso pode-se citar novilhas que já tem um gama considerável de filhos antes mesmo da puberdade, através da utilização da Produção *In Vitro* de Embriões (PIVE), provando assim a eficiência em herdabilidade na progênie (MALARD, 2001). Para tal passamos a analisar então a principais biotecnologias aplicada aos bovinos.

### 2.1. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E EM TEMPO FIXO

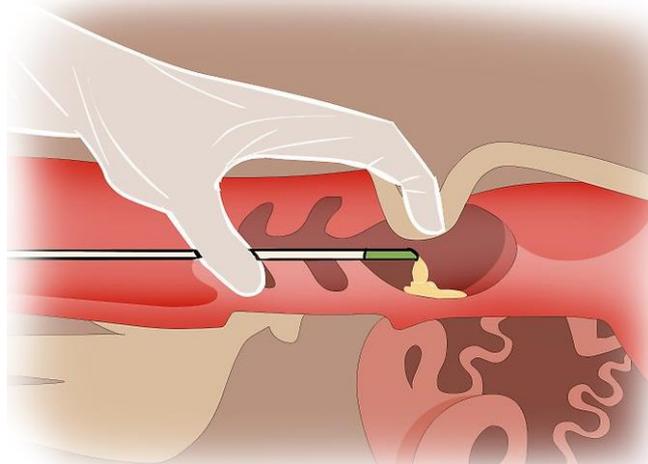
A Inseminação Artificial (IA), foi a primeira biotecnologia desenvolvida pelo homem com finalidade de fertilizar a fêmea com o sêmen do macho. Ela consiste basicamente na deposição mecanicamente do sêmen no trato reprodutivo da fêmea e. existem relatos de que os árabes ainda no século XIV, faziam IA em suas éguas. Contudo o primeiro relato científico ocorreu em 1784 pelo italiano Lazaro Spallazani que obteve sucesso coletando sêmen de cão e inseminando cadelas, porém somente na década de 1930 nasceu o primeiro produto de uma inseminação artificial em bovino (SEVERO, 2015).

A utilização da técnica passou a ser difundida no Brasil a partir da década de 1940 com fomento especial do Ministério da Agricultura, quando foi demonstrado a possibilidade de preservação do espermatozoide a baixas temperaturas por longos períodos. Já no Brasil, ela teve sua inserção a partir da década de 1970 e, segundo dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA), foi comercializado naquele ano, mais de 8,2 milhões de doses no Brasil conforme Martins et al., (2009).

Segundo Martins et al., (2009), a execução da técnica consiste na seleção de animais aptos a serem inseminados com posterior identificação do estro, é feita a contenção, retirada das fezes do reto e higienização da vulva, com isso já examinando o aspecto do muco que deve ser cristalino e odor característico. Após isso, é realizado o descongelamento do sêmen em água na temperatura de 35° a 37°C no espaço de tempo de, pelo menos 30 segundos, a palheta dever ser seca, utilizando papel toalha, cortada a ponta e montada no aplicador com a bainha. Com ajuda de um auxiliar, o inseminador, abre os lábios vulvares, expondo a entrada do canal vaginal e introduz

–se o aplicador universal em um ângulo de 45°, com a outra mão introduzida no reto da vaca de modo que seja possível a fixação da cérvix. Com a manipulação desta estrutura de forma que o aplicador consiga atravessar pelo canal cervical, possibilitando a deposição do sêmen no corpo uterino, conforme demonstrado na figura 1. Essa biotecnologia possibilitou o desenvolvimento de outras, porém todas com o mesmo princípio de produzir mais com melhor qualidade genética.

**FIGURA 1 – Diagrama da Inseminação Artificial**



Fonte: MARTINS et al., 2009

Com a melhor compreensão da fisiologia reprodutiva e dinâmica folicular, aliado ao surgimento de drogas que possibilitam a manipulação do ciclo estral da fêmea bovina, foi desenvolvida a inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Esta biotecnologia é baseada na premissa de controlar a dinâmica folicular da fêmea bovina por meio de fármacos, induzindo também a ovulação sincronizada do maior número de animais possíveis. Assim, é possível estimar o momento da ovulação e escolher o melhor momento para realizar a inseminação (BÓ et al. 2004).

Segundo Baruselli et al (2019), a porcentagem de fêmeas bovinas submetidas a essas tecnologias no Brasil em 2002 era de 5,8%, no entanto em 2018, este percentual subiu para 13,5%, com uma perspectiva de, na década seguinte, ser superior a 20% das fêmeas. A taxa de concepção, um dos principais índices reprodutivos ligados à IA e IATF é a razão existente entre o número de vacas inseminadas em detrimento do número de vacas prenhes, na média brasileira, a IA não ultrapassa 40%, já IATF chega entre 60% e 75% e, ambas possibilitam a produção de um bezerro por vaca a cada doze meses.

## 2.2. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO

Podemos elencar nesse íterim duas biotecnologias que fazem uso da técnica de transferência de embrião, sendo elas: A Transferência de Embrião em Tempo Fixo (TETF), e a Produção *in Vitro* de Embrião (PIVE). Em suma a TE consiste na inovulação de um blastocisto no aparelho reprodutor de uma fêmea que vai gestar esse animal sem nenhuma contribuição genética para o conceito (SANTOS et al. 2012).

O que passa a distinguir tais biotecnologias, é que na TETF, o embrião vai ser produzido *in vivo* com um potencial de produzir um bezerro ao mês com um alto índice de criopreservação segundo Dode (2013), e com baixa variabilidade de acasalamento como afirma. Em contrapartida na PIVE o embrião é produzido *in vitro* e tem a capacidade de produzir um bezerro por semana com uma alta variedade de acasalamento, porém com um baixo potencial de criopreservação (SANTOS et al. 2012). Passamos agora a esmiuçar as biotecnologias supracitadas.

A transferência de Embrião tanto o produzido *in vivo* quanto o produzido *in vitro*, decorrerá com certa semelhança a Inseminação artificial, porém na IA é depositado o sêmen no corpo do útero com a fêmea em estro, na TE a fêmea receptora, já se passaram sete dias que o animal manifestou estro. O seu útero está com o ambiente propício para receber o embrião que viria das tubas uterinas. Nisso o embrião é implantado no corno uterino do lado em que houve ovulação, nessa etapa do ciclo a cérvix da receptora está fechada. Nesse ponto se encontra o desafio para o operador que irá inovular esse embrião, que é o de lesionar essa cérvix devido ao grau de complexidade que existe ao passar essa cérvix fechada conforme relatam (ANDRADE et al.; REINCHENBACH et al., 2002, 2002).

### 2.2.1. Transferência de Embrião em Tempo Fixo

Essa biotecnologia é uma das ferramentas utilizadas para seleção de animais, uma vez que a premissa desta é selecionar a melhor genética para um determinado fim e propagá-la com grande eficiência, nisso surge a TETF. Essa por meio de protocolos hormonais possibilita a fêmea bovina, um animal monovulatório, produza várias ovulações, ao estabelecer tal condição, essa vaca é inseminada e poderá conceber vários embriões, conforme Santos et al. (2012).

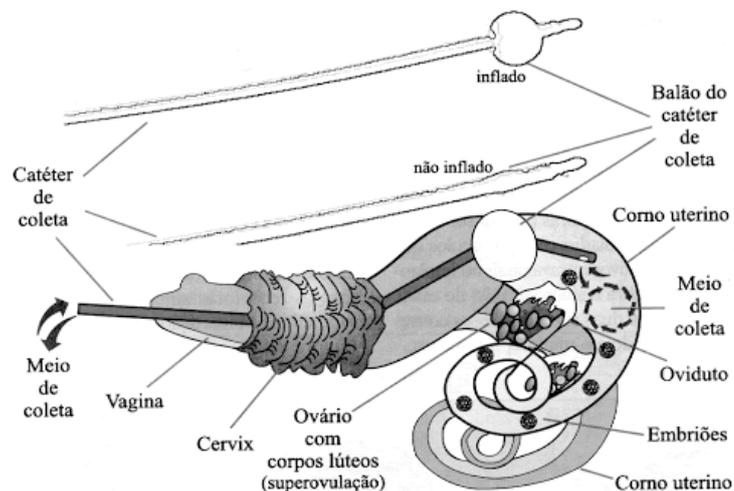
A técnica baseia-se na premissa de impedir a dominância folicular, onde essa nada mais é do que um processo pelo qual um folículo que é selecionado passa a

exercer dominância sobre os outros folículos que foram recrutados na mesma onda que ele fazendo então um *feedback negativo* em FSH, isso faz com que os folículos dependentes de FSH não sejam mais estimulados estabelecendo assim a dominância folicular que impede que haja mais de uma ovulação em um mesmo ciclo (FERREIRA 2012).

A TETF quando observado a nível de doadora deve primar por protocolo que eliminará a dominância folicular, para tal esse protocolo deve disponibilizar de modo exógeno o FSH antes que haja a dominância folicular dando condição para que todos os folículos possam maturar e ovocitarem (BARUSELLI et al., 2006).

Segundo Ferreira (2012), a colheita e classificação dos blastocistos acontecerá em cerca de 8 dias após a IA. Será feita uma anestesia epidural esse material é coletado por meio da infusão de líquido PBS na temperatura de 25 a 30°C no útero da doadora como demonstrado na figura 2. Para tal existe dois métodos: o aberto, onde é inserido um cateter no terço médio do útero e infundido o líquido com uma seringa e massageado o útero para expurgar o líquido feito por gravidade e massagem nos cornos uterinos.

**FIGURA 2 – Colheita de Embrião produzido *In vivo***



Fonte: GODKE et al. 2014

O outro método é o fechado onde existe um sistema de duas vias em um cateter que é posicionado no terço médio do útero e inflado o balão onde o líquido de PBS é infundido no útero e sai dele por meio da gravidade com auxílio de massagem nos cornos uterino. O líquido ao sair passa por um filtro que irá reter os blastocistos e em seguida esse líquido é desprezado, e o filtro é levado ao laboratório e lavado com

solução PBS até retirar todo o muco dele e feito então a varredura na lupa a procura dos embriões para depois realizar sua classificação (FERREIRA, 2012).

Em conformidade com o que afirma Moore et al., (2016) e Palhano (2008), a classificação dos blastocistos se dá basicamente pela sua evolução e pela sua qualidade. Quanto a sua evolução classifica-se como: Blastocisto Inicial (Bi): Início da formação do blastocele e diferenciação do trofoblasto e botão embrionário. O embrião passa a ocupar cerca de 70% a 80% do EPV; Blastocisto (BI): Nesse é possível notar uma grande diferenciação entre as células do trofoblasto e o botão embrionário, ela ocupa a totalidade do EPV; Blastocisto Expandido (BX): Essa etapa do desenvolvimento embrionário, o blastocisto chega a dobrar de diâmetro expandindo a zona pelúcida diminuindo o equivalente a um terço de sua espessura, evidencia-se o líquido do blastocele pressionando o trofoblasto contra membrana pelúcida; Blastocisto eclodido (BE): O blastocisto encontra-se livre da zona pelúcida.

No que confere a classificação embrionária no que diz respeito a qualidade Ferreira (2012) e Palhano (2008), classifica-os como: Embrião I (excelente): embrião esférico com blastômeros com forma bem definida, sem extrusão celular e uniformes. Embrião II (bom): embrião com defeitos de baixa importância, com pouca extrusão celular. Algumas diferenças na forma e cor dos blastômeros ou poucas vesículas. Embrião III (regular): embrião que apresenta alguns blastômeros com forma e cor heterogênea, porém coesos. Presença de células no EPV e blastocele com algumas vesículas. Embrião IV (pobre): embrião com forma e cor heterogênea entre vários blastômeros, confusa diferenciação celular, extrusão evidente com degeneração e grande número de vesículas. Dg – estrutura degenerada: estrutura que não apresenta uma forma definida, sendo impossível determinar o estágio de desenvolvimento. É evidente a desorganização celular.

Após a coleta e classificação dos blastocistos, esses são envazados em palhetas. O embrião deve ser acomodado no centro da palheta de forma que se encontre uma porção de meio de cultivo do embrião, seguida de uma porção de ar, outra de meio mais o embrião, novamente outra de ar e por fim outra de meio, dessa forma o embrião irá se manter íntegro até a transferência na receptora BALL, PETERS; RUMPF et. al., 2006,2005).

Segundo Rumpf et. al. (2005), os embriões quanto ao seu desenvolvimento devem ser preferencialmente Blastocistos expandido, nunca eclodidos. Quanto a sua qualidade os blastocistos classificados como I, II e III são aptos para transferência e

os resultados, expressos em porcentagem de números de gestação variam de 30 a 60% e geralmente não diferem entre embriões classificados como excelentes e bons.

### **2.2.2. Produção in Vitro de Embrião PIVE**

A produção in vitro de embriões é um grande salto no quesito melhoramento genético e seleção animal, pois ela consegue em uma vaca produzir em média um bezerro por semana, aumentando assim a pressão de seleção que em relação a Inseminação artificial, é dez vezes mais rápida, ou seja, o melhoramento e seleção feito com base na IA levaria 30 anos para ser realizado com a PIVE podemos apertar esse gargalo e essa seleção ser completa em uma geração o equivalente a 3 anos. Passamos então a dissertar sobre essa biotecnologia (MELLO et al. 2016).

Essa biotécnica passou ao uso comercial no final dos anos 90 com uma associação entre GERTEC Embriões, Unesp-Jaboticabal/SP e Beabisa Agricultura, segundo Bueno e Beltran (2008).

Conforme Rumpf et. al. (2005), a maior relevância para utilização da PIVE, se encontra no fato de que com uma doadora pode-se acasalar diversos outros touros em uma mesma geração. Sobretudo, a maneira pelo qual a PIVE acontece a torna ainda mais importante pois o encontro dos gametas se dá in vitro. Essa biotécnica passa por etapas que são elas: Aspiração Folicular (OPU); Maturação In Vitro (MIV); Fecundação In Vitro (FIV); Cultivo In Vitro (CIV) de zigoto e embrião.

#### *2.2.2.1. Aspiração Folicular (OPU)*

A Aspiração folicular ou como é comumente falada a sigla OPU que é proveniente do inglês abreviando o termo *ovum pick-up*, consiste em aspirar o CCOs (Complexo Cumulus oophorus) com o auxílio do ultrassom para guiar o processo de aspiração, e nesse complexo aspirado está presente um folículo imaturo provindo do ovário de uma vaca com alto valor genético agregado STROEBECH et al., (2015).

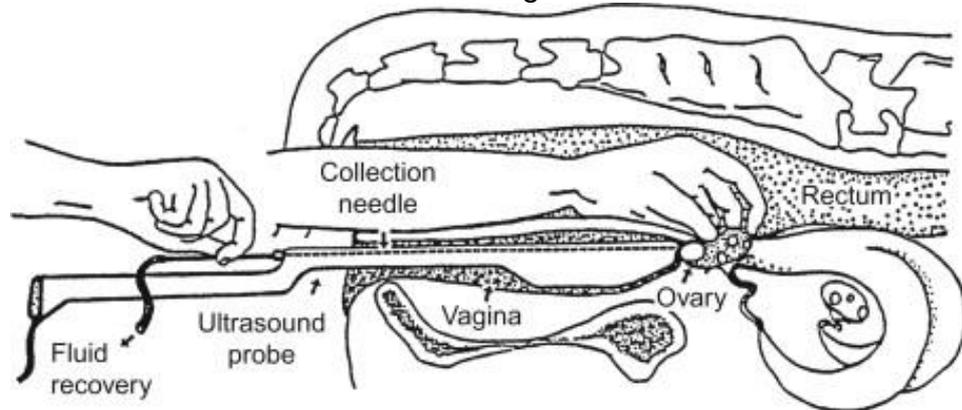
A OPU foi uma técnica revolucionária que impulsionou a PIVE, pois ela veio para substituir o método cirúrgico de obtenção dos oócitos. A técnica de aspiração folicular teve seus primórdios na década de 80 (STROEBECH et al., 2015).

Conforme Palhano (2008) a OPU como apresentado na figura 3 é realizada com o auxílio de um transdutor micro convexo de ultrassonografia transvaginal acoplado junto a uma guia de tecnil e um mandril com uma agulha ligado a uma bomba

de vácuo, é feito a aspiração do conteúdo do folículo o CCOs com eficiência de maneira menos invasiva.

Após feito a colheita dos oócitos, o material coletado é direcionado a um laboratório montado próximo ao curral de aspiração para assim realizar a procura e classificação dos oócitos viáveis coletados. O tamanho ideal do folículo aspirado deve estar entre 2mm e 8mm nem acima e nem abaixo, e o seu potencial de MIV e FIV, é mensurado pelas células do cumulus ou CCOs. Pela observação desse complexo por meio de uma lupa, pode-se mensurá-los em Grau I, Grau II, Grau III e Grau IV sendo preferível o Grau I e o Grau II, mas esse segundo já tendo o seu potencial comprometido (STROEBECH et al., 2015).

**FIGURA 3** – Diagrama OPU



Fonte: GODKE et al. 2014

A classificação segundo Palhano (2008), é atribuída para o oócito quanto ao número de camada de CCOs que circunda o oócito sendo o Grau I atribuído a célula mostra-se com CCOs circundada em mais de três camadas, com citoplasma homogêneo, preenchendo na totalidade o interior da zona pelúcida (ZP) apresentando coloração marrom. O Grau II é observado parcialmente compactado em menos de três camadas, o citoplasma demonstra granulações difundidas de modo heterogêneo, no entanto ainda preenche por completo a zona pelúcida. O Grau III o CCO está presente, porém expandido, o ooplasma mostra-se degenerado, vacuolizado e contraído preenchendo de forma irregular a zona pelúcida. Já o Grau IV o oócito apresenta-se desnudo, ou seja, sem presença de CCO.

O Complexo Cumulus Oophorum desempenha um papel fundamental na proteção mecânica do oócito, bem como também a nutrição desse através do substrato e nutriente, é também atribuída ao CCOs a organização das células no

oócito dando a ele a capacidade de responder bem ao processo da MIV e da FIV Sutton-mcdowall e Thompson (2015).

#### 2.2.2.2. *Maturação in Vitro (MIV)*

O oócito que foi aspirado vai estar por motivos de inibição no folículo estacionado ao final da prófase I da meiose I. A maturação por sua vez vai consistir na transformação nuclear, citoplasmáticas e molecular, que vão estar ligadas a mudanças estruturais e bioquímicas, fazendo com que a célula reprodutiva feminina se torne capaz de ser fecundada e a concluir sua evolução embrionária

Oócitos devem ser incubados como na figura 4 em meio de cultivo celular, o mais usado é o (TCM199) com sais de EARLE's (RUMPF et. al. 2005), suplementado com fontes energéticas (glicose, piruvato), proteicas [soro fetal bovino e albumina sérica bovina e com hormônios LH ou FSH segundo Heinzmann et al., (2015) por um tempo de 18 a 24 horas como dito também por Koyama et al., (2014).

**FIGURA 4 – Oócitos Maturados**



Fonte: Arquivo próprio

O ambiente com atmosfera controlada contendo 5% de CO<sub>2</sub> e umidade saturada juntamente com o meio supracitado, faz com que haja uma melhor maturação do núcleo onde o oócito terminou a meiose I e estacionou em metáfase II, houve também o desnovelamento do DNA e uma reorganização citoplasmática, com uma expansão do CCOs para facilitar a fecundação do oócito pelo espermatozoide. (RUMPF et. al. 2005)

### 2.2.2.3. Fertilização *in Vitro* (FIV)

A fertilização pode-se dizer, que é o momento ao qual os gametas feminino e masculino se encontram. O processo *in vivo* sabe-se que o espermatozoide tem que percorrer um trajeto até a ampola, trajeto esse que leva o espermatozoide a entrar em contato com substâncias presentes no trato genital da fêmea que o induz a capacitação e confere a ele modificações bioquímicas, tais como alteração na fluidez e no teor lipídico da membrana plasmática (MELO et al., 2016). Todo esse contato do espermatozoide com o trato genital gera nele uma hiperativação espermática, tornando possível então a ligação da membrana espermática a zona pelúcida

Já no processamento *in vitro* os meios e os protocolos devem fornecer um ambiente adequado tanto para o oócito quanto para o espermatozoide. A fertilização é realizada por um período de 18 a 22 horas, em temperatura de 38,5°C, atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub> em ar e umidade a 95%. O meio usado para fecundação *in vitro* é o Fert-TALP (Tyrode-albumina-lactato-piruvato), que contém agentes capazes de promover a capacitação espermática segundo Chaves et al., (2010).

O processo de preparo do sêmen se dá com ele sendo descongelado em banho maria a 37°C por 30 segundos e posteriormente selecionado pelo gradiente de Percoll (45% e 90%, 400 µL cada), como demonstrado na figura 5 preparado em microtubos de 2mL e centrifugado por 6 minutos a 600g.

**FIGURA 5** - Distribuição das diferentes camadas no Percoll®



Fonte: GONÇALVES et al., 2008.

Após esse período, o pellet obtido foi submetido a centrifugação em 400 µL de meio FertTALP acrescido de soluções de penicilamida, hipotaurina e hepinefrina

(PHE) e 10 µg/ml de heparina por 4 minutos a 600g. O pellet obtido desse processo foi ressuspenso em 50 µL de meio FERT-TALP associado a PHE e heparina conforme Rumpf et. al. (2005).

Segundo Rumpf et. al. (2005). A FIV é realizada em gotas de meio Fert-TALP acrescido de soluções de PHE e 10 µg/ml de heparina cobertas com óleo mineral na proporção de 2,4 a 3,0µL de meio por oócito, utilizando concentração espermática ajustada para 1,0x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL durante o período de 18 horas.

#### 2.2.2.4. Cultivo *in vitro* (CIV)

O cultivo *in vitro*, é o estágio da PIVE, em que o oócito fertilizado vai evoluir de Zigoto até blastocisto expandido como na figura 6, o qual será implantado na vaca receptora (RUMPF et. al. 2005). O meio de Cultivo que se mostra mais prático é o meio SOF, que foi originado com base na elaboração do fluído do oviduto de bovinos.

A diferença entre o ambiente *in vivo* e *in vitro* é a quantidade de oxigênio, visto que no oviduto e no útero é menor do que a utilizada nos sistemas de cultivo embrionário *in vitro*, tendo enorme influência na realização e na qualidade dos embriões segundo Chaves et al., (2010).

**FIGURA 6** – CIV blastocisto com 7 dias



Fonte: Arquivo próprio

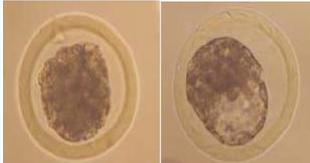
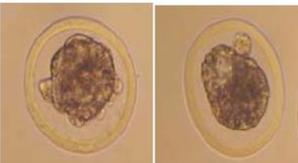
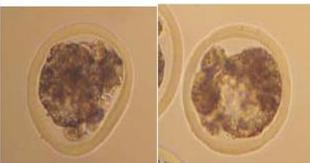
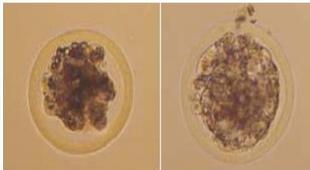
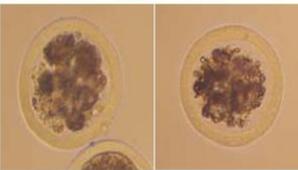
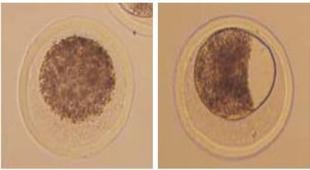
Os elementos que constituem o meio de cultivo têm ação direta na produção e qualidade embrionária. Substâncias como lactato e piruvato são essenciais durante a fase de divisão e desenvolvimento inicial do embrião. A glicose, na presença de

fosfato, atrasa ou para a evolução embrionária inicial, porém esse carboidrato é fundamental na fase de compactação e de blastocisto (STROEBECH et al., 2015).

#### 2.2.2.5. Classificação dos Embriões

Em conformidade com os pensamentos Moore et al., (2016) e Palhano (2008) os estagios evolutivos de um embrião pode-se destacar tais a seguir: Mo – Mórula: Blastômeros individuais não – distintos, espaço perivitelino ocupado pelo embrião; Mc – Mórula Compacta: Blastômeros individuais tornam-se mais próximos, formando uma massa embrionária compacta que ocupa dois terços do espaço perivitelino; Bi – Blastocisto Inicial: Embrião com a cavidade preenchida com fluido ou blastocele, ocupando três quartos de espaço perivitelínico, trofoblasto e MCI podem ser diferenciadas; B1 – Blastocisto: Pronunciada diferenciação do trofoblasto externo, MCI compacta e mais escura, blastocisto muito proeminente e embrião ocupando quase todo o espaço perivitelínico; Bx – Blastocisto expandido: o embrião cresce notadamente em tamanho, a zona pelúcida torna-se mais fina; Bn – Blastocisto em Eclosão: o embrião no processo de eclosão, zona pelúcida despreendida; Be – Blastocisto Eclodido: o embrião expandido novamente com blastocisto grande, circular, muito frágil e em estágios mais avançados, alongados;

**FIGURA 7 – Classificação embrionária**

		
<p><b>Embriões de qualidade excelente</b> Código IETS: 1</p>	<p><b>Embriões de qualidade boa</b> Código IETS: 1</p>	<p><b>Embriões de qualidade regular</b> Código IETS: 2</p>
<p><b>Comentários:</b> Embriões sem defeitos morfológicos ou extrusões celulares, e estágio de desenvolvimento compatível com período pós-ovulação. Máximo potencial de desenvolvimento a fresco ou criopreservado.</p>	<p><b>Comentários:</b> Embriões com uma ou poucas células de extrusão ou discretas alterações de coloração. Potencial de desenvolvimento semelhante ao embrião grau I, podendo também ser criopreservado.</p>	<p><b>Comentários:</b> Embriões com maior número de alterações morfológicas ou extrusões celulares, mas com pelo menos 50% da massa celular íntegra e mostrando sinais de desenvolvimento.</p>
		
<p><b>Embriões de qualidade pobre</b> Código IETS: 3</p>	<p><b>Embriões degenerados</b> Código IETS: 4</p>	<p><b>Oócitos não fecundados</b></p>
<p><b>Comentários:</b> Extrusões ou fragmentação comprometendo mais que 50% da massa celular, e dificultando a classificação das células viáveis. Potencial de desenvolvimento significativamente reduzido.</p>	<p><b>Comentários:</b> Embriões com comprometimento definitivo da massa celular, com blastômeros de tamanhos variados apresentando sinais de degeneração celular, picnose, fragmentação e alterações de cor.</p>	<p><b>Comentários:</b> Oócito sem sinais de clivagem, apresentando graus variados de retração, pulverização ou sedimentação do citoplasma. No menor aumento podem ser confundidos com mórula compacta ou Bi.</p>

Fonte: (STRINGFELLOW, 1998)

Quanto a qualidade, os principais parâmetros considerados para avaliação da qualidade dos embriões são formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade da ZP como na figura 7 (MORENO et al., 2015). O envase do embrião é semelhante ao descrito na técnica anterior da TETF.

### 2.3. SINCRONIZAÇÃO DAS VACAS RECEPTORAS

A sincronização entre o útero da receptora e o embrião a ser implantado, vital para que haja o mínimo de chances de o embrião sobreviver, sendo então a P4 de suma importância para cadenciar a dinâmica do útero e o crescimento embrionário.

A sincronização mais típica que se observa a campo é aquela que conjuga agentes luteolítico, progestágeno e estradiol. Onde a função do estradiol é levar a uma regressão luteal dos folículos antrais em crescimento. Isso acontece devido ao *feedback negativo* que ele exerce na liberação do hormônio folículo estimulante (FSH), fazendo com que haja uma reserva do mesmo não liberado, essa condição se perpetua até a metabolização total do estradiol. A partir daí, tem então o pico de FSH e volta a aumentar e ocorre uma nova onda folicular, que ocorre 4 dias após o tratamento (PFEIFER et al., 2003).

A ação do agente luteolítico é destruir os folículos e CL existentes e do progestágeno promover o início de uma nova onda de crescimento folicular juntamente com a Gonadotrofina Coriônica Equina que tem o poder de se ligar aos receptores de FSH em até 75% das vezes.

O protocolo concebido com essa associação é o seguinte: aplicação de dispositivo transvaginal, combinado com 2 mg de benzoato de estradiol (BE) e no D0 (para emergência de uma nova onda de crescimento folicular e prevenção de folículos persistentes); uma aplicação de PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , ou seja, no momento da retirada do dispositivo transvaginal (para induzir uma luteólise); e mais uma dose de 1 mg de CE juntamente com 400 UI de eCG para auxiliar no crescimento folicular no D8 (para sincronização da ovulação). Este tratamento dispensa a observação de cio e o D9 é considerado o dia do estro (BÓ et al. 2004).

No D9 conclui-se que a vaca entrou em estro e 7 dias após ela poderá receber o embrião que vai ser produzido. Geralmente a doadora está sendo aspirada nesse dia no caso da PIVe. Já no caso da TETF a doadora será inseminada. A seguir veremos como ocorre a interação da mãe e o conceito nos primeiros dias de gestação.

### 3. RECONHECIMENTO MATERNO DA GESTAÇÃO

O reconhecimento materno da gestação é o período em que o concepto sinaliza para mãe a sua presença. Em ruminantes esse evento coincide com o alongamento do feto e a sua máxima produção de interferon - tau (IFNT), sendo esse um produto secretado em grandes quantidades pelo trofoblastos do concepto e seus anexos, conforme descreveu GRAY et al., (2002).

Existe uma relação de dependência entre o interferon – tau e a P4, pois para o embrião produzir o IFNT, em níveis satisfatórios para o silenciamento dos canais de ocitocina e estrógeno, o embrião é extremamente dependente da P4 produzida pelo CL, imbuído nessa linha de raciocínio, Baruselli et al. (2004), conduziu um estudo que administrou 400 UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Equina) e obtiveram um aumento substancial da concentração de P4 sete dias após a ovulação. A P4 exerce a função moduladora no útero e influencia diretamente no crescimento embrionário, uma vez que ela favorece a secreção de proteínas específicas para o fluido uterino, melhorando o reconhecimento materno pois melhorou a condição do embrião, assim como estabelece Clemente et al. (2009) e O'hara et al. (2014)

Na pesquisa de Roberts et al., (2008), o IFNT é um produto classificado como interferon do tipo 1 que, além de suas ações antivirais e imunomoduladora, tem um poder de suprimir os receptores de ocitocinas e estrógeno no endométrio uterino, pois caso estes receptores forem estimulados, desencadeia-se um pulso de PGF2 $\alpha$  que provocará a lise do corpo lúteo. Um embrião com a capacidade de secreção de IFNT reduzida ou incapaz, pode ser de natureza variada indo do estresse térmico até a redução dos níveis de P4, passamos agora discorrer sobre a origem e função dessa glândula transitória.

#### 3.1. CORPO LÚTEO

É uma glândula endócrina transitória (ver figura 8), o hormônio por ela secretado primariamente é a progesterona, que é um esteroide responsável pela ciclicidade ovariana e o estabelecimento e manutenção da gestação A sua formação acontece com a ovulação do folículo dominante. No espaço que ele ocupava, restaram parte de células da teca e da granulosa que se diferenciam e aumentam de tamanho formando assim o corpo lúteo NASCIMENTO et al. (2013).

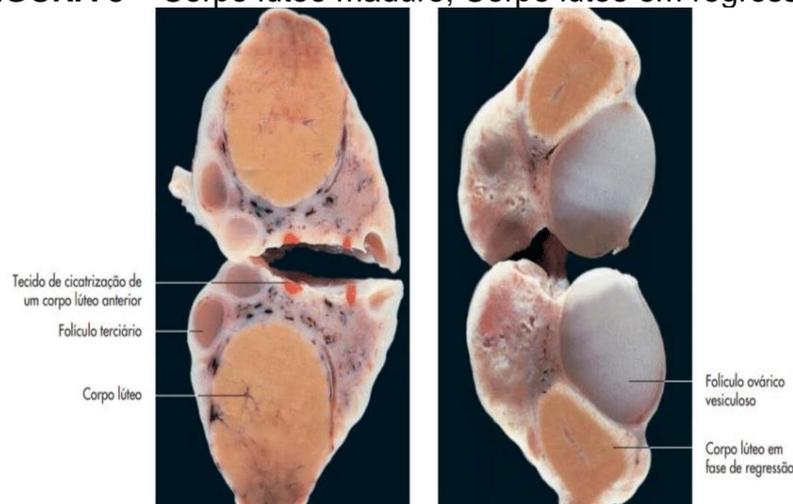
Nos bovinos, os pulsos LH são importantes para a maturação do folículo e ovulação (AERTS et al.,2010). Em contrapartida ao surgimento do LH,

prostaglandinas da série E são produzidas pelo folículo, sendo de extrema importância na ruptura do folículo e liberação do oócito (FILION et al., 2001). Entretanto é papel fundamental do LH estimula e prepara as células da granulosa e teca para a luteinização (SMITH et al., 1994).

As células do CCOs passam a sintetizar ácido hialurônico, o que permite a sua expansão no espaço entre as células da granulosa. Pulsos episódicos de LH são necessários para a formação do CL em bovinos, mas não são necessários para a manutenção da função luteal AERTS et al., (2010).

Antoniazzi et al., (2011) relatam em seu trabalho que na década de 80 pesquisados conseguiram separar duas qualidades de células esteroidogênicas presentes no interior do CL, são elas denominadas com células grandes e células pequenas e podem ser diferenciadas segundo a sua morfologia e bioquímica.

**FIGURA 8** – Corpo lúteo maduro; Corpo lúteo em regressão.



Fonte: KONIG & LIEBICH, (2016)

### 3.2. A RELEVÂNCIA DO P4 NA GRAVIDEZ

A progesterona é o hormônio secretado pelo CL e induz a diferenciação do estroma uterino, estimula as glândulas endometriais, acúmulo de vacúolos basais no epitélio glandular e modifica o padrão de secreção de proteínas pelas células endometriais. Proporcionando um ambiente uterino favorável ao embrião, além disso ela exerce papel fundamental na musculatura uterina, fazendo com que não haja contração e supressão da resposta imune do útero que vai entender o feto como corpo estranho (ANTONIAZZI et al., 2011).

A síntese da P4 em ruminantes conta com a participação de duas enzimas, e uma proteína esteroidogênicas (StAR). Essas moléculas são responsáveis,

respectivamente, pela conversão do colesterol em pregnenolona e da pregnenolona em P4 segundo (NASCIMENTO et al., 2013).

Apesar da P4 ser de suma importância para o estabelecimento e manutenção da gestação, como relata Lonergan (2011) ocorre à interrupção na expressão de receptores de progesterona no epitélio endometrial antes da implantação do embrião que é um pré-requisito para o reconhecimento materno da gestação e desenvolvimento inicial do embrião.

Na presença deste hormônio, o útero permanece com a musculatura relaxada, endométrio espessado e glândulas hipertrofiadas. A cérvix permanece fechada com muco denso e viscoso, a vagina apresenta-se com as mucosas pálidas, secas e caso o concepto esteja presente entre os dias 14 e 17 do ciclo ocorrerá a secreção de uma glicoproteína (interferon, IFN-T). (LONERGAN, 2011)

### 3.3. PRODUÇÃO E LIBERAÇÃO DA PROSTAGLANDINA

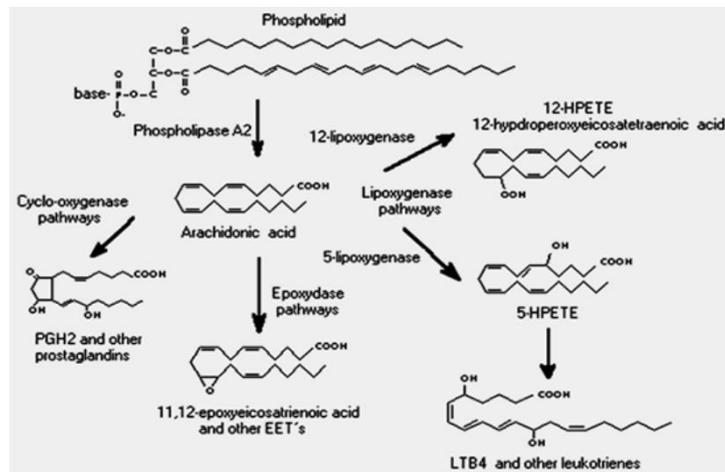
Segundo Waite et al., (2005) as prostaglandinas (PGs) são mediadores de muita expressão em diversas funções reprodutivas na fêmea tais como luteólise, ovulação e reconhecimento materno da gestação. É no endométrio uterino do bovino que são secretadas a PGE e PGF<sub>2</sub>α durante todo o ciclo estral, mas o padrão de secreção modifica-se ao longo deste. A PGF<sub>2</sub>α é identificada como o principal agente luteolítico natural em várias espécies de mamíferos.

Primeiramente foram isoladas de líquido seminal, como secreção da próstata, por isso receberam essa denominadas, recebendo ainda o sufixo “glandinas” que remonta a sua associação direta à glândula. Hoje sabe-se que as PGs estão presentes em todos os tecidos animais, exercendo várias funções. Sua classificação bioquímica é que são parte de um grupo chamado eicosanóides, oriundos do ácido araquidônico, que sofre ação da enzima cicloxigenase (COX), formando um anel pentano, e recebe várias insaturações, e nisso acontece as diversas especializações das prostaglandinas veja o esquema na figura 9 (CARVALHO et al., 2004)

Ainda sobre o trabalho de Carvalho et al., (2004), a maioria dos receptores prostaglandinas é na membrana celular, em especial ligadas à proteína “G”, mas há também receptores a nível de membrana de núcleo, cujos ligantes atuam na transcrição, alterando a expressão gênica celular. Estudos demonstra que prostaglandinas da série I2 e J são ligantes endógenos de uma família de receptores ativadores de proliferação do peroxissomo.

Um único pulso de prostaglandina, mesmo pequeno, pode dar início ao processo de luteólise, para que as grandes células luteínicas produzam  $\text{PGF2}\alpha$ , ou seja, uma pequena quantidade de  $\text{PGF2}\alpha$  uterina é capaz de iniciar a regressão luteal. Ao alcançar o CL, o efeito luteolítico da  $\text{PGF2}\alpha$  resultará na associação com os receptores presentes na membrana plasmática das grandes células luteais (GCL), iniciando a cascata de rotas intracelulares que resultam na luteólise e consequentemente levando a inibição da síntese de progesterona (ANDERSON et al. 2001).

**FIGURA 9** – Desenho esquemático da síntese de prostaglandinas e leucotrienos.



Fonte: GONZÁLEZ (2003)

### 3.4. LISE DO CORPO LÚTEO

Ao final da fase luteal, a P4 pelo excesso, causa inibição de seus próprios receptores, levando ao retorno da ação estrogênica no hipotálamo e, consequentemente no útero (MCCRACKEN et al., 1999), induzindo a uma ligeira expressão dos receptores de ESR1. Por sua vez os estrógenos levam ao aumento da expressão de receptores de OXTR no endométrio e a liberação de ocitocina pela hipófise posterior. Por consequência, a ligação da ocitocina com seu receptor estimula a síntese e secreção de  $\text{PGF2}\alpha$  responsável pelo início da luteólise (WATHES; LAMMING, 1995).

Conforme descrevem em seu trabalho Trevisol et al., (2013), a luteólise envolve diversos processos desencadeados a partir do não reconhecimento da gestação e da liberação de  $\text{PGF2}\alpha$ . Os principais agentes responsáveis por esses fenômenos são

os fatores angiogênicos e vasoativos, que direta ou indiretamente influenciam a função luteínica e a secreção de PGF2  $\alpha$  e P4.

Ainda em seu trabalho Trevisol et al., (2013) relatam que nas primeiras 12 horas após a ligação da PGF2 $\alpha$  aos receptores luteais, ocorre a luteólise funcional, caracterizada pela diminuição na expressão da proteína que regula a síntese de esteroidogênica (StAR) e por consequência a queda vertiginosa da P4. O pico de PGF2 $\alpha$ , caracteriza o início da luteólise estrutural, resultante da intensa desorganização da estrutura vascular do CL, a PGF2 $\alpha$  secretada pelo endométrio alcança a corrente venosa uterina e por meio de transporte ativo passa ao sistema arterial ovariano fazendo vasoconstrição no CL dando início a sua regressão e a expressão de StAR, a qual resulta no desencadeamento da apoptose e na inibição final secreção da progesterona.

#### **4. UTILIZAÇÃO DO MELOXICAM COMO ANLUTEOLÍTICO**

Lonergan et al., (2011) demonstra em seu trabalho que entre os dias oito e 17 da gestação até 40% dos embriões são perdidos, estas perdas que ocorrem neste intervalo aparentemente envolvem a falha na manutenção do CL. A P4 produzida pelo CL é importante no controle do endométrio uterino para a implantação e desenvolvimento embrionário. Baixas concentrações de P4 são implicadas como causa das baixas taxas de prenhez observadas em vacas de leite de alta produção.

Para Amiridis et al. (2009) quando utilizado a administração de AINE no momento do reconhecimento materno da gestação em bovino que condiz entre os dias 14 e 26 da gestação pode atrasar o processo luteolítico materno, o que leva a refletir em aumento nas taxas de concepção.

Durante a transferência de embriões, existe a possibilidade de injúria cervical devido à dificuldade de introduzir o inovulador. Tal ação desencadeia um processo inflamatório que conseqüentemente a liberação de PGF2 $\alpha$  advinda do endométrio uterino segundo Purcell et al. (2005). Scenna et al. (2005) afirmam que a PGf2 $\alpha$  exerce efeito direto no embrião e ainda é o principal agente causador da luteólise.

Uma das estratégias que se lança mão, é que o foco primário deste trabalho, é a utilização de agentes que possam inibir a síntese do PGF2 $\alpha$  pelo endométrio uterino nos períodos críticos que ocorrem o reconhecimento materno e/ou concepto for eficiente na produção de IFNT-t, dando condições do corpo lúteo manter os níveis de P4 satisfatórios conforme é apresentado Pugliesi et al. (2011).

#### 4.1. A FARMACOPEIA DO MELOXICAM

O meloxicam é um anti-inflamatório classificado como da classe oxicans e seu mecanismo de ação é caracterizado por inibir a ação da enzima cicloxigenase-2 (COX-2), evitando a síntese de prostaglandina. Esta molécula tem o período de meia vida por volta de 28 horas COEETZE et al., (2009).

O meloxicam, como afirma Brune et al., (2007), conta com uma metabolização rápida quando não há um processo inflamatório ou injúria tecidual instaurado, quando existe suas moléculas se concentra no local da inflamação ou da injúria tecidual o que comparado a meia vida do flunexim meglumine que é de 8 horas, a eficácia do meloxicam supera-o na finalidade de sua utilização como adjuvante no aumento do índice de prenhez em fêmeas bovinas que receberam embrião.

Em estudo conduzido por Friton et al. (2004) foi constatado que em gado de corte, uma única dose subcutânea de meloxicam (0,5mg/kg de peso) foi tão efetiva quanto três administrações diárias consecutivas e intravenosas de flunixin meglumine (2,2mg/kg de peso; dose recomendada na bula do medicamento) quando usadas como terapia adjunta para tratamento antibacteriano.

Segundo Castier et al., (2013) os anti-inflamatórios não estereoidais AINES, estão entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo, tanto na medicina humana, como na medicina veterinária, isso se deve em grande parte ao seu poder de modulação da dor aguda e crônica de intensidade leve a moderada em humanos e veterinário.

Mathewset al., (2001) relatou que os AINES têm uma maior eficácia que os opioides para alívio da dor pós-operatória, nesse quesito ele elenca os medicamentos pertencentes a classe dos oxicans em específico o meloxicam que é um AINES com predileção a inibir a COX-2. Em pequenos animais a dose de recomendação pós cirurgica é 0,2mg/kg de peso no primeiro dia e 0,1 mg/kg a partir do segundo, apresenta atividade inibidora preferencial da enzima cicloxigenase-2 (COX-2), mediador químico fundamental para o desenvolvimento do processo inflamatório.

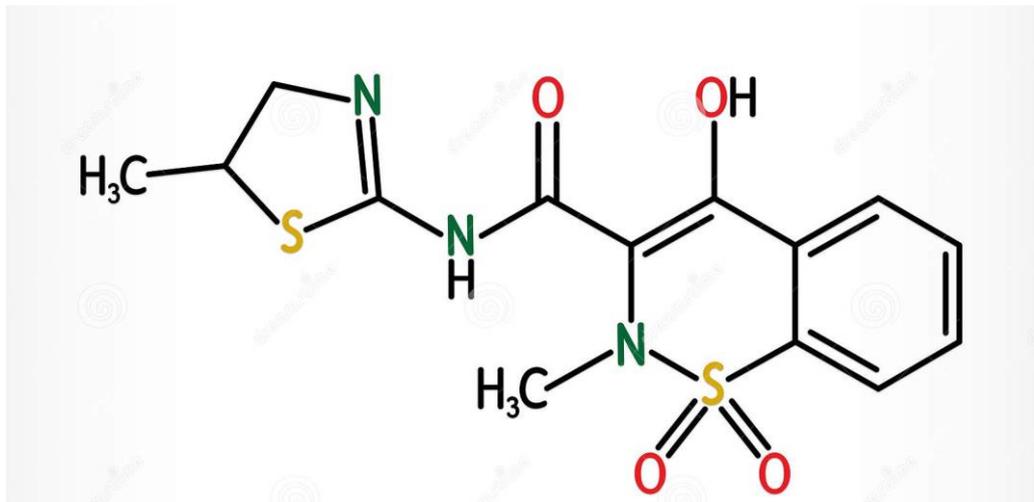
O meloxicam cujo a molécula é descrita na figura 10 tem uma baixa ação em COX-1 que por sua vez tem o potencial de mitigar os danos ao trato gastrintestinal, onde eles se expressa por vômito, diarreia, inapetência e em casos severos pela ocorrência de perfuração de úlcera duodenal, com conseqüente peritonite, e ainda

conta com hepatotoxicidade e morte em dosagem acima da terapêutica (TASAKA, 2011).

No entanto é preciso estar atento ao equilíbrio entre COX-1 e COX-2, pois ao contrário do que se pensava antes de que a COX-2 só estava envolvida em processos inflamatórios Bergh et al., (2005) relata que é ela também sintetiza prostaglandinas que estão envolvidas na fisiologia constituinte dos órgãos.

As apresentações veterinárias que contêm meloxicam no Brasil com regulamentação são essas: (Maxicam® da Ourofino; Elo-xicam® da Chemitec; Metacam® da Boehringer-Ingelheim; Maxitec® da Syntec; Meloxinew® da Vetnil; Meloxytrat® da UCBVET Saúde Animal; Meloxitabs® da Biovet; Meloxine®; Vetaflan® da Vetoquinol; Meloxivet® da Duprat; Mellis Vet® da Avert; Meloxiworld® da World Veterinária.

**FIGURA 10** – Molécula de Meloxicam Fórmula química esquemática



Fonte: disponível em (<https://pt.dreamstime.com>)

#### 4.2. A FARMACODINÂMICA E FARMACOCINÉTICA DO MELOXICAM

Smith et al. (2008) relataram a permissão de seu uso na Europa, onde esse fármaco é amplamente difundido no tratamento de doenças respiratórias em bovinos e outras como diarreia e mastite, no Canadá, a utilização desse fármaco é unicamente para analgesia em procedimentos cirúrgico, já no Estados Unidos, sua utilização é permitida somente em pequenas doses por um curto espaço de tem com fins comerciais alegando que o período de carência ainda não está bem elucidado.

Smith et al. (2008) ainda fazem menção a um estudo conduzidos pela Agência Europeia de Medicamentos a (EMA), que avaliou a absorção desse fármaco em aplicação por via subcutânea em bovinos na dosagem de 0,5 mg/kg, onde os níveis séricos do meloxicam alcançou seu pico de concentração após decorrido 7:30 horas de aplicação com valores de 2,1 µg/ml. Quanto a distribuição do fármaco, é comprovado que mais de 98% dele se liga a proteínas plasmática, onde a sua maior concentração encontra-se no fígado e nos rins, sendo que as concentrações mais baixas e tido nos músculos esqueléticos e gordura.

O meloxicam em bovinos é encontrado em grande parte no plasma sanguíneo, quando não há uma injúria ou processo inflamatório. Uma das vias de excreção desse fármaco é o leite e a bÍlis ficando para urina somente uma fração muito baixa do fármaco, sendo que a principal via de excreção é as fezes e o leite. (COOKE et al., 2016)

#### 4.3. DOSE DE ADMINISTRAÇÃO DO MELOXICAM

A dose terapêutica desse medicamento está descrita em bula como sendo 0,5 a 1 mg/kg variando as vias em IV, IM, SC. A recomendação é que se tenha um espaço de aplicação de no mínimo 12h, sendo 24 horas o mais defendendo e aceitável (MALREDDY et al., 2013).

O meloxicam, possui margem de segurança curta, com excelentes propriedades antipirética e analgésica, sendo mais utilizado para tratamento pós-cirúrgico. Friton (2004) apresenta estudos que mostraram o meloxicam inibindo o crescimento de osteossarcoma canino e foi utilizado com sucesso no auxílio ao tratamento da Doença Respiratória Bovina (DRB), diminuindo a perda de peso. Há relato por Andrade, (2008) de reações adversas cutâneas e oculares pelo seu uso, além de episódios de vômito e diarreia e lesões brandas na mucosa gástrica de cães.

Essa recomendação se sustenta por ele ser um AINEs inibidor preferencial da COX2, sabe-se que a ela é responsável pelas sínteses das prostaglandinas inflamatória, e a COX 1 responsável pela síntese das prostaglandinas fisiológicas, porem existe um equilíbrio entre as duas classes de PGs para que haja homeostase no sistema. Ex.: quando tem inibição da COX2 em demasia da COX1 teremos então problemas na agregação plaquetária. (GONZÁLES 2003)

Malreddy et al., 2013, relata que em bula existe a advertência de não administrar o meloxicam em animais com patologia hepática, cardíaca ou renal,

problemas hemorrágicos ou sempre que se verifique evidência de lesões ulcerosas gastrointestinais. Não administrar em casos de hipersensibilidade à substância ativa ou a algum dos excipientes. No caso de tratamento da diarreia em bovinos, não administrar a animais com menos de uma semana de idade.

#### 4.4. A IMPORTÂNCIA DO MELOXICAM COMO AÇÃO ANTILUTEOLÍTICA

Salhab et al. (2001) relataram o potencial anticonceptivo que o meloxicam tem, pois após a injeção de 20 mg/kg dela em coelho causou uma ligeira inibição na ovulação. De igual forma em humanos também tem o mesmo efeito, uma vez que em roedores e humanos a ovulação é acompanhada da indução da síntese de prostaglandinas e conseqüentemente o pico de LH.

Lopes et al. (2015) conduziram estudo com o conhecimento do potencial anticonceptivo do meloxicam, porém como sua prosta era ministrar o fármaco após a ovulação não comprometeria a inibição prostaglandinas necessárias a ovulação. O uso de inibidores da ciclooxigenase-2 deve ser cuidadosamente considerado no momento da inseminação artificial. No entanto, no momento da transferência do embrião, a ovulação já ocorreu pelo menos 6 a 7 dias antes.

Lopes et al., (2015), objetivaram em seu estudo determinar se a administração de meloxicam, um inibidor preferencial COX-2, para novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*), nas quais foram submetidas a tecnologia de transferência de embriões, o estudo partiu da premissa de que a dificuldade no passar a pipeta pela cérvix, causa um injúria, e essa por conseqüência leve a um processo inflamatório que propicia a liberação de prostaglandina. No intuito de cessar a síntese de prostaglandina foi administrado 60 minutos antes da transferência 0,5 mg/kg de meloxicam para melhoraria das taxas de gravidez ao diminuir as concentrações séricas de PGs.

O delineamento do estudo de Lopes et al., (2015), consistiram em qualificar as receptoras quanto a dificuldade ao passar a cérvix, sendo os grupos (tempo > 80 segundo grau I) e (tempo < 80 segundos grau II) e um terceiro grupo que era grupo de controle. Os resultados revelaram uma ligeira interferência de 48 para 65% na taxa de prenhez no grupo grau I, onde houve uma maior dificuldade para passar a cérvix, nos outros grupos não houve alterações significativas.

Uma única administração de meloxicam no dia 15 após inseminação, uma fase o reconhecimento maternal da grávida, observou que diminuiu drasticamente as taxas de gravidez em Novilhas Holstein comparadas ao grupo controle (24,3% vs 52%),

indicando que a administração de meloxicam neste momento foi prejudicial para a gravidez. (ERDEM e GUZELOGLU, 2010), no entanto Ranieri (2012), em estudo semelhante não obteve prejuízo ao desenvolver protocolo semelhante, porém só não obteve resultados relevantes.

Dados relevantes também foram encontrados com experimentos realizados com outros AINEs tal como lisinato de ibuprofeno, como realizado por Elli et al. (2001) 100 novilhas receptoras de embriões foram atribuídas aleatoriamente para um de dois grupos: um grupo foi tratado IM com 5 mg de lisinato de ibuprofeno / kg de peso corporal 1 h antes da transferência do embrião.

Nesse interim, dois trabalhos se destacam por seus resultados, o primeiro de Ranieri (2013), onde ela experimentou esses princípios dos fármacos inibidores da COX-2 a todas as biotecnologias reprodutivas aplicada aos bovinos, sem fazer distinção de faixa etária das receptoras o tempo de manuseio.

O outro trabalho relevante que elencamos aqui, foi o de Lopes (2015) onde acadêmicos da UFMT expandiram um primeiro estudo realizado por Aguiar (2013) onde o experimento focou em específico na utilização do inibidor da COX-2 a receptoras oriundas da transferência de embrião. O delineamento foi feito tendo em vista o grau de dificuldade que se tem ao fazer a inovulação do embrião, ou seja, quanto maior o tempo, maior a chance de injúria o desencadeamento de processo inflamatório que leva a liberação de PGs que são responsáveis pela luteólise.

Princípio aplicados em ambos os trabalhos e que surtiu efeitos favoráveis em ambos, é o de procrastinar a luteólise até que haja o reconhecimento materno da gravidez. O inibidor da COX-2 nessa premissa trabalha com dois vieses, sendo o primeiro o de trabalhar inibindo a síntese de PGs oriundas da injúria ou manuseio do aparelho reprodutor no ato da transferência embrionária, o segundo viés esse ainda cabendo mais estudos que é o de procrastinar a luteólise com a administração de meloxicam um inibidor da COX-2 quando o embrião é incompetente na Produção de IFNt.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Portanto compreende-se que ainda é um assunto novo no meio da reprodução bovina, mesmo o seu princípio de estudos remontar aos últimos 20 anos, ainda carece de estudo práticos da real interferência do meloxicam na fisiologia reprodutiva para avaliar se os benefícios compensam os riscos corridos, não deixando de fora o impacto financeiro que ele irá impor no protocolo reprodutivo. cremos que essa revisão bibliográfica exposta é o início de um trabalho para elucidar um pouco mais acerca dessa relação em que a utilização do meloxicam na reprodução produção bovina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. **Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects.** *Reproduction in Domestic Animals*, 2010. v. 45, p. 180-187,
- ANDERSON, L.E.; WU, Y.L.; TSAI, S.J.; WILTBANK, M.C. **Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  receptor in the corpus luteum: recent information on the gene, messenger ribonucleic acid, and protein.** *Biology Reproduccion*. 200. 164: 1041-1047.
- ANDRADE, J. C. O. et al. **Use of steroid hormone treatments prior to superovulation in Nelore donors.** *Animal Reproduction Science*, 2002. v. 69, n.1-2, p. 9-14,
- ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária** – 3.ed.. Editora Roca – Brasil, 2008.
- ANDRADE, G.A. et al. **Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro.** *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, 2012. v.36, n.1, p.66-69, jan./mar.
- AMIRIDIS, G.S.; TSILIGIANNI, TH.; DOVOLOU, E.; REKKAS, C.; VOUZARAS, D.; MENEGATOS, I. **Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow.** *Theriogenology*, 2009.v. 72, p. 542–548,
- ANTONIAZZI et al., **Função do interferon-tau durante o reconhecimento materno da gestação em ruminantes,** *Ciência Rural*, v.41, n.1, jan, 2011. *Ciência Rural*, Santa Maria, 2011. v.41, n.1, p.176-185, jan,
- AROSH A, BANU SK, KIMMINS S, CHAPDELAINE P, MACLAREN LA, FORTIER MA, **Effect of interferon on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: evidence of polycrine actions of prostaglandinE<sub>2</sub>.** *J Endocrinol* 145, 5280–5293. 2004:

BALL, P J H; PETERS, A R. **Reprodução em Bovinos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 232 p. 2006.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L; CARVALHO, N. A. T; CARVALHO, J. B. P. **eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device**. Anais.. Belo Horizonte, MG. 2004.

BARUSELLI, P.S.; SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C.M.; NASSER, L.F.T.; NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, C.M.; BÓ, G.A. **Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle**. Theriogenology, v. 65, p. 77-88, 2006.

BARUSELLI, P. S. et al. **Updates on embryo production strategies**. In: XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE). Anais... Gramado, RS. 2015.

BARUSELLI, P. S. et al., **Evolução e perspectivas da inseminação artificial em bovinos** Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA-2019); Gramado, RS, 15 a 17 de maio de 2019.

BERGH, M.S.; BUDSBERG, S.C. **The Coxib NSAIDs: Potential Clinical and Pharmacologic Importance in Veterinary Medicine**. Journal of Veterinary Internal Medicine, v.19, p. 633-643, 2005.

BÓ G.A.; MORENO D.; CUTAIA L.; BARUSELLI P.S. & REIS; E.L. **Manipulação hormonal do ciclo estral em doadoras e receptoras de embrião bovino**. Acta Scientiae Veterinariae, 32 (Supl): p.1-22. 2004.

Brooks K, Burns G, Spencer TE. **Conceptus elongation in ruminants: Roles of progesterone, prostaglandin, interferon tau and cortisol**. J Anim Sci Biotechnol, 2014.

BUENO, P.; A. BELTRAN, M. P. **Produção in vitro de embriões bovinos**. Ver. Elet. Med. Vet., n.11, p.1-7, 2008

CASTIER, M.B. et al. **O tratamento das doenças sistêmicas reumatológicas: uma análise crítica do uso dos AINhs, considerando o risco cardiovascular.**

Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto - HUPE, Rio de Janeiro, v. 12, Supl. 1, p. 74-80, 2013.

CARVALHO, W.A.; SALES, R.D. & RIOS-SANTOS, F. **Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: Avanços terapêuticos** (artigo de revisão).

Revista Brasileira de Anestesiologia 2004. v.54, p.448-464,

COETZEE, J. F.; KUKANICH, B.; MOSHER, R.; e ALLEN, P. S. **Pharmacokinetics of intravenous and oral meloxicam in ruminant calves.** The Veterinary

Theriogenology. 2009. v. 10, p.E1–E8,

COOKE, R. F. et al. **Impacts of meloxicam administration before temporary calf weaning on physiological and reproductive responses of beef cows.** Journal Of Animal Science, [s.l.], 2016. v. 94, n. 1, p.406-411,

DODE, M.A.N., **Criopreservação de embriões bovinos produzidos in vitro Rev.** Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.37, n.2, p.145-150, abr./jun. 2013.

ELLI, M.; GAFFURI, B.; FRIGERIO, A. et al. **Effect of a single dose of ibuprofen lysinate before embryo transfer on pregnancy rates in cows.** J. Reprod. Fertil, 2001. v.121, p.151-154,

ERDEM, H; GUZELOGLU, G: **Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in Holstein heifers.** Reprod Dom Anim 2010.45, 625–628,

FERREIRA, Joaquim Esquerdo. **Efeito do método de sincronização da onda folicular na resposta superovulatória em bovinos.** 2012. 33p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

FILION, F.; BOUCHARD, N.; GOFF, A.K.; LUSSIER, J.G.; SIROIS, J. **Molecular cloning and induction of bovine prostaglandin E synthase by gonadotropins in ovarian follicles prior to ovulation in vivo.** Journal of Biology Chemistry, 2001.

FRITON, G.M.; CAJAL, C.; RAMIREZ-ROMERO, R.; KLEEMANN, R. **Clinical efficacy of meloxicam (metacam) and flunixin meglumine as adjuncts to antibacterial treatment of respiratory disease in cattle.** Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2004. v.117, p. 304–309,

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal.** 2ª ed. São Paulo – SP: Varela, 2008. p.408,

GONZÁLEZ, F.H. & SILVA, S.C. **Bioquímica Clínica de Lipídios - As prostaglandinas.** In: **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária.** Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 76-77,

GRAY, C.A. et al. **Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation.** Reproduction, v.124, n.2, p.289-300, 2002.

HEINZMANN, J. et al. **Extended in vitro maturation affects gene expression and DNA methylation in bovine oocytes.** Mol Hum Reprod, v.21, p.770-82, 2015.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos Animais Domésticos: texto e atlas colorido.** 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 804p. 2016.

Koyama K et al. **Estimation of the optimal timing of fertilization for embryo development of in vitro-matured bovine oocytes based on the times of nuclear maturation and sperm penetration.** The Journal of veterinary medical science. 2014

LONERGAN, P. **Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows.** Theriogenology, New York, 2011. v. 76, n. 9, p. 1594–1601.

LOPES, et al.; **Pregnancy rates and serum 13,14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2a</sub> concentrations in recipient Nelore heifers treated with meloxicam after the transfer of in vitro–produced embryos**, *j.theriogenology*.2015, p. 553–558

MALREDDY PR, COETZEE JF, KUKANICH B, GEHRING R. **Pharmacokinetics and milk secretion of gabapentin and meloxicam co-administered orally in Holstein-Friesian cows**. *J Vet Pharmacol Ther.*(2013)

MALARD P.F. et al.; **Índice de recuperação e qualidade de ovócitos de bezerras Nelore, superovuladas e não superovuladas, de dois a três meses de idade**, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.53, n.6, p.677-682, 2001.

MARTINS, Carlos Frederico, et al.; **Inseminação Artificial: Uma tecnologia para o grande e o pequeno produtor**, Planaltina – DF, Embrapa Cerrado 2009

MATHEWS, K.A.; PETTIFER, G.; FOSTER, R.; MCDONELL, W. **Safety and efficacy of preoperative administration of meloxicam, compared with that of ketoprofen and butorphanol in dogs undergoing abdominal surgery**. *American Journal of Veterinary Research*, v.62, n.6, p. 882-888, 2001.

MCCRACKEN, J.A. et al. **Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event**. *Physiol* ver,1999. v.79, n.2, p.263-323,

MELO, R. R. C.; FERREIRA, J. E.; SOUSA, S. L. G.; MELLO, M. R. B.; PALHANO, H. B. **Produção in vitro (PIV) de embriões em bovinos**. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte- MG, 2016, v.40, n.2, p.58-64,

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. **Embriologia Clínica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

MORENO, D. et al. **In vitro bovine embryo production in a synthetic medium: embryo development, cryosurvival, and establishment of pregnancy**. *Theriogenology*, 2015. v.84, p.1053- 60,

NASCIMENTO, A. B.; SOUZA, A. H.; SARTORI, R.; WILTBANK, M. C. **Produção e metabolismo da progesterona e seu papel antes, durante e depois da inseminação artificial influenciando a fertilidade de vacas leiteiras de alta produção.** Acta Scientiae Veterinariae, Porto Alegre, 2013. v. 41, p. 1130,

OLIVEIRA, M.E.F; FERREIRA, R.M; MINGOTI, G.Z. **Controle do crescimento e da seleção folicular por fatores locais e sistêmicos na espécie bovina.** Revista brasileira de reprodução animal, v.35, n.4, Belo Horizonte. 2011. p. 418 – 432.

PALHANO, H. B. **Reprodução em Bovinos: Fisiopatologia, Terapêutica, manejo e biotecnologia.** 2 ed, Rio de Janeiro, L.F. LIVROS, 2008,

PFEIFER, L.F.M.; CORRÊA, M.C.; PINESCHI, L.E.; **Alternativas hormonais para programas de transferência de embriões em bovinos,** 2003

PUGLIESI G, SHRESTHA HK, HANNAN MA, CARVALHO GR, BEG MA, GINTHER OJ, **Effects of inhibition of prostaglandina F (2a) biosynthesis during preluteolysis and luteolysis in heifers.** Theriogenology 76, 640–645. 2011:

RANIERI, Andressa Lavezzo. **Efeito do meloxicam sobre as taxas de concepção de vacas da raça holandesa, de alta produção, submetidas à transferência de embrião, inseminação artificial e inseminação artificial em tempo fixo.** 2012. xi, 103 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012

REINCHENBACH, H. **Transferencia e criopreservacao de embrioes bovinos.** In: GONCALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Bioteccnicas Aplicadas a Reproducao Animal.** Sao Paulo: Varela, p. 127-177, 2002.

ROBERTS, R.M. et al. **Interferons and the maternal-conceptus dialog in mammals.** Semin Cell Dev Biol, 2008. v.19, n.2, p.170- 177.

RUMPF, R. et al. **Manual de transferência e micromanipulação de embriões nas espécies bovina e equina.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005.

SANTOS, K.J.G. et al. **Bioteecnologias reprodutivas e fisiologia reprodutiva da fêmea bovina – conhecimento para o sucesso.** PUBVET, Londrina, V. 6, N. 36, Ed. 223, Art. 1483, 2012.

SALHAB AS, GHARAIBEH MN, SHOMAF MS, AMRO BI. **Meloxicam inhibits rat ovulation.** *Contraception*, 2001.

SEVERO, Neimar Correa; **História da inseminação artificial no Brasil** Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, 2015. v.39, n.1, p.17-21, jan./mar.

SCENNA FN, HOCKETT ME, TOWNS TM, SAXTON AM, ROHRBACH NR, WEHRMAN ME, SCHRICK FN **Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows.** *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2005. 8, 38–45.:

SMITH, M.F.; MCLINTOSH, E.W.; SMITH, G.W. **Mechanisms associated with corpus luteum development.** *Journal of Animal Science*, v. 72, p. 1857-1872, 1994

SMITH, G. W. et al. **Extralabel use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in cattle.** *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 2008. v. 23, p. 697–701,

STRINGFELLOW, D.A.; SEIDEL, S.M. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões.** IETS, p. 112-113, Illinois, 1998

STROEBECH, L.; et al. **In vitro production of bovine embryos: revisiting oocyte development and application of systems biology.** *Anais... Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*, Gramado- RS, 2015. v. 29, p. 148-156.

SUTTON-MCDOWALL, M. L.; THOMPSON, J. G. **Metabolismo do oócito e do embrião préimplantação**. *Anais...* IN: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Gramado-RS, 2015. v.29, p. 88-98.

TREVISOL, E. et al. **Luteólise em bovinos**: revisão. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.37, n.1, p.29-36, jan./mar. 2013.

VEGA W. H. O. et al. **Phenotypic correlations between ovum pick-up in vitro production traits and pregnancy rates in Zebu cows**. *Genetics and Molecular Research*, v.14, p. 7335-7343, 2015.

VIEIRA, Romulo José; **BIOTÉCNICAS APLICADAS À REPRODUÇÃO BOVINA: GENERALIDADES** *Ciência Animal*, 2012 ed.22: p. 55-65.

WAITE et al., **Changes in bovine luteal progesterone metabolism in response to exogenous prostaglandin F<sub>2</sub>alpha**. *Domest Anim Endocrinol*, 2005. v.28, p.162-171.

WATHES, D.C.; LAMMING, G.E. **The oxytocin receptor, luteolysis and the maintenance of pregnancy**. *J Reprod Fertil Suppl*, 1995. v.49, p.53-67.

WRENZYCKI, C. **Sistemas de cultivo in vitro: quão longe estamos das condições ideais?**. *Anais...* Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Foz do Iguaçu, 2016. v.30, p. 155-159.