

EFICÁCIA LUTEOLÍTICA DOS PRODUTOS PRELOBAN® OU CRONIBEN® EM NOVILHAS HOLANDESAS¹

ALFREDO JOSÉ FERREIRA MELO², VINICIUS ANTÔNIO PELLISARI PONCIO², FERNANDA LUCCI MUCCI³, AFONSO AURÉLIO CARVALHO PERES⁴, CLAUDIO ALVARENGA DE OLIVEIRA⁵, RAFAEL HERRERA ALVAREZ^{2*}

¹Recebido para publicação em 28/04/14. Aceito para publicação em 12/08/14.

²Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Centro Sul, Piracicaba, SP, Brasil.

³Prefeitura de Pindamonhangaba, Departamento de Agricultura, Pindamonhangaba, SP, Brasil.

⁴Universidade Federal Fluminense (UFF), Departamento de Engenharia de Agronegócios, Volta Redonda, RJ, Brasil.

⁵Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), São Paulo, SP, Brasil.

*Autor correspondente: rherrera@apta.sp.gov.br

RESUMO: O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da aplicação intramuscular de dois diferentes produtos comerciais à base de d-cloprostenol sódico (Preloban® ou Croniprest®) na regressão luteínica de novilhas Holandesas. Em dia aleatório do ciclo estral, 36 novilhas foram sincronizadas com tratamento de estradiol-progestágeno-PG-estradiol. Doze dias após a retirada do progestágeno, as novilhas foram divididas aleatoriamente em 3 grupos de 12 animais. Os grupos 1 e 2 receberam o equivalente a 150 µg de d-cloprostenol dos produtos Croniben® ou Preloban®, enquanto o grupo 3 recebeu 2 mL de solução salina. Nos cinco dias seguintes, o cio foi detectado com auxílio de um dispositivo marcador (Estrotec®) e as novilhas que manifestaram cio foram inseminadas. Amostras de sangue foram coletadas nos períodos de 0, 24, 48 e 72 horas após a injeção do d-cloprostenol para dosagem da progesterona plasmática realizada pela técnica de radioimunoensaio. O diagnóstico de prenhez foi realizado por ultrassonografia 40 dias após a inseminação. O intervalo entre a injeção de Croniben® ou Preloban® e a manifestação do cio foi de 68,4 ± 4,4 e 63,3 ± 4,6 horas, respectivamente (P>0,05). A distribuição do cio no período de 36 a 108 horas. Com exceção de duas novilhas, todos os animais apresentaram luteólise completa. A taxa de concepção foi de 50,0% e 54,5% para os tratamentos Preloban® e Croniben®, respectivamente (P>0,05). Conclui-se que os produtos Preloban® e Croniben® possuem eficiência semelhante para induzir luteólise e cio fértil em novilhas Holandesas, podendo o produtor optar por qualquer um deles, sem risco de comprometer o desempenho reprodutivo.

Palavras-chave: bovinos, cloprostenol, luteólise, sincronização do cio.

LUTEOLYTIC EFFECTIVENESS OF PRELOBAN® OR CRONIBEN® PRODUCTS IN HOLSTEIN HEIFERS

ABSTRACT: The objective was to evaluate the effect of intramuscular injection of two different commercial products of cloprostenol (Preloban® or Croniprest®) on luteal regression of Holstein heifers. On a random day of the estrous cycle, 36 heifers were synchronized with an estradiol-progestin-PG-estradiol treatment. Twelve days after withdrawal of progestin, heifers were randomly divided into 3 groups of 12 animals. Groups 1 and 2 received the equivalent of 150 µg of d-cloprostenol of Croniben® or Preloban® products, while group 3 received 2 ml of saline. Estrus was detected with the aid of the dispositive Estrotec® on the following five days, and heifers that expressed estrus were inseminated. Blood samples were collected daily during the periods of 0, 24, 48 and 72 hours after the injection of d-cloprostenol for measurement of plasma progesterone by radioimmunoassay. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography 40 days after insemination. The interval between the manifestation of estrus and the Croniben® or Preloban® injection was 68.4 ± 4.4 and 63.3 ± 4.6 hours, respectively (P>0.05). The distribution of

estrus occurred in the period of 36 to 108 hours. With the exception of two heifers with incomplete luteolysis, all animals treated with d-cloprostenol showed complete luteolysis. The conception rate was 50.0% and 54.5% for Preloban® and Croniben® treatments, respectively ($P > 0.05$). We conclude that Preloban® and Croniben® products have similar effectiveness to induce luteolysis and and to synchronize the estrus of Holstein heifers. Thus, producer may choose any one of them without risk of compromising reproductive performance.

Keywords: bovine, cloprostenol, luteolysis, estrus synchronization.

INTRODUÇÃO

O controle farmacológico da luteólise é um componente essencial nos programas de sincronização do cio, visando a inseminação artificial. A lise do corpo lúteo pode ser conseguida pela administração de prostaglandina F2 α (PGF2 α) e uma grande variedade de análogos sintéticos de PGF2 α , com destaque para o d-cloprostenol (Dudhatra *et al.*, 2012). O d-cloprostenol (sal de sódio) apresenta meia-vida cerca de 23 vezes maior que a PGF2 α natural, de aproximadamente 3 horas contra 8 minutos (McCracken *et al.*, 1999) e é muito mais potente do que a PGF2 α uma vez que não é degradado pelas enzimas 15-hydroxydehydrogenase e 13,14-redutase (Bourne, 1981). Devido a essas características, o d-cloprostenol é usado em medicina veterinária como um agente luteolítico para a indução de cio e o tratamento de desordens reprodutivas das diversas espécies de interesse zootécnico.

No Brasil, atualmente estão disponíveis vários produtos comerciais de d-cloprostenol, cujo preço varia de 1 a 3 dólares por dose (Scot Consultoria, 2008). Em princípio, a capacidade desses produtos em produzir o efeito biológico desejado deve ser semelhante. No entanto, existe a percepção que o maior preço pode estar relacionado à melhor qualidade do produto, decorrente de processos de produção mais sofisticados e onerosos, que tornam o produto mais caro. A qualidade do produto comercial de d-cloprostenol é particularmente importante, uma vez que a baixa eficiência de sua atividade biológica pode comprometer a luteólise e resultar em concentrações elevadas de progesterona (P4) no momento da inseminação artificial (IA), com a consequente queda na taxa de concepção (Cairolí *et al.*, 2006; Waldmann *et al.*, 2006). Adicionalmente, a avaliação da eficácia dos produtos farmacológicos na área veterinária reveste-se de singular relevância com a entrada em vigor da Lei nº 12.689/2012, que autoriza a produção de medicamentos genéricos para uso veterinário no Brasil (Brasil, 2012). Dessa

forma, o objetivo do presente estudo foi comparar, em novilhas Holandesas, a eficiência luteolítica dos produtos comerciais a base de d-cloprostenol (Preloban® ou Croniprest®) que no momento do experimento apresentavam os preços extremos (maior e menor valor) de venda no varejo.

MATERIAL E MÉTODOS

Local, animais e manejo

O estudo foi desenvolvido no Centro de Criação de Matrizes Leiteiras do convenio APTA e Prefeitura de Pindamonhangaba, localizado no Polo Regional do Vale do Paraíba, em Pindamonhangaba, SP (longitude 22°55'26" S, latitude 45°27'42 W e altitude 557 m), no período de janeiro a maio de 2010. Foram utilizadas novilhas Holandesas criadas em pastagem de capim Mombaça em sistema de pastejo rotacionado. Os animais recebiam sal mineral e água *ad libitum* e suplementação diária de concentrado na quantidade de 0,9% do peso vivo. Durante a seca, os animais receberam, adicionalmente, mistura de cana-de-açúcar mais ureia.

Origem dos produtos comerciais de d-cloprostenol

Após pesquisa de preços ao consumidor de aproximadamente 10 produtos luteolíticos disponíveis no mercado brasileiro, foram selecionados os produtos Preloban® (Intervet Schering-Plough, Brasil) e Croniben® (Lab. Biogenesis Bago, Brasil), os quais apresentavam, na data do experimento, o maior (R\$7,50) e menor (R\$2,50) valor, respectivamente.

Delineamento experimental

Foram utilizadas trinta e seis novilhas Holandesas de 16,8 \pm 3,1 meses de idade e peso de 361,6 \pm 12,6 kg. Em dia aleatório do ciclo estral

(D0), os animais receberam um dispositivo vaginal contendo 1 g de progesterona (Primer®, Tecnopec, Brasil) juntamente com injeção intramuscular (i.m.) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE, Estrogin®, Farmavet, Brasil). No D8 foi retirado o Primer® e os animais receberam injeção i.m de 150 µg de d-cloprostenol (Prolise®, Arsa, Argentina). No dia seguinte (D9) os animais receberam a segunda injeção i.m. de 1 mg de BE. Doze dias após a retirada do Primer®, as novilhas foram divididas aleatoriamente em 3 grupos de 12 animais. Os grupos 1 e 2 receberam 2 mL (150 µg de d-cloprostenol) dos produtos Croniben® (Lab. Biogenesis Bago, Brasil) ou Preloban® (Intervet Schering-Plough, Brasil), respectivamente, enquanto o grupo 3 recebeu 2 mL de solução salina. No momento da injeção do d-cloprostenol ou solução salina foi colocado um dispositivo para auxiliar na detecção do cio (EstroTECT®, Rockway Inc., USA). Nos cinco dias seguintes o cio foi observado e os animais que manifestaram cio foram inseminados 8-12 horas após os primeiros sinais do cio. A inseminação foi realizada por um técnico experiente utilizando sêmen da mesma partida e de um único touro. O diagnóstico de prenhez foi realizado, por ultrassonografia, 40 dias após a inseminação.

Coleta de sangue

Amostras de sangue para análise de progesterona plasmática foram coletadas da veia jugular nos períodos de 0, 24, 48 e 72 horas após a injeção do d-cloprostenol. A dosagem de P4 foi realizada pela técnica de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-A-Count progesterona, DPC, Los Angeles, CA, EUA) no Laboratório de Análises Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. A sensibilidade do teste foi de 0,07 ng/ml, e os coeficientes de variação intra e interensaio foram inferiores a 10%. Considerou-se luteólise completa a queda da concentração plasmática de progesterona para níveis abaixo de 1 ng/ml nos quatro dias posteriores à aplicação do d-cloprostenol ou solução salina.

Análise dos dados

As variáveis contínuas (concentração de progesterona) foram analisadas por análise de variância com um fator (one-way ANOVA) e, quando diferenças significativas estavam presentes, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan.

As variáveis categóricas (manifestação do cio e prenhez) foram analisadas pelo teste de Fisher.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos animais tratados com d-cloprostenol, 87,5% apresentaram cio no período de seis dias após a injeção, enquanto que nenhum dos animais que receberam solução salina manifestou cio ($P < 0,01$). Não houve diferença ($P < 0,05$) na taxa de detecção de cio entre os produtos Croniben® (91,7%) e Preloban® (83,3%). O intervalo médio entre a injeção de Croniben® ou Preloban® e a manifestação do cio foi de $68,4 \pm 4,4$ e $63,3 \pm 4,6$ horas, respectivamente ($P > 0,05$). Esses valores são próximos do intervalo de 73,4 horas relatado previamente em novilhas mestiças tratadas com d-cloprostenol nos dias 9 a 11 do ciclo (CEMBRANELLI *et al.*, 2005), e provavelmente refletem a fase de desenvolvimento folicular no momento da administração do agente luteolítico (WATTS e FUQUAY, 1985). Igualmente, a distribuição da manifestação dos cios ocorreu no período de 36 a 96 horas no grupo tratado com Preloban® e de 48 a 108 horas no tratado com Croniben® ($P > 0,05$), com pico (mediana) entre 60 e 72 horas para os grupos Croniben® e Preloban® (Figura 1).

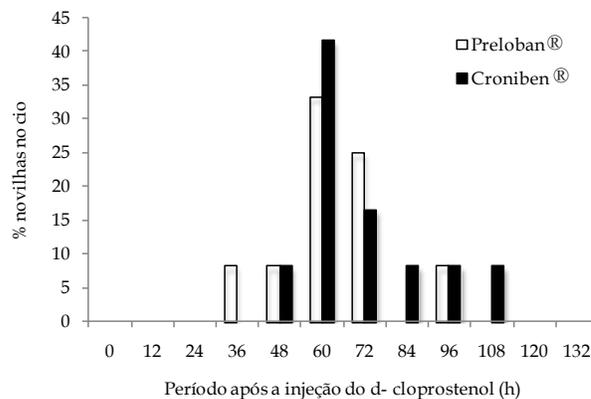


Figura 1. Período de manifestação do cio de novilhas holandesas tratadas com Preloban® ou Croniben®. A observação do cio dos animais foi realizada em três períodos durante o dia, com auxílio do dispositivo EstroTECT®.

Esses resultados estão em acordo com os relatados previamente por SUDWEEKS *et al.* (1983) em novilhas tratadas com Estrumate® (cloprotenol) ou Lutalyse® (dinoprost, um sal trometamina da PGF2 α natural). Esses autores detectaram mais novilhas em cio quando tratadas com Estrumate® (65,7%) que

com Lutalyse® (42,7%). No entanto, após a segunda injeção desses produtos, não houve diferença na taxa de concepção ou grau de sincronização do cio, concluindo que os dois produtos foram igualmente eficientes para sincronizar o cio em novilhas. Ainda, MARTINS *et al.* (2011) observaram menores concentrações de progesterona nas primeiras 12 horas após o tratamento com cloprostenol em comparação com dinoprost, porém, não foram observadas diferenças nestes dois produtos no tempo para completar a luteólise ou a ovulação.

Com exceção de duas novilhas, a injeção de Croniben® ou Preloban® provocou queda nas concentrações plasmáticas de progesterona até atingir níveis inferiores a 0,5 ng/ml, característicos da luteólise completa, no período de 48 a 72 horas (Figura 2).

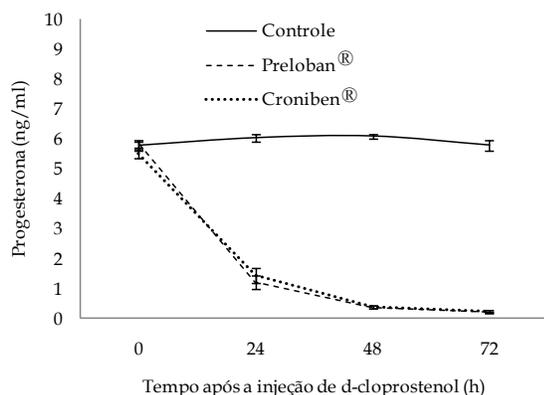


Figura 2. Evolução diária das concentrações plasmáticas de P4 de novilhas Holandesas que apresentaram luteólise completa após tratamento com Preloban® ou Croniben® no meio do ciclo estral.

Em duas novilhas (uma de cada tratamento) foi observada luteólise incompleta, em que as concentrações de progesterona pararam de diminuir após 24 horas, seguido de posterior aumento aparente da progesterona (Figura 3).

Segundo PETERS e BALL (1995), as causas do insucesso luteolítico (que ocorre em 10% ou mais das vacas tratadas com prostaglandinas) não são claras, mas podem estar relacionadas com vários fatores incluindo: (a) ausência de resposta de alguns corpos lúteos, mesmo na fase apropriada do ciclo; (b) tratamento muito precoce na fase lútea (metaestro); (c) injeção no local errado: ocasionalmente, a injeção intramuscular pode ser realizada acidentalmente na gordura ou tecido ligamentoso; (d) meia vida curta da prostaglandina exógena. Estas condições frequentemente levam à persistência de níveis

elevados de progesterona que podem influenciar negativamente a taxa de crescimento do folículo dominante e provocar a ausência dos sinais clínicos de cio e a ovulação (TREVISOL *et al.*, 2013). No entanto, no presente estudo, os dois animais com luteólise incompleta apresentaram cio e foram inseminados, mas foram diagnosticados vazios. Esses resultados sugerem que níveis relativamente elevados de progesterona dois dias após a injeção de d-cloprostenol, nem sempre resultam na inibição do cio, embora a fertilidade seja comprometida, conforme sugerido por PURSLEY *et al.* (2012) em vacas leiteiras submetidas ao protocolo Ovsynch de inseminação em tempo fixo.

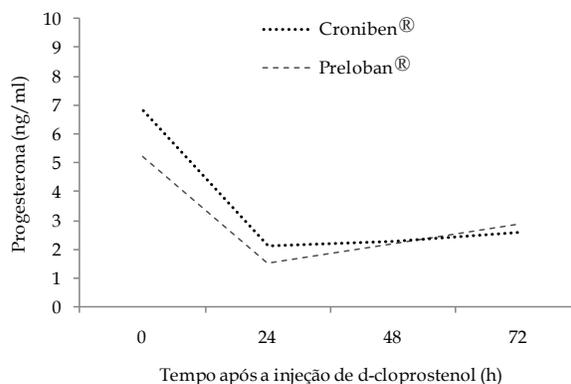


Figura 3. Evolução diária das concentrações plasmáticas de progesterona de novilhas Holandesas que apresentaram luteólise incompleta após tratamento com Preloban® ou Croniben® no meio do ciclo estral.

No presente estudo, a taxa de concepção não foi diferente ($P < 0,05$) entre os tratamentos Croniben® (54,5%) e Preloban® (50,0%). A semelhança da eficiência biológica dos dois produtos testados era esperada, uma vez que ambos os produtos possuem o mesmo princípio ativo (isômero dextrogiro do cloprostenol). Embora os enantiômeros de moléculas como o cloprostenol apresentem o mesmo ponto de fusão, ebulição e peso molecular, existe a possibilidade de diferenças nos desvios de plano de luz polarizada, interação com sistemas quirais que resultam em atividade biológica distinta (LIMA, 1997). Embora seja necessário aumentar o número de repetições para estabelecer diferenças significativas no índice de prenhez, conforme sugerido por TORRES *et al.* (2004), esses resultados são indicativos que ambos produtos resultam em taxas de prenhez equivalentes e concordam com

outros trabalhos prévios comparando diferentes produtos luteolíticos, naturais ou sintéticos. Assim, DESAULNIERS *et al.* (1990) não observaram diferenças na taxa de prenhez de novilhas leiteiras tratadas com dinoprost ou cloprostenol durante um ciclo estral normal ou com vários corpos lúteos após tratamento de superovulação. STEVENSON e PHATAK (2010) relataram o dinoprost mais eficaz que o cloprostenol na indução da luteólise em vacas leiteiras, contudo, a fertilidade não diferiu entre os produtos. Mais recentemente, ALBUQUERQUE *et al.* (2014) relataram semelhantes taxas de prenhez de vacas Holandesas tratadas com duas doses de dinoprost ou cloprostenol. Nesse último estudo, o dinoprost apresentou melhor desempenho que o cloprostenol na taxa de prenhez em vacas com elevada produção de leite (> 44 litros/dia).

CONCLUSÃO

Os produtos Preloban[®] e Croniben[®] são igualmente eficientes para induzir luteólise em novilhas Holandesas. Dessa forma, o produtor pode optar por qualquer um deles, conforme sua preferência ou disponibilidade no mercado.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J.P.; PEREIRA, M.H.C.; VASCONCELOS, J.L.M. **Avaliação de duas prostaglandinas (Dinoprost X Cloprostenol) durante protocolo de sincronização de estro a base de E2/P4**. 2014. (Informativo, 10). Disponível em: <<http://itarget.com.br/newclients/sbte.org.br/2014/newsletter/01-07-14/informativo-tecnico-10.pdf>>. Acesso em : 20 mar. 2014.
- BOURNE, G.R. A review of metabolism and clearance studies with ¹⁴C-cloprostenol in the cow. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.77, p.5-9, 1981. Supplement.
- BRASIL. Lei 12. 689, de 09 de Julho de 2012. Altera o decreto-Lei nº 467, 13 de fevereiro de 1969 para estabelecer o medicamento genérico de uso veterinário [...]. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 de Julho de 2012. Disponível em: < https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2012/lei/112689.htm> Acesso em: 21 mar. 2014.
- CAIROLI, F.; MOLLO, A.; VERONESI, M.C.; RENAVILLE, B.; FAUSTINI, M.; BATTOCCHIO, M. Comparison between cloprostenol-induced and spontaneous oestrus fertility in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.41, p.175-179, 2006.
- CEMBRANELLI, M.A.; FERNANDES, C.A.C.; GIOSSO, M.M.; FIGUEIREDO, A.C.S.; OLIVEIRA, E.R.; VIANA, J.H.M. Eficiência do D-Cloprostenol para sincronização em diferentes dias do ciclo estral. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.271, 2005. Suplemento, 1.
- DESAULNIERS, D.M.; GUAY, P.; VAILLANCOURT, D. Estrous induction with prostaglandin F2a, cloprostenol or fenprostalene during the normal estrous cycle, superovulation and after embryo collection. **Theriogenology**, v.34, p.667-682, 1990.
- DUDHATRA, G.B.; MODY, S.K.; PATEL, H.B.; MODI, C.M.; CHUKEWAR, A.B.; KUMAR, A.; AWALE, M.M. Prostaglandins and its analogues : an approach for treatment of anoestrus and to enhance breeding efficiency. **Veterinary World**, v.5, p.378-384, 2012.
- LIMA, V.L.E. Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem. **Química Nova**, v.20, p.657-663, 1997.
- MARTINS, J.P.N.; POLICELLI, R.K.; PURSLEY, J.R. Luteolytic effects of cloprostenol sodium in lactating dairy cows treated with G6G/Ovsynch. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.2806-2814, 2011.
- McCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; LAMSA, J.C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v.79, p.263-323, 1999.
- PETERS, A.R.; BALL, P.J.H. **Reproduction in cattle**. 3 th. ed. Oxford, England: Blackwell Publishing Ltda., 1995. 243p.
- PURSLEY, J.R.; MARTINS, J.P.N.; WRIGHT, C.; STEWART, N.D. Compared to dinoprost tromethamine, cloprostenol sodium increased rates of estrus detection, conception and pregnancy in lactating dairy cows on a large commercial dairy. **Theriogenology**, v.78, p.823-829, 2012.
- SCOT CONSULTORIA. Boi e companhia. **Informativo pecuário semanal**, Ano 16, n.791, 2008.
- STEVENSON, J.S.; PHATAK, A.P. Rates of luteolysis and pregnancy in dairy cows after treatment with cloprostenol or dinoprost. **Theriogenology**, v.73, p.1127-1138, 2010.
- SUDWEEKS, E.M.; RANDEL, R.D.; TOMASZEWSKI, M.A. Estrous synchronization after prostaglandin injection in dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.66, p.231, 1983. Supplement,1.

TORRES JR.; R.A.A.; SILVA, L.O.C.; NIETO, L.M. **Experimentos com taxa de prenhez e a busca da genética para eficiência reprodutiva**. 2004. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/melhoramento-genetico/experimentos-com-taxa-de-prenhez-e-a-busca-da-genetica-para-eficiencia-reprodutiva-20198/>. Acesso em: 20 out. 2013.

TREVISOL, E.; FERREIRA, J.C.P.; ACKERMANN, C.L.; DESTRO, F.C.; AMARAL, J.B. Luteólise em bovinos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, p.29-36, 2013.

WALDMANN, A.; KURYKIN, J.; JAAKMA, U.; KAART, T.; AIDNIK, M.; JALAKAS, M.; MAJAS, L.; PADRIK, P. The effects of ovarian function on estrus synchronization with PGF in dairy cows. **Theriogenology**, v.66, p.1364-1374, 2006.

WATTS, T.L.; FUQUAY, J.W. Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin F_{2α} during early, middle, or late diestrus. **Theriogenology**, v.23, p.655-661, 1985.