



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**EFEITO DA DESLORELINA NA SUPRESSÃO DO CRESCIMENTO FOLICULAR  
EM VACAS NELORE COM DOENÇA OVARIANA CÍSTICA CRÔNICA**

Aline da Silva Mendes Teixeira

BRASÍLIA, DF

2025

**Aline da Silva Mendes Teixeira**

**EFEITO DA DESLORELINA NA SUPRESSÃO DO CRESCIMENTO  
FOLICULAR EM VACAS NELORE COM DOENÇA OVARIANA CÍSTICA  
CRÔNICA**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em  
Biologia Animal do Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção  
do título de Mestre em Biologia Animal.

**Orientador: João Henrique Moreira Viana**

BRASÍLIA, DF

**Aline da Silva Mendes Teixeira**

**EFEITO DA DESLORELINA NA SUPRESSÃO DO CRESCIMENTO FOLICULAR  
EM VACAS NELORE COM DOENÇA OVARIANA CÍSTICA CRÔNICA**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em  
Biologia Animal do Instituto de Ciências Biológicas da  
Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção  
do título de Mestre em Biologia Animal.

Aprovada em: 18/11/2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. João Henrique Moreira Viana (Presidente)

Prof. Dr. Fernanda Paulini (Membro Titular)

Prof. Dr. Luiz Gustavo Bruno Siqueira (Membro Titular)

Suplente:

Prof. Dr. Ivo Pivato

**BRASÍLIA, DF**

**2025**

Dedico todo e qualquer sucesso à minha mãe,  
Juliana Nielson, e ao meu pai, Valdir Nielson,  
que, sob muito sol, me fizeram  
chegar até aqui pela sombra.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele, Sua infinita graça e misericórdia, nada seria possível.

Agradeço a Nossa Senhora, por ter acalmado meu coração tantas vezes.

À Universidade de Brasília, ao Instituto de Biologia e à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pela grande oportunidade.

À minha mãe, que é o maior exemplo de resiliência, entrega e amor, e ao meu pai Valdir, que trabalhou muito para que eu pudesse estar aqui hoje. Eles me amaram, me ensinaram a ter caráter e a nunca desistir dos meus sonhos.

Ao meu noivo e grande amor, Mateus Biângulo, que me apoiou, acalmou, ajudou, incentivou e me acolheu, tornando essa jornada muito mais leve. Meu amor e minha gratidão são para você.

À minha irmã, pelos conselhos e pelo ombro amigo durante esta fase, e à minha grande amiga Juliana Correia, que sempre esteve ao meu lado e nunca soltou minha mão, e ao meu pai Daniel, que me apoiou no instante em que falei que iria tentar o mestrado meu amor e gratidão a vocês.

Agradeço aos meus amigos de mestrado Hallya, Janara e Lucas, por sempre estenderem a mão.

Agradeço à minha amiga Gabriela Passamani, que me apoia desde a graduação sem você, eu não estaria aqui.

Agradeço à minha avó Cleonice e à minha tia Camilla, que sempre oram por mim, e aos meus padrinhos, pelo apoio constante.

Agradeço também a toda a equipe da Fazenda Sucupira, por toda a ajuda durante este período.

Por fim, agradeço ao meu orientador, que, com paciência, sanou minhas dúvidas e me auxiliou em cada passo desta jornada.

## ÍNDICE

Capítulos/subcapítulos	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ANEXOS	xiii
<b>CAPÍTULO 1:</b> <b>INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO DE LITERATURA</b>	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	2
1.1 Objetivos	4
1.1.1 Objetivo Geral	4
1.1.2 Objetivos Específicos	4
1.2 Hipótese	4
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
CAPÍTULO 2: EFEITO DA DESLORELINA NA SUPRESSÃO DE ONDAS FOLICULARES EM VACAS NELORE COM DOENÇA OVARIANA CÍSTICA CRÔNICA	19
RESUMO	20
ABSTRACT	21
1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3. RESULTADOS	26
4. DISCUSSÃO	34
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
6. REFÊRENCIAS	40
<b>ANEXOS</b>	43
1. Certificado de aprovação pelo comitê de Ética	43

## RESUMO

A eficiência reprodutiva é um dos principais determinantes da sustentabilidade da bovinocultura, impactando diretamente a produtividade e a rentabilidade dos sistemas de produção. A doença ovariana cística crônica (COD) é uma disfunção reprodutiva caracterizada pela persistência de folículos anovulatórios, cuja ocorrência está associada a fatores de manejo e condições ambientais, resultando em infertilidade temporária e em perdas econômicas significativas. Apesar da relevância do problema, as opções terapêuticas disponíveis apresentam eficácia variável, o que evidencia a necessidade de alternativas mais consistentes. Considerando esse cenário, este estudo avaliou o efeito de diferentes doses de implantes de deslorelina, um agonista de GnRH de longa duração, na supressão do crescimento folicular em vacas Nelore diagnosticadas com COD. Foram utilizadas 16 fêmeas Nelore, diagnosticadas clinicamente com COD, alocadas aleatoriamente em quatro grupos experimentais: G0 (controle – sem tratamento), G1 (4,7 mg de deslorelina), G2 (9,4 mg de deslorelina) e G3 (14,1 mg de deslorelina). Os animais foram acompanhados por até 14 meses, com avaliações ultrassonográficas periódicas e coletas sanguíneas para análise hormonal progesterona e hormônio anti-Mülleriano (AMH). Antes do tratamento, todas as vacas apresentavam folículos com diâmetro compatível com COD (maior folículo:  $21,2 \pm 0,1$  mm). Após o tratamento, observou-se efeito significativo do tempo, da dose e da interação entre ambos para as variáveis relacionadas ao número e diâmetro folicular. Os grupos tratados (G1, G2 e G3) apresentaram redução progressiva no diâmetro do maior folículo e no número de folículos com diâmetro superior a 12 mm, com diferenças significativas em relação ao controle a partir da 4ª semana; no G2, verificou-se supressão completa da atividade folicular média a partir da 12ª semana. Adicionalmente, a área de tecido luteal aumentou significativamente nos grupos tratados, indicando luteinização dos cistos ovarianos, acompanhada por elevação das concentrações séricas de progesterona. No grupo controle, não foram observadas alterações relevantes em relação a progesterona e hormônio anti-Mülleriano. A recuperação da atividade folicular foi evidenciada pelo aumento progressivo na proporção de animais com folículos superiores a 7 mm nos meses subsequentes, com retorno mais precoce no G3 e mais tardio no G2. Os níveis de AMH e a contagem de folículos antrais não foram significativamente afetados pelo tratamento; entretanto, a correlação entre essas variáveis tornou-se mais evidente nos grupos tratados após a administração da deslorelina.

Conclui-se que a deslorelina, em diferentes dosagens, promove supressão reversível do crescimento folicular e induz luteinização em vacas Nelore com COD, representando uma alternativa promissora para o manejo terapêutico dessa disfunção reprodutiva em bovinos de corte.

**Palavras-chave:** Bovinos; Disfunção ovariana; Cistos; supressão do crescimento folicular; GnRH; progesterona.



## ABSTRACT

Reproductive efficiency is one of the main determinants of sustainability in cattle production, directly affecting productivity and profitability within production systems. Chronic ovarian disease (COD) is a reproductive dysfunction characterized by the persistence of anovulatory follicles, whose occurrence is associated with management factors and environmental conditions, resulting in temporary infertility and significant economic losses. Despite the relevance of this condition, currently available therapeutic options show variable efficacy, highlighting the need for more consistent alternatives. Considering this scenario, this study evaluated the effect of different doses of deslorelin implants, a long-acting GnRH agonist, on the suppression of follicular growth in Nelore cows diagnosed with COD. Sixteen Nelore females clinically diagnosed with COD were used and randomly allocated into four experimental groups: G0 (control – no treatment), G1 (4.7 mg deslorelin), G2 (9.4 mg deslorelin), and G3 (14.1 mg deslorelin). The animals were monitored for up to 14 months, with periodic ultrasonographic evaluations and blood sampling for hormonal analysis (progesterone and anti-Müllerian hormone – AMH). Before treatment, all cows presented follicles with diameters consistent with COD (largest follicle:  $21.2 \pm 0.1$  mm). After treatment, significant effects of time, dose, and their interaction were observed for variables related to follicular diameter. The treated groups showed a progressive reduction in the diameter of the largest follicle and in the number of follicles larger than 12 mm, with significant differences compared to the control group starting from the 4th week; in G2, complete suppression of mean follicular activity was observed from the 12th week onward. Additionally, the luteal tissue area increased significantly in the treated groups, indicating luteinization of ovarian cysts, accompanied by elevated serum progesterone concentrations. In the control group, no relevant hormonal changes were observed for progesterone or anti-Müllerian hormone. Recovery of follicular activity was evidenced by a progressive increase in the proportion of animals with follicles larger than 7 mm in the following months, with earlier return in G3 and later return in G2. AMH levels and antral follicle count were not significantly affected by treatment; however, the correlation between these variables became more evident in the treated groups after deslorelin administration. It is concluded that deslorelin, at different dosages, promotes reversible suppression of follicular growth and induces luteinization in Nelore cows with COD, representing a promising therapeutic alternative for managing this reproductive dysfunction in beef cattle.

**Keywords:** Cattle; Ovarian dysfunction; Cysts; Follicular growth suppression; GnRH; Progesterone.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**AFC** — Contagem de Folículos Antrais (*Antral Follicle Count*)

**AMH** — Hormônio Anti-Mülleriano

**CIDR** — Dispositivo de liberação controlada de drogas (*Controlled Internal Drug Release*)

**COD** — Doença Ovariana Cística (*Cystic ovarian disease*)

**FSH** — Hormônio Folículo Estimulante

**GnRH** — Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

**hCG** — Gonadotrofina Coriônica Humana (*Human Chorionic Gonadotropin*)

**LH** — Hormônio Luteinizante

**P4** — Progesterona

## LISTA DE FIGURAS

Número	Título	Página
1	<b>Figura 1 A-B.</b> Imagens ultrassonográficas ovarianas de vacas Nelore com doença ovariana cística (COD) crônica. (A) Cisto ovariano simples, com diâmetro >20 mm. (B) Presença de múltiplos folículos ovarianos de tamanho médio (6 a 8 mm).	27
2	<b>Figura 2.</b> Imagem ultrassonográfica obtida durante o experimento, evidenciando a presença de tecido luteal concomitante a presença de cisto folicular em vaca Nelore diagnosticada com doença ovariana cística crônica, e pertencente ao grupo controle (não tratada com deslorelina).	27
3	<b>Figura 3.</b> Parâmetros foliculares em animais da raça Nelore tratados com diferentes concentrações de deslorelina. (A) Diâmetro do maior folículo; (B) Número de folículos >12 mm; (C) Número de folículos >8 mm; (D) Contagem de folículos antrais; Área de tecido luteal (E, cm <sup>2</sup> ); Concentração de progesterona (F, ng/mL). (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg)	28
4	<b>Figura 4 A-B.</b> Parâmetros luteais em animais da raça Nelore tratados com diferentes concentrações de deslorelina. (A) Área de tecido luteal (cm <sup>2</sup> ); (B) Concentração de progesterona (ng/mL). (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).	29
5	<b>Figura 5.</b> Percentual de em vacas Nelore com diagnóstico prévio de doença ovariana cística crônica e tratamento com diferentes concentrações de deslorelina apresentando folículos >7 mm ao longo dos meses após o tratamento. (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg)	30
6	<b>Figura 6.</b> Concentrações médias de AMH (ng/mL) em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica antes (barras em preto) e 12 semanas após (barras em cinza) tratamento com implantes de deslorelina (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).	31
7	<b>Figura 7 A-B.</b> Correlação entre a contagem de folículos antrais (AFC) e as concentrações séricas de hormônio anti-Mülleriano (AMH) em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica antes (A) ou 12 semanas após (B) tratamento com implantes de deslorelina.	32
8	<b>Figura 8.</b> Escore subjetivo de mucometra em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica tratadas com diferentes concentrações de deslorelina. (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg). padrão.	33
9	<b>Figura 9.</b> Escore subjetivo de mucometra em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica tratadas com diferentes concentrações de deslorelina (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).	33

## LISTA DE ANEXOS

Número	Título	Página
1	Certificado de aprovação pelo Comitê de Ética	43

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO DE LITERATURA**

## INTRODUÇÃO GERAL

A eficiência reprodutiva representa um dos pilares da sustentabilidade e da rentabilidade da pecuária moderna. Em bovinos, a dinâmica folicular, regulada por interações complexas do eixo hipotálamo–hipófise–ovário (HHO), desempenha papel central no sucesso do processo de ovulação e, consequentemente, na manutenção da fertilidade. Durante o ciclo estral, o recrutamento, a seleção e a dominância de folículos antrais ocorrem em ondas coordenadas, garantindo que apenas um folículo dominante atinja o estágio pré-ovulatório e possa ovular, sob estímulo do pico do hormônio luteinizante (LH) (Figueiredo et al., 1997). Entretanto, falhas nesses mecanismos podem interromper a sequência esperada de crescimento folicular, resultando em condições anovulatórias de grande relevância para a reprodução bovina.

Dentre as alterações funcionais do ovário, os cistos ovarianos destacam-se como importante causa de subfertilidade e de prejuízos econômicos nos rebanhos, tanto de corte quanto leiteiros. Estas estruturas, caracterizadas pela persistência de folículos anovulatórios por mais de seis dias e diâmetro superior a 17 mm na ausência de corpo lúteo funcional, surgem a partir de falhas no pico pré-ovulatório de LH (Silvia et al., 2002). A etiologia dos cistos ovarianos é reconhecidamente multifatorial, incluindo distúrbios metabólicos, nutricionais, ambientais, infecciosos e fatores genéticos, que podem comprometer a resposta endócrina periférica e central, perpetuando a manutenção de estruturas císticas.

Entre as formas de manifestação dos cistos foliculares, a Doença Ovariana Cística Crônica (COD) representa um dos quadros de maior impacto reprodutivo, sobretudo em vacas de alto valor zootécnico e utilizadas como doadoras de oócitos ou embriões. Nestes casos, a persistência prolongada dos cistos, mesmo após terapias convencionais, compromete a dinâmica folicular de forma sustentada, dificultando o restabelecimento da ciclicidade ovariana. Alterações na expressão de receptores de gonadotrofinas, elevação da inibina folicular e redução da atividade aromatase estão entre os mecanismos descritos na manutenção da COD, conferindo à enfermidade caráter desafiador e de difícil reversão (Roberge et al., 1993). Diante desse cenário, tornam-se necessárias estratégias terapêuticas alternativas, como a utilização de agonistas ou antagonistas de GnRH, com potencial de suprimir de forma prolongada a atividade folicular e, consequentemente, eliminar os cistos

presentes. Essa abordagem, ainda considerada experimental, pode oferecer novas perspectivas para o manejo reprodutivo de doadoras submetidas a protocolos intensivos, contribuindo para reduzir a incidência de cistos e possibilitar maior eficiência no uso de biotecnologias da reprodução.

Assim, torna-se essencial aprofundar o conhecimento acerca da dinâmica folicular e das alterações envolvidas na formação e persistência dos cistos ovarianos em bovinos, bem como investigar novas estratégias terapêuticas que minimizem os impactos produtivos e sanitários dessa enfermidade.



## **Objetivos**

### **Objetivo Geral**

Avaliar o efeito do implante à base de deslorelina, um análogo de GnRH, na supressão do crescimento folicular em vacas da raça Nelore com doença ovariana cística crônica.

### **Objetivos Específicos**

- Analisar o efeito de diferentes doses de deslorelina administradas por via subcutânea, para a supressão do crescimento folicular em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica;
- Caracterizar a resposta ovariana ao tratamento com deslorelina com base em avaliações ultrassonográficas seriadas da população folicular;
- Avaliar a taxa de regressão dos cistos ovarianos ao longo do período experimental de três meses, e o retorno subsequente da atividade ovariana;
- Monitorar as alterações nos perfis hormonais, com ênfase nas concentrações séricas de progesterona e hormônio anti-Mülleriano (AMH), como indicadores de retorno à atividade ovariana cíclica.

### **Hipótese**

A administração subcutânea de implantes contendo deslorelina, um agonista de GnRH, é capaz de promover a supressão da atividade ovariana em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica, culminando na regressão dos cistos e na interrupção das ondas foliculares.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1. Dinâmica folicular e falhas ovulatórias

Durante o ciclo estral de fêmeas bovinas, a dinâmica folicular é caracterizada por ondas de crescimento, reguladas por interações hormonais coordenadas pelo eixo hipotálamo–hipófise–ovário (Ginther et al., 2003). Nesses eventos, múltiplos folículos antrais são recrutados sob estímulo do hormônio folículo-estimulante (FSH). Entre os folículos recrutados, apenas um é selecionado para continuar o desenvolvimento, tornando-se dominante, enquanto os demais sofrem atresia. Esse processo é controlado principalmente pela capacidade do folículo dominante de produzir estradiol e inibina, reduzindo a concentração circulante de FSH, paralelamente à transição da dependência primária do FSH para o LH.

O momento crítico é a divergência folicular, em que ocorre a separação entre o padrão de crescimento do folículo dominante e dos subordinados. Em condições adequadas, o folículo dominante atinge o tamanho pré-ovulatório e, sob a ação do estrógeno, desencadeia o pico de LH que leva à ovulação (Ginther et al., 2001). O diâmetro ovulatório, no entanto, varia entre grupos genéticos: em fêmeas *Bos taurus*, os valores médios registrados giram em torno de 16 a 17 mm nas primeiras ondas do ciclo (Ginther et al., 1989), enquanto em *Bos indicus* os folículos dominantes são significativamente menores, com diâmetros entre 9 e 12 mm, dependendo do número de ondas foliculares (Figueiredo et al., 1997).

As falhas nesse processo de dominância e ovulação podem resultar em condições anovulatórias, que representam um dos principais entraves à eficiência reprodutiva. Essas condições podem ser classificadas com base no estágio de desenvolvimento folicular em que o processo ovulatório se interrompe ou é alterado. Segundo Wiltbank et al. (2002), três pontos fisiológicos são essenciais nessa classificação em *Bos taurus*: a emergência folicular (~4 mm), o desvio folicular (~9 mm) e o tamanho ovulatório, que pode variar de 10 a 20 mm. O anestro pode ocorrer de forma precoce, quando os folículos não progridem além da emergência, situação associada a deficiência de FSH é observada principalmente em vacas zebuínas sob severa subnutrição no pós-parto e, portanto, não frequente em rebanhos bem manejados. Outra possibilidade ocorre quando o folículo cresce até o diâmetro associado ao desvio, mas não atinge o tamanho ovulatório, sendo observada em novilhas pré-púberes, vacas leiteiras em

balanço energético negativo ou sob efeito inibitório da amamentação. Nesses casos, há hipersensibilidade hipotalâmica ao feedback negativo do estradiol, que reduz a frequência de pulsos de GnRH e LH, impedindo a maturação final do folículo dominante (Beam et al., 1999)

Por outro lado, quando o crescimento folicular ultrapassa o diâmetro associado à ovulação, sem que a mesma aconteça, formam-se os cistos foliculares. Neste caso, alterações na frequência ou amplitude dos pulsos de LH, associadas à concentrações subluteais de progesterona ou à alterações na sensibilidade do hipotálamo ao *feedback* positivo do estradiol, comprometem o pico pré-ovulatório de LH (Garverick et al., 1997). Essas disfunções podem evoluir para quadros como os cistos ovarianos.

## **2. Cistos Ovarianos**

Pela definição clássica da literatura, cistos ovarianos são folículos anovulatórios com diâmetro entre 17 e 25 mm, que persistem no ovário por mais de 6 dias na ausência de corpo lúteo, interferindo na ciclicidade ovariana normal, diâmetros superiores também podem ser observados em cistos mais desenvolvidos, conforme descrito em outras classificações (Silvia et al., 2002). Embora o mecanismo exato envolvido na formação dos cistos ovarianos ainda não esteja completamente elucidado, a hipótese mais reconhecida é de que a origem dessas alterações está associada à ausência, insuficiência ou temporização inadequada do pico pré-ovulatório de LH durante a fase de dominância folicular, causada por um *feedback* estrogênico disfuncional sobre o eixo hipotálamo-hipófise-ovário (Vanholder et al., 2006; Lima et al., 2019). Concentrações intermediárias ou inadequadas de progesterona (P4) também têm sido associadas à persistência de folículos anovulatórios, criando um ambiente hormonal permissivo à manutenção dessas estruturas (Hatler et al., 2003).

A etiologia dos cistos ovarianos apresenta caráter multifatorial. Estudos indicam que a falha central no eixo hipotálamo-hipófise-ovário desempenha papel determinante, especialmente pela incapacidade do hipotálamo em deflagrar o pico pré-ovulatório de LH frente ao aumento de estradiol. Além disso, já se descreveu que folículos destinados à formação de cistos apresentam alterações locais, como a maior expressão de receptores de LH nas células da granulosa, o que evidencia um comprometimento da resposta hormonal periférica (Silvia et al., 2002). Dessa forma, a formação e persistência dos cistos ovarianos refletem a interação de disregulações centrais e periféricas que, se não revertidas, podem

evoluir para quadros crônicos mais complexos. A caracterização morfológica e funcional dos cistos ovarianos é fundamental para o diagnóstico preciso e a escolha do tratamento adequado e, portanto, torna-se necessário compreender sua classificação em foliculares e lúteos.

## **2.1 Classificação dos cistos**

Os cistos ovarianos podem ser classificados como foliculares ou luteinizados, conforme o grau de luteinização da parede folicular, podendo acometer um ou ambos os ovários (Gilbert, 2016). Os cistos foliculares, os mais frequentemente observados, apresentam parede fina (até 3 mm de espessura) e conteúdo anecoico. Já os cistos lúteos possuem parede espessa (acima de 3 mm) e frequentemente apresentam áreas hiperecogênicas em seu interior (Garverick, 1997). Considera-se que os cistos lúteos se desenvolvem a partir de cistos foliculares que, com o tempo, sofrem luteinização das células da teca e da granulosa, passando a secretar progesterona. Por outro lado, os cistos foliculares produzem pouca ou nenhuma quantidade desse hormônio (Brito & Palmer, 2004).

A diferenciação entre eles baseia-se não apenas em características ultrassonográficas, como espessura da parede e ecogenicidade, mas também na capacidade secretora hormonal, que influencia diretamente a abordagem clínica e o prognóstico. Assim, a dosagem de progesterona circulante é ferramenta complementar fundamental à ultrassonografia para a caracterização funcional dos cistos ovarianos (Hatler et al., 2003). A distinção morfológica e funcional dos cistos ovarianos é essencial para o diagnóstico e manejo clínico. Entretanto, a etiologia dos cistos resulta da interação complexa entre múltiplos fatores predisponentes que alteram a regulação hormonal e o padrão folicular fisiológico, favorecendo o desenvolvimento da patologia.

## **2.2 Fatores predisponentes**

Os fatores predisponentes aos cistos ovarianos incluem uma ampla gama de aspectos endógenos e exógenos, incluindo distúrbios metabólicos, hormonais, ambientais e de manejo. Em vacas leiteiras, o balanço energético negativo no início da lactação é considerado um dos principais fatores associados à disfunção folicular, decorrente da mobilização acentuada de ácidos graxos não esterificados, que compromete o ambiente folicular e prejudica a ovulação (Beam & Butler, 1999).

Outros fatores relevantes incluem alta produção de leite, paridade avançada, distúrbios puerperais, como metrite e retenção de placenta, tipo de alojamento, além do estresse térmico (Laporte et al., 1994; Vanholder et al., 2006). A obesidade pode alterar o equilíbrio hormonal e comprometer a função ovariana, sendo particularmente relevante em vacas leiteiras, onde frequentemente decorre da superalimentação no período seco. Esse excesso de condição corporal está fortemente associado a distúrbios reprodutivos no pós-parto, incluindo a formação de cistos foliculares (Brown et al., 1986).

A exposição prolongada ao estresse, combinada com variações na disponibilidade de nutrientes e com as condições climáticas tropicais, pode afetar o eixo reprodutivo e favorecer a formação e persistência dos cistos ovarianos. Em doadoras Nelore, o estímulo reprodutivo por meio de protocolos hormonais de indução de ovulação ou sincronização de estro, associado a variações no estado metabólico, contribui para a manutenção de folículos anovulatórios, especialmente em animais com histórico de resposta reprodutiva subótima (López-Gatius et al., 2002).

### **2.3 Sintomatologia clínica e diagnóstico dos cistos ovarianos**

Historicamente, os cistos ovarianos em vacas eram associados a sinais clínicos evidentes, como ninfomania e masculinização, incluindo comportamento agressivo e monta em outras fêmeas, atribuídos ao aumento de testosterona (Cassida et al., 1944). Com o avanço no entendimento da fisiopatologia, tornou-se evidente que muitos cistos podem permanecer sem diagnóstico clínico, por ausência de sinais externos perceptíveis, ou mesmo se tornarem não esteroidogênicos ao longo do tempo, deixando de interferir diretamente na ciclicidade (Vanholder et al., 2006). Quando presentes, os sinais clínicos variam de acordo com o tipo de cisto e o grau de luteinização. O anestro é o achado mais comum dos casos, principalmente no período pós-parto. Outros sinais possíveis incluem intervalos irregulares entre estros, ninfomania, relaxamento dos ligamentos pélvicos largos, além de alterações comportamentais associadas à masculinização (Ball et al., 2004). O diagnóstico dos cistos ovarianos em bovinos envolve uma abordagem integrada, combinando diferentes técnicas que variam em precisão, disponibilidade e aplicabilidade prática. A palpação retal é frequentemente utilizada em campo, especialmente em sistemas extensivos, mas apresenta limitações na acurácia,

assim como na capacidade de distinção entre cistos foliculares e luteínicos devido à subjetividade da avaliação tátil (Palhão et al., 2014)

A ultrassonografia transretal é considerada o principal método diagnóstico, permitindo a visualização e mensuração dos folículos e estruturas luteais presentes, assim como o monitoramento das mesmas ao longo do tempo. A acurácia pode ser aumentada com o uso da ultrassonografia com *Doppler* colorido, que permite avaliar em tempo real a vascularização da parede cística, estimando de forma mais confiável a atividade luteal (Turner et al., 2023). Estudos indicam que o fluxo sanguíneo luteal avaliado via Doppler correlaciona-se melhor com a concentração plasmática de progesterona do que a simples mensuração da área luteal, o que reforça seu valor diagnóstico (Matsui & Miyamoto, 2009; Lüttgenau & Bollwein, 2014).

A dosagem de progesterona plasmática continua sendo uma ferramenta complementar importante. Valores menores que 1 ng/mL são compatíveis com cistos foliculares, enquanto concentrações intermediárias sugerem luteinização parcial ou presença de cisto luteínico (Hatler et al., 2003). A utilização conjunta de *Doppler* colorido e dosagem hormonal melhora significativamente a acurácia diagnóstica, favorecendo a escolha adequada do tratamento e, consequentemente, maior eficiência reprodutiva (Matsui et al., 2009).

Estudos recentes destacam que a combinação do modo B, espessura de parede e avaliação do fluxo sanguíneo por *Doppler* pode aumentar significativamente a sensibilidade diagnóstica, permitindo melhor discriminação entre cistos luteínicos e foliculares e garantindo uma escolha terapêutica mais adequada (Lüttgenau et al., 2014). Além disso, essa abordagem diagnóstica contribui diretamente para a redução dos impactos econômicos causados pela subfertilidade (Turner et al., 2023).

## **2.4 Tratamentos convencionais de cistos foliculares em bovinos**

O tratamento dos cistos ovarianos em bovinos visa restabelecer a ciclicidade normal, promover a regressão ou luteinização da estrutura cística e recuperar a fertilidade. A escolha da conduta terapêutica depende da correta identificação do tipo de cisto, visto que diagnósticos equivocados podem comprometer a resposta ao tratamento.

No caso de cistos foliculares, o foco terapêutico está na indução do pico de LH, uma vez que a maioria das vacas afetadas apresenta estoques hipofisários adequados. A administração exógena de GnRH estimula a liberação de LH, promovendo ovulação ou luteinização do cisto (Probo et al., 2011). De forma semelhante, a hCG atua como análogo do LH, induzindo ovulação ou luteinização direta do cisto. Outra abordagem envolve o uso de dispositivos intravaginais de liberação de progesterona (CIDR), aplicados por três dias ou mais. A progesterona exerce feedback negativo sobre o eixo hipotálamo-hipófise-ovário, suprimindo o pico de LH durante sua aplicação. Após a remoção do dispositivo, ocorre um estímulo para retomada da dinâmica folicular e do ciclo estral (Calder et al., 1999).

Protocolos modernos, como o *Ovsynch*, (Pursley et al., 1995) combinam GnRH e prostaglandina F2 $\alpha$ , frequentemente associados a dispositivos de progesterona, para promover controle da dinâmica ovariana e sincronização folicular, permitindo ovulação programada e melhoria da eficiência reprodutiva (El-Zarkouny et al., 2011; Lopez-Gatius et al., 2002). A eficácia do tratamento depende da precocidade do diagnóstico, do tipo de manejo reprodutivo e da resposta individual de cada animal.

## **2.5. Doença Ovariana Cística Crônica (COD)**

Aproximadamente 80% das vacas portadoras de cistos ovarianos respondem aos protocolos terapêuticos convencionais (Kesler et al., 1979). Contudo, uma parcela significativa apresenta persistência dos cistos por mais de dez dias, sem ovulação ou regressão espontânea, caracterizando a Doença Ovariana Cística Crônica (COD). Essa condição representa um distúrbio reprodutivo de difícil manejo, com impacto negativo expressivo sobre a fertilidade e a eficiência produtiva. De acordo com estudo de Kesler et al. (1979), cerca de 20% das vacas não restabelecem os ciclos ovarianos mesmo após tratamento com GnRH, possivelmente devido à degeneração das células da granulosa e da teca interna, o que indica uma falha na resposta hormonal e sustenta o caráter crônico da enfermidade.

A COD crônica envolve alterações específicas no ovário, incluindo redução da expressão de receptores de LH e FSH na parede folicular e nas células da granulosa, em comparação com vacas cíclicas normais (Brown et al., 1986). Além disso o fluido folicular apresenta alterações significativas em sua composição, como redução dos níveis de glicose, modificações no transporte de colesterol e proteínas, além de alterações na expressão de

receptores de LH, insulina e IGF-1, fatores que comprometem a esteroidogênese normal perpetuando o quadro anovulatório (Mimouné et al., 2018).

Estudos clássicos, como o de Roberge et al. (1993), também descreveram concentrações elevadas de inibina no fluido folicular de vacas com COD crônica, fator que inibe a secreção hipofisária de FSH, reduzindo sua concentração circulante e comprometendo a expressão de receptores gonadotrópicos nos folículos subsequentes. Esse mecanismo contribui para um ciclo autossustentado de manutenção do cisto, dificultando o recrutamento de novos folículos e agravando o quadro clínico. Em função dessas alterações, a COD crônica compromete a dinâmica folicular de forma prolongada, tornando a recuperação do padrão normal de ondas foliculares mais complexa, mesmo após protocolos terapêuticos clássicos

## **2.6. Quadros não convencionais de cistos ovarianos**

Além dos distúrbios endócrinos clássicos, cistos ovarianos podem surgir em situações particulares, especialmente em fêmeas utilizadas como doadoras de embriões ou oócitos. O uso repetido de hormônios para sincronização, superestimulação ou superovulação, a manutenção prolongada de vacas na condição de não gestantes, o escore corporal elevado, múltiplas punções foliculares, além de fatores genéticos e ambientais, podem interagir, desencadeando falhas no eixo hipotálamo–hipófise–ovário (Petyim et al., 2001).

O desenvolvimento desses quadros tem causa multifatorial. A aspiração repetida de folículos em doadoras de oócitos pode alterar as concentrações endógenas de FSH e LH, acelerando o crescimento folicular e aumentando a incidência de co-dominância. Os folículos residuais podem permanecer ativos do ponto de vista esteroidogênico, interferindo na dinâmica folicular subsequente (Petyim et al., 2001; Viana et al., 2010, 2013; Ghetti et al., 2016). Outros fatores de risco incluem sobrepeso, uso frequente de esteroides exógenos em protocolos de pré-sincronização, manutenção prolongada de vacas não gestantes, múltiplas punções foliculares, e condições ambientais e genéticas adversas.

Estudos demonstraram que vacas Nelore doadoras intensivamente utilizadas apresentam alta prevalência de doença cística ovariana crônica, frequentemente com múltiplos cistos em ambos os ovários e associada à mucometra, resultando em comprometimento da fertilidade e maior dificuldade de resposta aos tratamentos convencionais (Viana et al., 2010;



Faria et al., 2019). Esses quadros podem se tornar refratários a protocolos hormonais clássicos, levando até ao descarte precoce de doadoras de alto valor.

Diante dessa complexidade, o manejo de cistos não convencionais exige protocolos individualizados, considerando a história reprodutiva, estado metabólico, escore corporal e intensidade do manejo hormonal anterior. Estratégias de monitoramento ultrassonográfico frequente, ajustes nos protocolos de superovulação ou sincronização e acompanhamento clínico rigoroso são fundamentais para minimizar impactos prolongados sobre a função ovariana, restaurar a ciclicidade e otimizar a resposta reprodutiva mesmo em casos refratários.

### **3.1 Tratamentos alternativos para quadros não convencionais de cistos ovarianos**

A baixa resposta de vacas portadoras de cistos ovarianos crônicos aos protocolos hormonais convencionais tem estimulado o desenvolvimento de abordagens alternativas, especialmente em doadoras de oócitos de alto valor zootécnico. Nessas situações, em que a doença cística ovariana se apresenta de forma crônica ou refratária aos tratamentos convencionais, diferentes estratégias têm sido investigadas. Uma delas é a utilização experimental de agonistas e antagonistas de GnRH, que atuam sobre a hipófise promovendo a supressão temporária da liberação de FSH e LH. Esse bloqueio inibe o crescimento folicular e resulta em um “modelo waveless”, caracterizado pela ausência de ondas foliculares sucessivas (Jimenez-Krassel et al., 2018). Essa abordagem tem como objetivo interromper a dinâmica folicular alterada e restabelecer, posteriormente, um padrão normal de ciclicidade.

A imunização ativa contra o GnRH tem sido investigada como alternativa para o controle da dinâmica ovariana em vacas portadoras de doença cística crônica. Essa estratégia induz a formação de anticorpos contra o GnRH endógeno, reduzindo a secreção hipofisária de LH e FSH e, conseqüentemente, promovendo supressão temporária da atividade ovariana e diminuição das concentrações circulantes de esteroides (Balet et al., 2014). Embora estudos indiquem potencial para induzir regressão de cistos e restabelecer a função reprodutiva em vacas doadoras com histórico de doença cística (Viana et al., 2021), sua aplicação prática permanece restrita. Isso se deve à imprevisibilidade na duração do anestro induzido e à escassez de dados sobre efeitos de longo prazo, fatores que limitam o uso rotineiro dessa

abordagem e a reserva, principalmente, para animais de alto valor zootécnico ou em contextos experimentais.

Outra alternativa é o uso de agonistas de GnRH, como a deslorelina, que têm se mostrado eficazes na supressão sustentada do crescimento folicular. Em vacas Nelore cíclicas, implantes de liberação prolongada de deslorelina promoveram dessensibilização progressiva da hipófise ao GnRH, reduzindo a secreção de LH e FSH e restringindo o desenvolvimento folicular a estruturas pequenas (2–5 mm), sem progressão para dominância ou luteinização (Batista et al., 2016). Esse efeito permite criar um estado anovulatório estável, útil para investigar a dinâmica folicular e a resposta a estímulos hormonais adicionais, como FSH, em doadoras submetidas a múltiplas intervenções reprodutivas. No contexto de vacas com doença ovariana cística crônica, tal abordagem oferece uma ferramenta experimental inédita para avaliar o controle do crescimento folicular e a regressão de cistos, preenchendo lacunas ainda não relatadas na literatura. Esse efeito, até então não descrito na literatura em doadoras zebuínas, levantou a hipótese de que a utilização de implantes de deslorelina poderia ser explorada como ferramenta para o controle da atividade ovariana em animais submetidos a múltiplas intervenções reprodutivas. Assim, além de seu potencial prático, essa abordagem configura-se como modelo experimental promissor para investigar a dinâmica folicular sob condições de supressão controlada, oferecendo uma alternativa no manejo de quadros reprodutivos refratários.

Apesar da eficácia em vacas cíclicas (D'Occhio et al., 2002; Mattos et al., 2001), não haviam estudos específicos que observassem o efeito de implantes de deslorelina em vacas Nelore portadoras de doença ovariana cística crônica, nem se essa abordagem poderia induzir regressão de cistos e restaurar padrões de crescimento folicular. O problema abordado é justamente a falta de alternativas eficazes para controlar a atividade ovariana e reverter quadros de cistos crônicos nesses animais. Com base nisso, foi levantada a hipótese experimental de que implantes de deslorelina poderiam suprimir o crescimento folicular desordenado e favorecer a regressão de cistos, oferecendo uma ferramenta experimental inédita para manejo e estudo da dinâmica folicular sob condições de supressão controlada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balet L, Janett F, Hüsler J, Piechotta M, Howard R, Amatayakul-Chantler S, Steiner A, Hirsbrunner G. Immunization against gonadotropin-releasing hormone in dairy cattle: antibody titers, ovarian function, hormonal levels, and reversibility. *J Dairy Sci.* 2014;97(4):2193-203. doi: 10.3168/jds.2013-7602.
- Ball PJH, Peters AR. Reproductive problems. In: Ball PJH, Peters AR, editors. *Reproduction in cattle* 3rd ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2004. p. 172-5. doi:10.1002/9780470751091.ch12.
- Batista EOS, Vieira LM, Sá Filho MF, Dias EAR, Bayeux BM, Accorsi MF, Monteiro FM, Souza AH, Baruselli PS, D'Occhio MJ. Ovarian follicular growth suppression by long-term treatment with a GnRH agonist and impact on small follicle number, oocyte yield, and in vitro embryo production in Zebu beef cows. *Theriogenology.* 2016 Jun;85(9):1680-1687. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.01.023.
- Beam SW, Butler WR. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl.* 1999; 54:411–24.
- Brown JL, Schoenemann HM, Reeves JJ. Effect of FSH treatment on LH and FSH receptors in chronic cystic-ovarian-diseased dairy cows. *J Anim Sci.* 1986 Apr;62(4):1063–71. doi: 10.2527/jas1986.6241063x.
- Calder MD, Salfen BE, Bao B, Youngquist RS, Garverick HA. Administration of progesterone to cows with ovarian follicular cysts results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth. *J Anim Sci.* 1999 Nov;77(11):3037–42. doi: 10.2527/1999.77113037x.
- Cassida LE, McShan WH, Meyer RK. Effects of an unfractionated pituitary extract upon cystic ovaries and nymphomania in cows. *J Anim Sci.* 1944; 3:273–82.
- D'Occhio MJ, Fordyce G, Whyte TR, Jubb TF, Fitzpatrick LA, Cooper NJ, Aspden WJ, Bolam MJ, Trigg TE. Use of GnRH agonist implants for long-term suppression of fertility in extensively managed heifers and cows. *Anim Reprod Sci.* 2002 Dec 16;74(3-4):151-62. doi: 10.1016/s0378-4320(02)00189-6.

El-Zarkouny SZ, Shaaban MM, Stevenson JS. Blood metabolites and hormone-based programmed breeding treatments in anovular lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2011 Dec;94(12):6001–10. doi: 10.3168/jds.2011-4429.

Figueiredo RA, Barros CM, Pinheiro OL, Soler JM. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology.* 1997 Jun;47(8):1489-505. doi: 10.1016/s0093-691x(97)00156-8.

Garverick HA. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1997 May;80(5):995–1004. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76025-9.

Gilbert RO. Management of reproductive disease in dairy cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2016 Jul;32(2):387–410. doi: 10.1016/j.cvfa.2016.01.009.

Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil.* 1989 Sep;87(1):223-30. doi: 10.1530/jrf.0.0870223.

Ginther OJ, Bergfelt DR, Beg MA, Kot K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. *Biol Reprod.* 2001 Jan;64(1):197-205. doi: 10.1095/biolreprod64.1.197.

Ginther OJ, Beg MA, Donadeu FX, Bergfelt DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci.* 2003 Oct;78(3–4):239–57. doi: 10.1016/s0378-4320(03)00093-9.

Ghetti AM, Siqueira LG, Arashiro EK, Palhao MP, Brandao FZ, Viana JH. Characterization of blood flow and the effects of exogenous estradiol benzoate on residual follicles formed after ultrasound-guided transvaginal follicle aspiration in cattle. *J Anim Sci Biotechnol.* 2016 Oct 6;7:59. doi: 10.1186/s40104-016-0117-5.

Hatler TB, Hayes SH, Laranja da Fonseca LF, Silvia WJ. Relationship between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts. *Biol Reprod.* 2003 Jul;69(1):218–23. doi: 10.1095/biolreprod.102.012179.

Kesler DJ, Garverick HA, Elmore RG, Youngquist RS, Bierschwal CJ. Reproductive hormones associated with the ovarian cyst response to GnRH. *Theriogenology*. 1979 Aug;12(2):109-14. doi: 10.1016/0093-691x(79)90015-3.

Laporte HM, Hogeveen H, Schukken YH, Noordhuizen JPTM. Cystic ovarian disease in Dutch dairy cattle. I. Incidence, risk factors and consequences. *Livest Prod Sci*. 1994 Apr 30;38(3):191–7. doi: 10.1016/0301-6226(94)90170-8.

Lima FS, Acosta DAV, Egan TR, Skenandore C, Sulzberger S, French DD, Cardoso FC. Steroidogenic, Metabolic, and Immunological Markers in Dairy Cows Diagnosed With Cystic Ovarian Follicles at Early and Mid-Late Lactation. *Front Vet Sci*. 2019 Sep 26;6:324. doi: 10.3389/fvets.2019.00324.

López-Gatius F, Santolaria P, Yániz J, Fenech M, López-Béjar M. Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2002 Nov;58(8):1623–32. doi: 10.1016/s0093-691x(02)01046-4.

Lüttgenau J, Bollwein H. Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography. *Reprod Biol*. 2014 Apr;14(2):103–9. doi: 10.1016/j.repbio.2014.03.003.

Mattos R, Orlandi C, Williams J, Staples CR, Trigg T, Thatcher WW. Effect of an implant containing the GnRH agonist deslorelin on secretion of LH, ovarian activity and milk yield of postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 2001 Aug 1;56(3):371-86. doi: 10.1016/s0093-691x(01)00570-2.

Matsui M, Miyamoto A. Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: practical use for reproductive management in the cow. *Vet J*. 2009 Sep;181(3):232–40. doi: 10.1016/j.tvjl.2008.02.027.

Mimoune, N., R. Kaidi, M. H. Benaissa, M. W. Bahouh, R. Baazizi, and M. Y. Azzouz. “Metabolic Profile Comparison Between Follicular Fluid and Serum in Normal Cows and Those Affected by Ovarian Cysts.” *Macedonian Veterinary Review* 2019; 42(1):51–59. <https://doi.org/10.2478/macvetrev-2018-0030>.

Palhão MP, Paganini Filho W, Viana JHM, Guimarães CRB, Figueiredo ACS, Ludgero BFA, et al. Acurácia da ultrassonografia e da avaliação comportamental na determinação das características funcionais de estruturas ovarianas císticas. *Pesq Agropec Bras* [Internet]. 2014 Oct;49(10):823–827.

Peter AT. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. *Reprod Domest Anim*. 2004 Feb;39(1):1–7. doi: 10.1046/j.0936-6768.2003.00466.x.

Petyim S, Båge R, Forsberg M, Rodríguez-Martínez H, Larsson B. Effects of repeated follicular punctures on ovarian morphology and endocrine parameters in dairy heifers. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2001 Oct;48(8):449-63. doi: 10.1046/j.1439-0442.2001.00375.x.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology*. 1995 Nov;44(7):915-23. doi: 10.1016/0093-691x(95)00279-h.

Probo M, Comin A, Mollo A, Cairoli F, Stradaoli G, Veronesi MC. Reproductive performance of dairy cows with luteal or follicular ovarian cysts after treatment with buserelin. *Anim Reprod Sci*. 2011 Sep;127(3–4):135–9. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.07.019.

Roberge S, Brown JL, Reeves JJ. Elevated inhibin concentration in the follicular fluid of dairy cows with chronic cystic ovarian disease. *Theriogenology*. 1993 Oct;40(4):809–818. doi: 10.1016/0093-691X(93)90216-R.

Silvia WJ, Hatler TB, Nugent AM, Laranja da Fonseca LF. Ovarian follicular cysts in dairy cows: an abnormality in folliculogenesis. *Domest Anim Endocrinol*. 2002 Jul;23(1–2):167–77. doi: 10.1016/s0739-7240(02)00154-6.

Turner ZB, Lima FS, Conley AJ, McNabb BR, Rowe JD, Garzon A, Urbano TM, Morris CM, Pereira RV. Cystic ovarian disease in dairy cattle: Diagnostic accuracy when using B-mode and color Doppler ultrasound. *J Dairy Sci*. 2023 May;106(5):3411-3420. doi: 10.3168/jds.2022-22498.

Vanholder T, Opsomer G, de Kruif A. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reprod Nutr Dev*. 2006 Mar;46(2):105–19. doi: 10.1051/rnd:2006003.

Viana JH, Palhao MP, Siqueira LG, Fonseca JF, Camargo LS. Ovarian follicular dynamics, follicle deviation, and oocyte yield in Gyr breed (*Bos indicus*) cows undergoing repeated ovum pick-up. *Theriogenology*. 2010 Apr 15;73(7):966-72. doi: 10.1016/j.theriogenology.2009.11.025. Epub 2010 Jan 13.

Viana JHM, Pereira NES, Faria OAC, Dias LRO, Oliveira ER, Fernandes CAC, Siqueira LGB. Active immunization against GnRH as an alternative therapeutic approach for the management of *Bos indicus* oocyte donors diagnosed with chronic cystic ovarian disease. *Theriogenology*. 2021 Sep 15;172:133-141. doi: 10.1016/j.theriogenology.2021.06.014.

Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. 2002 Jan 1;57(1):21-52. doi: 10.1016/s0093-691x(01)00656-2.

## **CAPÍTULO 2**

### **EFEITO DA DESLORELINA NA SUPRESSÃO DO CRESCIMENTO FOLICULAR EM VACAS NELORE COM DOENÇA OVARIANA CÍSTICA CRÔNICA**



## RESUMO

A supressão da atividade folicular pode ser influenciada por diferentes protocolos hormonais, sendo a deslorelina uma opção promissora para o manejo reprodutivo de vacas Nelore. Este estudo avaliou a dinâmica folicular de vacas Nelore diagnosticadas com doença ovariana cística crônica (COD) tratadas com diferentes doses de implantes subcutâneos de deslorelina. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: controle (G0, n=4), grupo 1 (G1, n=4), grupo 2 (G2, n=4) e grupo 3 (G3, n=4), que receberam, respectivamente, nenhuma dose, 4,7 mg, 9,4 mg e 14 mg de deslorelina. A dinâmica ovariana foi monitorada semanalmente por ultrassonografia, avaliando o tamanho dos folículos, a contagem de folículos >8 mm e >12 mm, presença de tecido luteal e níveis de progesterona e AMH. Os resultados mostraram que, a partir da quarta semana, os grupos tratados apresentaram redução significativa no diâmetro do maior folículo em relação ao controle (G0:  $18,3 \pm 0,9$  mm vs. G1:  $11,2 \pm 0,8$  mm; G2:  $9,5 \pm 0,7$  mm; G3:  $7,8 \pm 0,6$  mm;  $P < 0,05$ ) bem como diminuição no número de folículos >12 mm (G2 e G3,  $P < 0,05$ ) e >8 mm (G2 e G3, a partir da sexta semana,  $P < 0,05$ ). Nos grupos G2 e G3, observou-se aumento significativo do tecido luteal nas semanas 1 e 2 ( $P < 0,05$ ) e elevação concomitante nos níveis de progesterona, sem alterações significativas em AMH. Esses achados indicam uma supressão folicular dose-dependente, com efeitos mais pronunciados nos grupos que receberam maior número de implantes, sugerindo que implantes de deslorelina podem ser uma alternativa terapêutica para controlar a atividade ovariana em vacas Nelore com COD e fornecer um modelo experimental para estudo da dinâmica folicular sob supressão controlada.

**Palavras-chave:** Desenvolvimento folicular; doadoras de oócitos; folículos anovulatórios; agonistas de GnRH; AMH; progesterona

## ABSTRACT

Follicular activity suppression can be influenced by different hormonal protocols, with deslorelin representing a promising option for reproductive management in Nelore cows. This study evaluated the follicular dynamics of Nelore cows diagnosed with chronic ovarian disease (COD) and treated with different doses of subcutaneous deslorelin implants. The animals were allocated into four experimental groups: control (G0, n=4), group 1 (G1, n=4), group 2 (G2, n=4), and group 3 (G3, n=4), which received, respectively, no dose, 4.7 mg, 9.4 mg, and 14 mg of deslorelin. Ovarian dynamics were monitored weekly via ultrasonography, assessing follicle size, the number of follicles >8 mm and >12 mm, presence of luteal tissue, and serum concentrations of progesterone and AMH. Results demonstrated that, starting from the fourth week, the treated groups exhibited a significant reduction in the diameter of the largest follicle compared with the control (G1:  $11.2 \pm 0.8$  mm; G2:  $9.5 \pm 0.7$  mm; G3:  $7.8 \pm 0.6$  mm vs. G0:  $18.3 \pm 0.9$  mm;  $P < 0.05$ ), as well as a decrease in the number of follicles >12 mm (G2 and G3,  $P < 0.05$ ) and >8 mm (G2 and G3, from the sixth week onward,  $P < 0.05$ ). In G2 and G3, a significant increase in luteal tissue was observed during weeks 1 and 2 ( $P < 0.05$ ), accompanied by a concomitant rise in progesterone levels, while AMH concentrations remained unchanged. These findings indicate a dose-dependent follicular suppression, with more pronounced effects in groups receiving higher numbers of implants. This suggests that deslorelin implants may represent a therapeutic alternative for controlling ovarian activity in Nelore cows with COD and may provide an experimental model for studying follicular dynamics under controlled suppression.

**Keywords:** Follicular development; oocyte donors; anovulatory follicles; GnRH agonists; AMH; progesterone

## 1. INTRODUÇÃO

As ondas foliculares têm seu crescimento controlado por gonadotrofinas e, caso a liberação de GnRH seja bloqueada, esse crescimento é inibido, levando o animal a um quadro de anestro induzido. A supressão de ondas foliculares tem sido utilizada como modelo de avaliação da fisiologia ovariana, permitindo estudos controlados sobre a ação de gonadotrofinas e o crescimento folicular (Pereira et al., 2021; Pereira et al., 2022) e também como alternativa terapêutica em casos crônicos de doença ovariana cística (COD) em doadoras de oócitos (Viana et al., 2023).

A imunização ativa contra GnRH foi inicialmente aplicada como método de imunocastração em machos (Doroteu et al., 2021), mas posteriormente passou a ser investigada como ferramenta para induzir anestro e suprimir ondas foliculares. A imunização ativa contra GnRH não é recomendada para animais destinados ao manejo reprodutivo regular, visto que a indução de elevados títulos de anticorpos anti-GnRH apresenta grande variabilidade individual quanto à magnitude e à persistência, podendo manter a supressão do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal por períodos indeterminados e comprometer a retomada previsível da atividade ovariana. Ainda assim, estudos recentes indicam que essa estratégia pode ser empregada como modelo experimental e, potencialmente, como alternativa terapêutica em vacas com COD, promovendo regressão dos cistos sem prejuízo à fisiologia ovariana (Balet et al., 2014; Viana et al., 2021).

Outra estratégia para a supressão de ondas foliculares em bovinos é o uso de agonistas de GnRH, como a deslorelina, que apresenta maior tempo de ação em relação ao GnRH natural, permitindo sua utilização em doses mais baixas e em protocolos de longa duração. Durante a fase inicial do tratamento, ocorre a liberação aguda de LH e FSH endógenos; a exposição contínua ao fármaco induz a fase crônica, marcada pelo bloqueio da secreção pulsátil de LH e pelo retorno das gonadotrofinas às concentrações basais. A aplicação de implantes contendo deslorelina promove a dessensibilização da hipófise, reduzindo a produção de LH e FSH, o que resulta na supressão do crescimento folicular em novilhas por períodos prolongados (Carvalho et al., 2002). Estruturalmente semelhantes ao hormônio natural, os agonistas de GnRH apresentam maior estabilidade e afinidade pelos receptores, garantindo ação duradoura. Essa estimulação contínua bloqueia gradualmente a liberação dos

hormônios gonadotróficos, reduzindo a produção de estradiol e progesterona (Goericke-Pesch, 2017). O uso de diferentes doses possibilita avaliar a resposta do eixo reprodutivo e identificar a quantidade mínima necessária para manter o efeito supressor folicular.

Diante disso, este estudo propõe avaliar o efeito de diferentes doses de deslorelina sobre a supressão do crescimento folicular, a regressão dos cistos ovarianos e as concentrações séricas de progesterona (P4) e hormônio anti-Mülleriano (AMH) em vacas Nelore previamente diagnosticadas com doença ovariana cística crônica (COD). A hipótese é que a administração subcutânea de implantes contendo deslorelina influêncie de forma dose-dependente o crescimento folicular e favorece a regressão dos cistos, refletindo em alterações nas concentrações de progesterona e o AMH. O objetivo deste trabalho foi avaliar a dinâmica folicular, a regressão cística e os perfis séricos de P4 e AMH em vacas Nelore com COD tratadas com diferentes doses de deslorelina.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local do experimento e animais utilizados**

O experimento foi realizado no Campo Experimental Assim Roberto de Bem (Fazenda Sucupira) e no Laboratório de Reprodução Animal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em Brasília, DF, entre outubro de 2023 e dezembro de 2024. Foram utilizadas 16 vacas da raça Nelore (*Bos indicus*), previamente avaliadas e diagnosticadas com doença ovariana cística (COD) crônica. A COD foi caracterizada pela presença de folículos císticos e múltiplos folículos de tamanho médio (>6 mm) ou grande (>8 mm), indicando alteração na atividade ovariana. Os animais apresentaram peso médio de  $642,3 \pm 56,5$  kg e foram mantidos a pasto (*Urochloa sp.*) durante todo o experimento, com acesso *ad libitum* a água e suplemento mineral.

Na semana inicial (semana 0), anterior à introdução dos implantes, os animais foram avaliados por ultrassonografia e exames laboratoriais para caracterização da condição ovariana e confirmação do diagnóstico de COD. Esses animais já faziam parte da rotina de monitoramento reprodutivo da fazenda, o que permitiu identificar previamente um histórico de persistência folicular compatível com a condição cística crônica. De forma geral, observou-se a presença de múltiplos folículos antrais e cistos de diferentes diâmetros,

associados à baixa concentração sérica de progesterona e ausência de corpo lúteo funcional, características condizentes com o quadro de doença ovariana cística crônica. Após a caracterização, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (G0 a G3), que apresentaram perfil semelhante no momento basal.

## 2.2 Delineamento experimental

Os animais foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos experimentais: grupo controle (G0, n = 4), sem tratamento, e grupos G1 (n = 4), G2 (n = 4) e G3 (n = 4), que receberam um, dois ou três implantes subcutâneos contendo 4,7 mg de deslorelina, totalizando doses de 0 mg, 4,7 mg, 9,4 mg e 14,1 mg nos grupos G0, G1, G2 e G3, respectivamente. Os animais foram submetidos a avaliações ovarianas e uterinas por ultrassonografia transretal e à coleta sanguínea imediatamente antes e semanalmente após a implantação dos tratamentos, durante 12 semanas (Réplica I), com o objetivo de caracterizar a resposta ovariana e endócrina às diferentes doses. Ao término desse período, os animais do grupo controle (G0, n = 4) foram redistribuídos aleatoriamente entre os grupos G0, G1, G2 e G3, passando a receber os respectivos tratamentos. Esses animais foram novamente avaliados conforme o protocolo previamente descrito, durante mais 12 semanas (Réplica II), a fim de ampliar a robustez experimental e otimizar o número total de observações. Os demais animais da Réplica I (G1, G2 e G3; n = 12) tiveram seus ovários monitorados mensalmente por ultrassonografia, ao longo de 14 meses, para determinação do momento de retorno do crescimento folicular.

## 2.3 Procedimentos experimentais

### 2.3.1 Monitoramento ultrassonográfico

A avaliação do status funcional dos ovários foi realizada por meio de monitoramento ultrassonográfico. Os exames foram conduzidos utilizando um aparelho portátil de ultrassom equipado com transdutor linear retal de 7,5 MHz (Mindray M6 Vet, Shenzhen, China). Cada animal era contido em tronco apropriado, procedia-se à remoção das fezes retais e o transdutor era introduzido e posicionado manualmente pelo operador avaliador. Durante o procedimento, os folículos eram inicialmente identificados e mensurados pelo mesmo. Em cada exame, um vídeo curto de aproximadamente 10 segundos, abrangendo todo o ovário, foi obtido para garantir a visualização completa das estruturas presentes; esses arquivos foram

então armazenados para posterior análise. Após a gravação, cada folículo foi mensurado individualmente utilizando as ferramentas do próprio equipamento. Adicionalmente, avaliava-se também a presença de conteúdo uterino ao longo do exame.

### 2.3.2 Bloqueio Ovariano

O bloqueio ovariano foi induzido nos grupos G1, G2 e G3 com implantes contendo 4,7mg de análogo sintético de GnRH (deslorelina, Suprelorin, Virbac, São Paulo, Brasil). Previamente a aplicação dos implantes, foi realizada a antissepsia da área onde o dispositivo seria introduzido. O implante foi administrado na região subcutânea da pele solta da região cervical anterior de cada animal, utilizando-se dispositivo de administração fornecido com o implante. Após a aplicação, foi realizada uma verificação para assegurar que o implante havia sido corretamente administrado e que o espaçador estava visível na extremidade da agulha.

### 2.3.3 Análises endócrinas

A coleta de sangue foi realizada pela punção da veia coccígea utilizando agulha dupla- via para coleta de sangue a vácuo calibre 21G (25x0,8mm) em tubo de coleta a vácuo com gel ativador de coágulo (5mL). Após a coleta, as amostras foram centrifugadas (Excelsa 2 Mod 206, BL, Fanem, São Paulo, Brasil) por 15 min a 3600 rpm. O plasma foi pipetado e as amostras separadas em microtubos tipo Eppendorf de 1,5 mL e congeladas a -20°C para posterior análise.

A dosagem de progesterona foi realizada por eletroquimioluminescência (ECL), utilizando o kit Elecsys Progesterone III e o equipamento Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha), no Laboratório de Endocrinologia da Embrapa Cenargen. O limite de detecção do kit é de 0,05 ng/mL e os coeficientes de variação intra e inter-ensaio foram de 2,1% e 1,5%, respectivamente. A concentração plasmática de AMH foi determinada por ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*), usando-se um kit comercial (AL114, AnshLabs, EUA). A absorbância foi determinada em leitora de microplacas Stat Fax modelo 2100 (Awareness Technology, Fisher Bioblock Scientific, FL, EUA) e os cálculos das concentrações foram feitos no software HIDA Soft. As análises foram realizadas no laboratório privado LEAC - Laboratório Especializado em Análises Científicas, em São

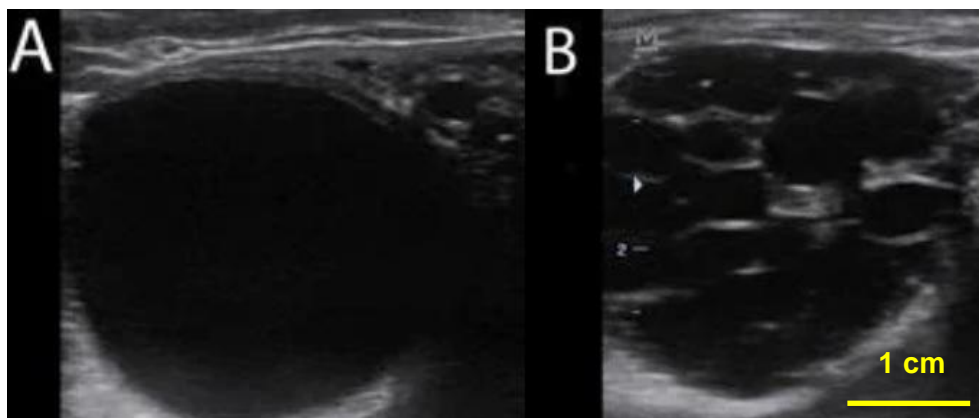
Paulo, Brasil. A sensibilidade nominal do Kit é de 11 pg/mL, e o coeficiente de variação intra-ensaio foi de 2,5%.

#### 2.3.4. Análises estatísticas

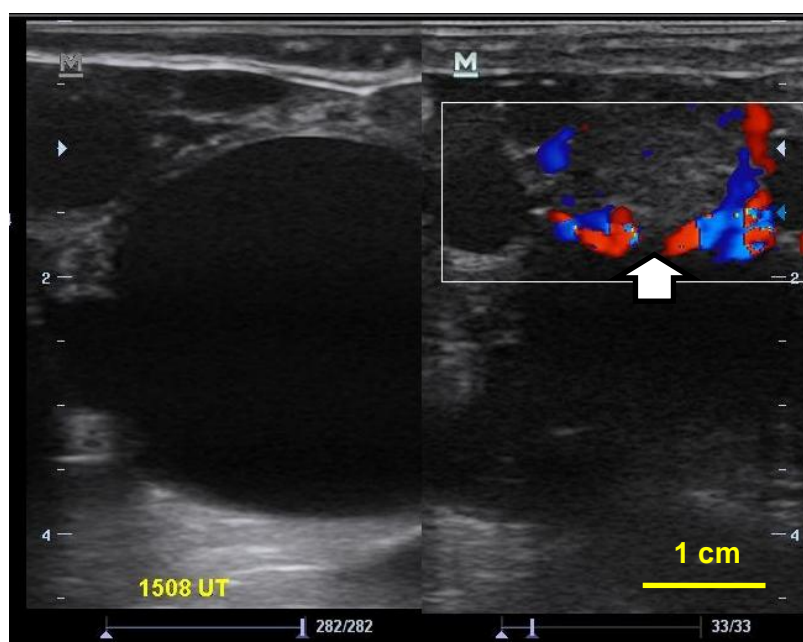
Todas as variáveis foram inicialmente testadas quanto ao tipo de distribuição, utilizando-se o Procedimento Univariate do software SAS (SAS Studio, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). As variáveis tamanho do maior folículo, número de folículos com diâmetro acima de 8 e de 12 mm, população folicular total (AFC), área de tecido luteal e concentração de progesterona (P4) foram analisadas utilizando o procedimento GLIMMIX do software SAS, ajustado para o tipo de distribuição de cada variável, e utilizando-se ajuste para medidas repetidas no tempo. O modelo estatístico incluiu os efeitos de tratamento, tempo (semana) e a interação tratamento x tempo. A concentração de AMH foi analisada considerando-se as diferenças entre tratamentos, momento (antes e ao final do período de avaliação) e interações. Associações entre variáveis foram analisadas utilizando-se o método das correlações de Pearson. As médias estão apresentadas como média  $\pm$  EPM. Valores de  $P < 0,05$  foram considerados como significativos.

### 3. RESULTADOS

O estudo avaliou a supressão folicular em vacas Nelores diagnosticadas com doença ovariana cística crônica (COD) e tratadas com diferentes doses de implantes de deslorelina. Antes do tratamento, todas as vacas apresentavam folículos de diâmetro compatível com a COD (maior folículo  $21,2 \pm 0,1$  mm), com média de  $2,6 \pm 0,4$  folículos maiores que 12 mm e  $4,9 \pm 0,9$  folículos maiores que 8 mm (Fig. 1 A-B), e a concentração sérica média de progesterona (P4) na semana 0 foi de  $0,65 \pm 0,94$  ng/mL, caracterizando a ausência de atividade luteal. Contudo, alguns animais do grupo controle apresentaram formação de tecido luteal durante o período experimental, mesmo na ausência de remissão espontânea da patologia.



**Figura 1 A-B.** Imagens ultrassonográficas ovarianas de vacas Nelore com doença ovariana cística (COD) crônica. (A) Cisto ovariano simples, com diâmetro >20 mm. (B) Presença de múltiplos folículos ovarianos de tamanho médio (6 a 8 mm).



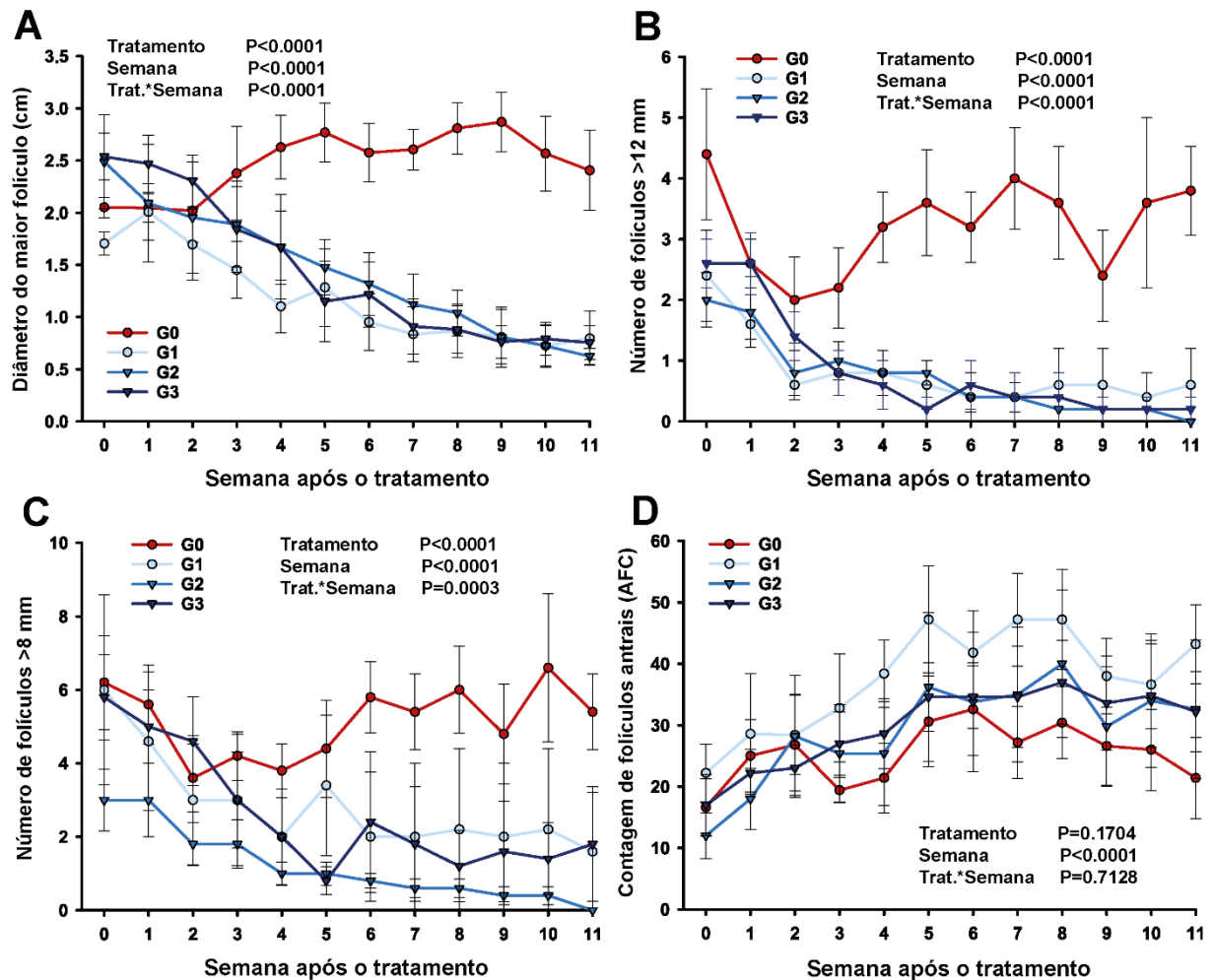
**Figura 2.** Imagem ultrassonográfica obtida durante o experimento, evidenciando a presença de tecido luteal concomitante a presença de cisto folicular em vaca Nelore diagnosticada com doença ovariana cística crônica, e pertencente ao grupo controle (não tratada com deslorelina).

### 3.1 Diâmetro Folicular

Observou-se efeito de tratamento, tempo, e interação tratamento tempo ( $P < 0,001$ ) para todas as variáveis associadas ao tamanho folicular. O diâmetro do maior folículo apresentou variação significativa entre os grupos ao longo do tempo ( $P < 0,0001$ ). No grupo controle (G0), o maior folículo presente manteve diâmetro médio superior a 20 mm durante todo o período



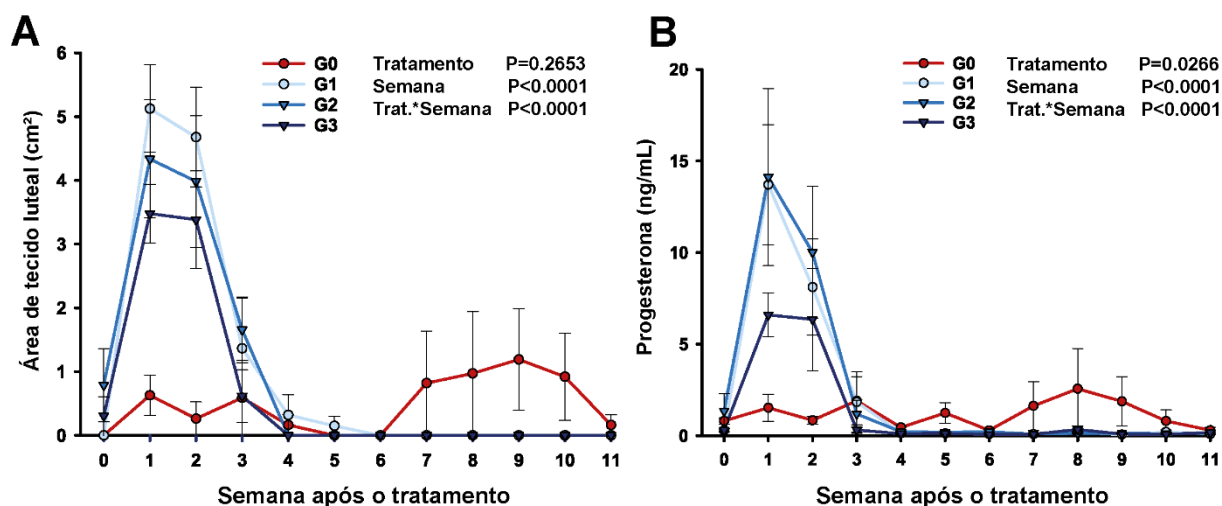
de observação, enquanto nos grupos tratados houve uma redução progressiva, atingindo diferença ( $P<0,05$ ) em relação ao controle a partir da quarta semana pós-tratamento (Fig. 4A). Resultado semelhante foi observado considerando-se o número de folículos maiores que 12 mm, com queda progressiva nos grupos G1, G2 e G3 ao longo das semanas ( $P<0,0001$ ), enquanto no grupo controle houve persistência de folículos com esse diâmetro (Fig. 4B). O número de folículos maiores que 8 mm também seguiu esse padrão ( $P<0,0001$ ; Fig. 4C).



**Figura 3 A-D.** Parâmetros foliculares em animais da raça Nelore tratados com diferentes concentrações de deslorelina. (A) Diâmetro do maior folículo; (B) Número de folículos >12 mm; (C) Número de folículos >8 mm; (D) Contagem de folículos antrais; Área de tecido luteal (E,  $\text{cm}^2$ ); Concentração de progesterona (F,  $\text{ng/mL}$ ). (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).

### 3.2 Tecido Luteal e Progesterona

A área de tecido luteal e a concentração circulante de P4 apresentaram variação significativa ao longo do período experimental ( $P < 0,0001$ ), refletindo tanto a formação de tecido luteal subsequente ao tratamento com deslorelina nos grupos tratados quanto luteinização espontânea no grupo controle (Fig. 4A e 5B). Os grupos tratados (G1 a G3) apresentaram aumento similar na área de tecido luteal e consequente elevação da P4 entre as semanas 2 e 3, indicando luteinização dos folículos císticos presentes, seguido de ausência tanto de tecido luteal quanto de quantidades significativas de P4 a partir da 5ª semana após o tratamento. O grupo controle (G0), por outro lado, apresentou flutuações ocasionais na área de tecido luteal e concentração de P4 durante todo o experimento. Após a regressão do tecido luteal formado entre as semanas 2 e 3, não foram observados novos episódios de luteinização nos grupos tratados, indicando ausência de retomada da atividade ovariana cíclica. Esse padrão é compatível com a supressão do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal induzida pela deslorelina, que impede o desenvolvimento folicular funcional, a ocorrência do pico de LH e, consequentemente, a formação de novos corpos lúteos.

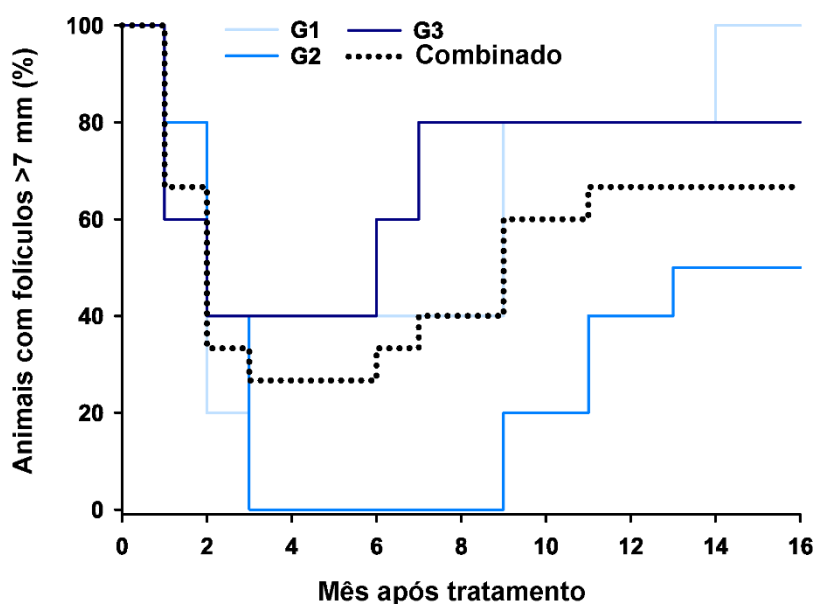


**Figura 4 A-B.** Parâmetros luteais em animais da raça Nelore tratados com diferentes concentrações de deslorelina. (A) Área de tecido luteal (cm²); (B) Concentração de progesterona (ng/mL). (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).

### 3.3 Crescimento Folicular após o tratamento

Nos primeiros meses após a aplicação dos implantes, a proporção de animais apresentando folículos >7 mm apresentou redução marcante em todos os grupos tratados, indicando efeito supressivo prolongado sobre a atividade folicular. Esse padrão reflete a capacidade do tratamento em inibir temporariamente o crescimento folicular, embora parte da variação observada ao longo das semanas possa ser atribuída a diferenças individuais entre os animais.

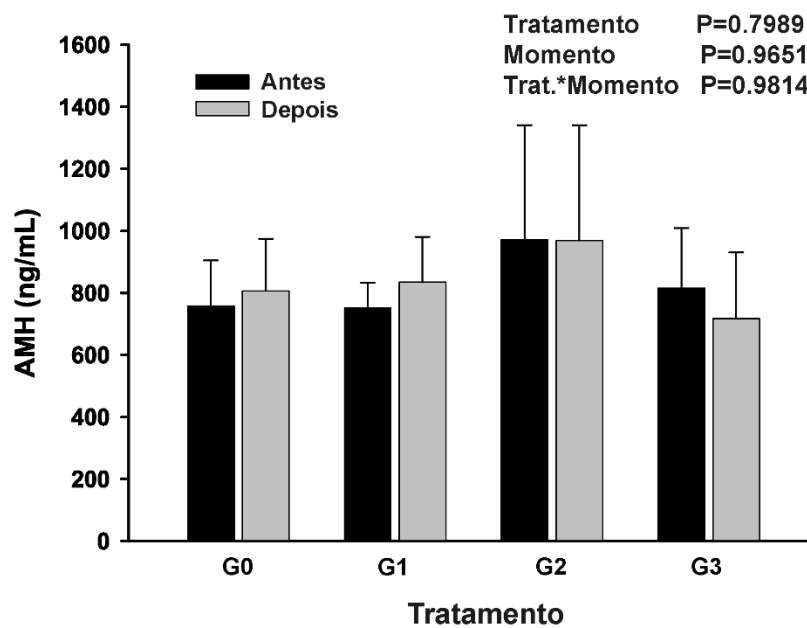
A partir do 12<sup>a</sup> mês, foi observada uma recuperação gradual da presença de folículos >7 mm, evidenciando reativação lenta da atividade ovariana. A análise da média combinada dos grupos mostrou que, apesar do bloqueio inicial, o crescimento folicular foi progressivamente restabelecido ao longo das semanas subsequentes, com tendência de estabilização em níveis compatíveis com a atividade basal anterior ao tratamento (Fig. 5). Esses achados indicam que o efeito supressivo dos implantes de deslorelina é prolongado, retardando a retomada da atividade folicular, mas permitindo eventual reativação funcional nos meses posteriores.



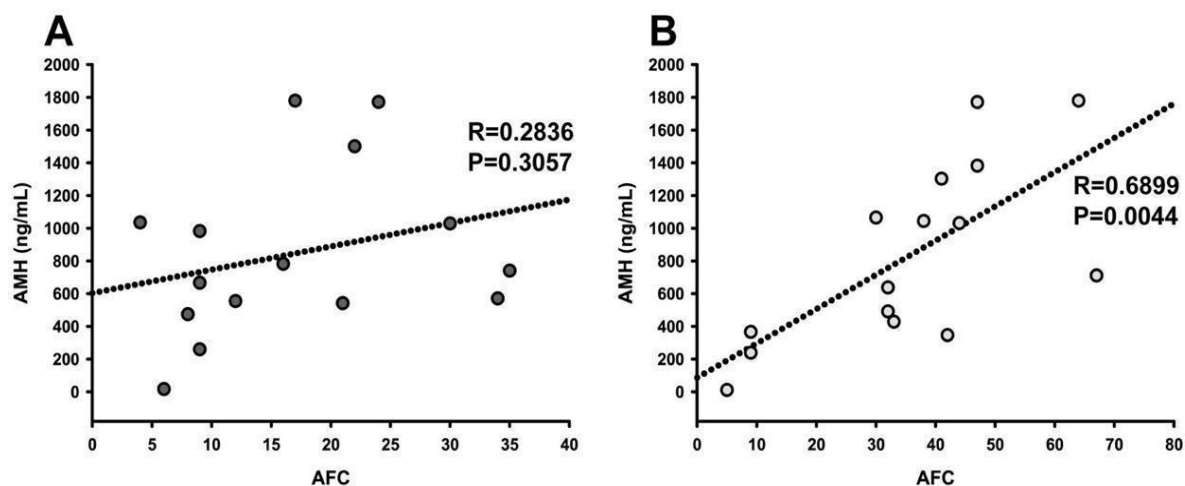
**Figura 5.** Percentual de em vacas Nelore com diagnóstico prévio de doença ovariana cística crônica e tratamento com diferentes concentrações de deslorelina apresentando folículos >7 mm ao longo dos meses após o tratamento (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).

### 3.4 Dosagem de hormônio Anti-Mülleriano (AMH) e Contagem de Folículos Antrais (AFC)

Não se observou efeito de tratamento nem interação tratamento x tempo na AFC ( $P>0,05$ ; Fig. 3D). Coerentemente, os níveis de AMH também não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os grupos antes ou após o tratamento, sugerindo que o tratamento com deslorelina não alterou a mobilização da reserva folicular das vacas (Fig. 6). Entretanto, a correlação entre AMH e AFC foi fraca e não significativa antes ( $R = 0,2836$ ;  $P = 0,3057$ ), mas positiva moderada e significativa ao fim do período experimental ( $R = 0,6899$ ;  $P = 0,0044$ ), considerando-se apenas os animais dos G1, G2 e G3 (Fig. 8A e 8B).



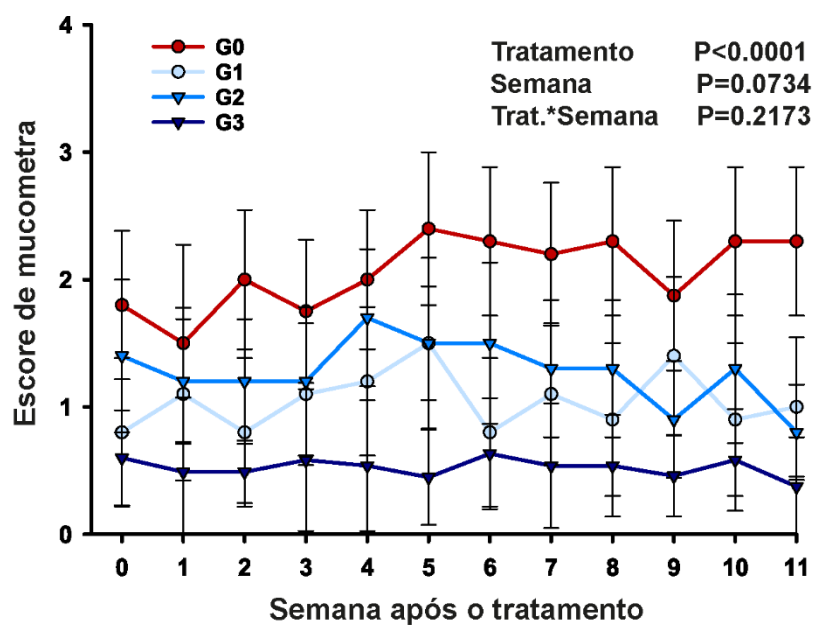
**Figura 6.** Concentrações médias de AMH em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica antes (barras em negro) e 12 semanas após (barras em cinza) tratamento com implantes de deslorelina (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).



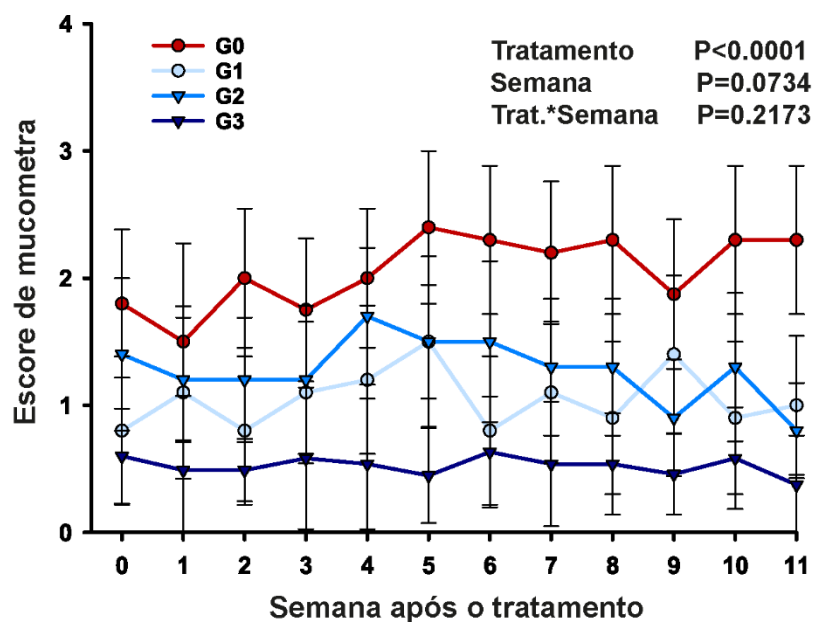
**Figura 7 A-B.** Correlação entre a contagem de folículos antrais (AFC) e as concentrações séricas de hormônio anti-Mülleriano (AMH) em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica antes (A) ou 12 semanas após (B) tratamento com implantes de deslorelina.

### 3.5 Avaliação da mucometra

A mucometra, definida como acúmulo de conteúdo mucoso intrauterino sem sinais clínicos de piometra, foi monitorada ao longo do estudo nos quatro grupos experimentais (Fig. 9). Os animais apresentavam graus variáveis de mucometra antes do início do protocolo experimental. Como essa variável não foi incluída no balanceamento dos grupos, observou-se um efeito significativo de grupo ( $P < 0,0001$ ). Esse resultado indica que, já no momento basal, os grupos apresentaram distribuição diferente de escores de mucometra, o que sugere que alguns grupos iniciaram o protocolo com maior acúmulo de muco uterino do que outros. De acordo com a análise, o grupo G0 apresentou os maiores escores médios de mucometra ao longo de todo o período experimental, apesar da ausência de efeito de tempo ( $P = 0,0734$ ) e da não observação de interação tratamento  $\times$  tempo ( $P = 0,2173$ ). Assim, a diferença estatística observada se relaciona principalmente a essa desigualdade inicial entre os grupos, e não a uma resposta ao tratamento. Esse achado reforça a importância do balanceamento prévio dessa variável em estudos que envolvem avaliação uterina, uma vez que diferenças pré-existentes podem influenciar a interpretação dos resultados ao longo do experimento.



**Figura 8.** Escore subjetivo de mucometra em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica tratadas com diferentes concentrações de deslorelina (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).



**Figura 9.** Escore subjetivo de mucometra em vacas Nelore com doença ovariana cística crônica tratadas com diferentes concentrações de deslorelina (G0 = controle, 0 mg; G1 = 4,7 mg; G2 = 9,4 mg; G3 = 14,1 mg).

#### 4.DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o efeito da administração de implantes de deslorelina, um agonista de GnRH, sobre a atividade ovariana e uterina em vacas Nelore acometidas por doença ovariana cística crônica (COD). A hipótese central foi que a aplicação subcutânea de implantes contendo deslorelina promoveria uma supressão dose-dependente da atividade ovariana, resultando na interrupção do crescimento folicular e na regressão dos cistos, sem prejuízo à reserva ovariana. Os resultados demonstraram que todos os grupos tratados (4,7 mg, 9,4 mg e 14,1 mg de deslorelina) apresentaram redução progressiva do diâmetro dos folículos médios e grandes, além de luteinização dos cistos, sem alterações detectáveis na população de folículos pequenos ou em indicadores de mobilização da reserva ovariana basal.

A maior parte dos parâmetros avaliados, incluindo o diâmetro do maior folículo, o número de folículos maiores que 12 mm, o número de folículos maiores que 8 mm, a contagem de folículos antrais, a área de tecido luteal, a concentração plasmática de progesterona, o crescimento folicular após o tratamento, a dosagem de hormônio Anti-Mülleriano e os parâmetros uterinos, não apresentou diferenças significativas entre as doses testadas. Esses resultados indicam que o efeito supressor do implante foi semelhante em todas as concentrações avaliadas, sugerindo que o limiar farmacológico necessário para desencadear a resposta ovariana já havia sido atingido pela menor dose. Assim, do ponto de vista prático e clínico, os achados sugerem que a menor dose estudada pode ser suficiente para promover a resposta desejada, sem a necessidade de aumento da quantidade de deslorelina administrada.

Estudos prévios corroboram que agonistas de GnRH podem induzir regulação negativa dos receptores hipofisários e dessensibilização da hipófise, resultando em supressão do crescimento folicular e redução da liberação pulsátil de LH (D'Occhio et al., 2000; Silvestre et al., 2009). Além disso, em um estudo conduzido por Mattos et al. (2001), vacas que receberam implantes degradáveis menores de deslorelina (2,1 mg) no 7º dia pós-parto responderam adequadamente a protocolos de sincronização do estro, com ovulações ocorrendo aos 69 dias pós-parto, sem induzir anovulação prolongada. No presente estudo, a menor dose utilizada (4,7 mg) correspondeu à menor dose disponível comercialmente no produto empregado, o que reforça que, mesmo dentro dos limites mínimos de dose oferecidos pelo fabricante, foi possível observar plena supressão folicular e luteinização dos cistos. Esses achados, em conjunto com a literatura, indicam que, em bovinos Nelore com COD, implantes

de deslorelina podem alcançar efeito máximo mesmo em doses mais baixas, promovendo a supressão do crescimento folicular e a regressão de cistos sem comprometimento da função ou da reserva ovariana.

A escolha da deslorelina como ferramenta para o manejo da COD justifica-se pelo seu efeito central sobre o eixo hipotálamo–hipófise–ovário, promovendo a supressão pulsátil de LH e FSH e, conseqüentemente, bloqueando o crescimento folicular patológico e favorecendo a regressão dos cistos ovarianos preexistentes (Maclellan et al., 1997; Brito & Palmer, 2004). Viana et al. (2021) demonstraram que a supressão da atividade folicular por imunização contra GnRH é eficaz na indução de regressão de cistos ovarianos em vacas Nelore com COD, evidenciando a importância desse efeito hipofisário central no controle da patologia. O efeito inicial transitório de aumento hormonal (*flare-up*) observado após a administração do agonista de GnRH contribui para a luteinização dos cistos existentes, atuando como parte do mecanismo que promove a formação de tecido luteal nos folículos císticos.

Para caracterização do estágio do crescimento folicular, os folículos foram classificados em pequenos ( $\leq 8$  mm) e grandes ( $\geq 12$  mm), adotando critérios previamente descritos para a raça Nelore. Essa escolha é baseada em evidências de que, em *Bos indicus*, os folículos dominantes e ovulatórios apresentam diâmetros naturalmente menores do que em *Bos taurus*, com ovulações ocorrendo com folículos tipicamente entre 8,5 e 12 mm, enquanto apenas uma pequena fração de folículos  $< 8$  mm responde à indução hormonal (Gimenes et al., 2005a; Figueiredo et al., 1997; Ginther et al., 1989). Portanto, o uso dos pontos de corte  $\leq 8$  mm e  $\geq 12$  mm permite avaliar, de forma confiável, a dinâmica folicular em vacas Nelore, distinguindo folículos que ainda estão em fase inicial de desenvolvimento daqueles com maior potencial de dominância ou cistos, sem atribuir diretamente a capacidade ovulatória aos folículos menores. Além disso, essa abordagem considera a menor dimensão do corpo lúteo e a menor concentração de progesterona em zebuínos, fatores que influenciam a fisiologia folicular e ovulatória específica da raça.

Nos grupos G1, G2 e G3, a redução no diâmetro do maior folículo ocorreu de forma progressiva a partir da quarta semana, reforçando o caráter tempo-dependente do efeito da deslorelina na supressão folicular. Esse achado é coerente com relatos de que o tratamento prolongado com agonistas de GnRH inibe a secreção pulsátil de LH e FSH, interrompendo a



seleção folicular e bloqueando o desenvolvimento de folículos dominantes (D’Occhio et al., 2002).

Além da redução do diâmetro do maior folículo, observou-se uma diminuição significativa no número de folículos com diâmetro superior a 8 mm e 12 mm nos grupos tratados. Tal achado está em consonância com estudos que utilizaram agonistas de GnRH para promover a supressão ovariana em vacas Nelore, demonstrando a redução expressiva de folículos grandes (Batista et al., 2016). Nesse contexto, a deslorelina mostra potencial de aplicação no manejo da COD, uma vez que promoveu supressão ovariana consistente nos diferentes grupos avaliados, sendo a redução de folículos acima de 12 mm mais evidente a partir da quarta semana de tratamento.

A presença de tecido luteal nos grupos tratados constitui outro achado relevante, sugerindo a luteinização dos cistos ovarianos. Sabe-se que os cistos luteais podem sofrer luteinização das células da teca e da granulosa, passando a secretar progesterona (Brito & Palmer, 2004). Nesse caso, esse efeito pode ser atribuído ao mecanismo esperado dos agonistas de GnRH na fase inicial do tratamento, também chamada fase aguda, que pode perdurar por alguns dias (Maclellan et al., 1997). Durante essa fase, ocorre um aumento transitório na secreção de LH e FSH, explicando a formação de tecido luteal observada no início do protocolo, fenômeno conhecido como *flare-up*, caracterizado pelo estímulo inicial sobre a hipófise e a consequente luteinização de folículos císticos preexistentes. Esse efeito pode ter contribuído para alterações hormonais transitórias, que, por sua vez, influenciam aspectos uterinos como o acúmulo de muco intrauterino.

Antes do início do protocolo, os animais apresentavam graus variados de acúmulo de conteúdo mucoso intrauterino, resultando em escores médios distintos entre os grupos na linha de base. Ao longo do estudo, a avaliação da mucometra permitiu monitorar alterações nesses escores, refletindo o efeito do tratamento sobre o acúmulo de muco intrauterino. Durante o período experimental, embora algumas diferenças significativas tenham sido observadas em momentos específicos entre os grupos, não foi identificado um padrão consistente de redução da mucometra associado ao tratamento com deslorelina. O grupo controle (G0) manteve escores médios relativamente estáveis, enquanto os grupos tratados (G1, G2 e G3) apresentaram oscilações pontuais, sem evidência de efeito cumulativo das

doses administradas. Esses achados indicam que as variações observadas não podem ser atribuídas de forma direta à ação do implante de deslorelina sobre a mucometra.

Na análise realizada, a manutenção de concentrações plasmáticas predominantemente reduzidas de progesterona ( $<1,5$  ng/mL) nos animais do grupo controle, associada aos altos escores de mucometra, sugere que a ausência de estímulo luteal contribui para a persistência do quadro. Nos grupos tratados, embora tenha ocorrido aumento consistente da progesterona devido à luteinização de cistos ovarianos, esse incremento hormonal não foi suficiente para promover regressão completa do conteúdo uterino. Apesar de alguns animais apresentarem aumentos transitórios de progesterona, a atividade luteal insuficiente parece não ter sido suficiente para promover regressão completa do conteúdo uterino. Dessa forma, mesmo quando o controle da atividade ovariana cística é alcançado, o comprometimento uterino permanece como desafio clínico relevante em doadoras cronicamente afetadas, ressaltando a importância do acompanhamento ultrassonográfico para monitorar a evolução uterina e orientar o manejo reprodutivo.

A ausência de diferença significativa nos níveis do hormônio anti-Mülleriano entre os grupos sugere que o tratamento com deslorelina não alterou, de forma detectável, o número de folículos recrutados da reserva folicular. O AMH, secretado por folículos em crescimento, é um marcador amplamente reconhecido da reserva ovariana e correlaciona-se positivamente com a contagem de folículos antrais (Rico et al., 2008; Cardoso et al., 2018).

A correlação entre a contagem de folículos antrais e as concentrações séricas de AMH apresentou comportamento diferenciado ao longo do experimento. No momento inicial, não foi detectada correlação significativa ( $R = 0,2836$ ;  $P = 0,3057$ ), possivelmente em decorrência da interferência de cistos ovarianos de grande diâmetro na acurácia ultrassonográfica da AFC, dificultando a detecção de folículos menores. Com a regressão dos cistos após a administração de deslorelina, houve melhoria na visualização ultrassonográfica dos folículos antrais, refletida na correlação positiva e estatisticamente significativa subsequente ( $R = 0,6899$ ;  $P = 0,0044$ ), corroborando a relação fisiológica esperada entre AMH e população folicular. Não foram observadas diferenças significativas nos níveis séricos de AMH nem na AFC entre os grupos experimentais (Figura 1D), indicando que a intervenção não comprometeu a função folicular basal em vacas Nelore com COD. Entretanto, a AFC

apresentou variação temporal significativa ( $P < 0,0001$ ), evidenciando a dinâmica fisiológica contínua da população de folículos antrais independente do tratamento.

No presente estudo, a correlação positiva e significativa entre AMH e AFC observada após o tratamento indica que a deslorelina promoveu alterações na dinâmica folicular sem alterar os níveis de AMH, sugerindo que a função folicular não foi comprometida durante o período avaliado. Essa interpretação está alinhada com a literatura, na qual Batista et al. (2016) observaram aumento na população de pequenos folículos ( $<6$  mm) após uso prolongado de agonista de GnRH, embora esse efeito não tenha sido avaliado diretamente neste estudo. De forma semelhante, D'Occhio et al. (2002) destacam que o tratamento com agonistas de GnRH restringe o crescimento folicular antral, sem interferir na população total.

Em síntese, os resultados deste estudo demonstram que o implante de deslorelina é eficaz na regressão de cistos ovarianos em vacas Nelore acometidas por COD crônica, atingindo o principal objetivo proposto. A resposta ovariana induzida pelo agonista ocorreu de forma gradual, com efeitos mais evidentes a partir da quarta semana de tratamento, resultando em luteinização dos cistos e redução consistente dos folículos médios e grandes. Embora alguns animais tenham apresentado cistos persistentes e retomada gradual da atividade folicular, principalmente devido a variações individuais, o tratamento mostrou-se funcional e capaz de restabelecer padrões ovarianos mais próximos da normalidade na maior parte dos casos. A resolução completa do comprometimento uterino e a recuperação integral da função ovariana podem não ser alcançadas em todas as situações, o que reflete a natureza crônica da enfermidade. Ainda assim, os resultados obtidos reforçam o potencial da deslorelina como ferramenta viável para o manejo reprodutivo de fêmeas com COD, contribuindo para melhorar o desempenho e a longevidade produtiva de doadoras acometidas por essa condição.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O uso de implantes de deslorelina em vacas Nelore com COD crônica demonstrou capacidade consistente de suprimir o crescimento folicular, promovendo luteinização dos cistos e redução de folículos médios e grandes, em concordância com o efeito inicial de estimulação seguido de dessensibilização hipofisária característico dos agonistas de GnRH. A ausência de efeitos negativos sobre a população de folículos pequenos e os valores de AMH reforça que o tratamento não comprometeu a função folicular basal, mesmo em animais

cronicamente acometidos. Apesar disso, a resposta uterina mostrou-se mais variável, e a mucometra se manteve como condição persistente em parte dos animais, indicando que a resolução plena do comprometimento uterino exige abordagens complementares.

De forma integrada, os achados deste estudo evidenciam que a deslorelina representa uma ferramenta eficaz e segura para o manejo da COD em vacas Nelore, contribuindo para restaurar padrões ovarianos mais próximos da normalidade, com potencial de aplicação em diferentes sistemas de produção. Além disso, os resultados geram subsídios relevantes para o aprimoramento de protocolos clínicos e para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas voltadas ao manejo de doenças ovarianas crônicas em bovinos.

## 7. REFERÊNCIAS

- Balet L, Janett F, Hüsler J, Piechotta M, Howard R, Amatayakul-Chantler S, Steiner A, Hirsbrunner G. Immunization against gonadotropin-releasing hormone in dairy cattle: antibody titers, ovarian function, hormonal levels, and reversibility. *J Dairy Sci.* 2014;97(4):2193-203. doi: 10.3168/jds.2013-7602.
- Batista EOS, Vieira LM, Sá Filho MF, Dias EAR, Bayeux BM, Accorsi MF, Monteiro FM, Souza AH, Baruselli PS, D'Occhio MJ. Ovarian follicular growth suppression by long-term treatment with a GnRH agonist and impact on small follicle number, oocyte yield, and in vitro embryo production in Zebu beef cows. *Theriogenology.* 2016 Jun;85(9):1680-1687. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.01.023.
- Brito LFC, Palmer CW. Cystic ovarian disease in cattle. *Large Anim Vet Rounds.* 2004;4(10):1–6.
- Carbonari A, Martino NA, Burgio M, Cicirelli V, Frattina L, Dell'Aquila ME, Rizzo A. New Insights in Bovine Follicular Cysts. *Reprod Domest Anim.* 2025 Mar;60(3):e70048. doi: 10.1111/rda.70048.
- Cardoso CJT, de Oliveira JS, Kischel H, da Silva WAL, Arruda EDDS, Souza-Cáceres MB, de Oliveira FAM, Nogueira É, Nogueira GP, Melo-Sterza FA. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictor of antral follicle population in heifers. *Anim Reprod.* 2018 Aug 16;15(1):12-16. doi: 10.21451/1984-3143-2017-AR887.
- Carvalho NA, Baruselli PS, Zicarelli L, Madureira EH, Visintin JA, D'Occhio MJ. Control of ovulation with a GnRH agonist after superstimulation of follicular growth in buffalo: fertilization and embryo recovery. *Theriogenology.* 2002 Dec;58(9):1641-50. doi: 10.1016/s0093-691x (02)01057-9.
- D'Occhio MJ, Fordyce G, Whyte TR, Jubb TF, Fitzpatrick LA, Cooper NJ, Aspden WJ, Bolam MJ, Trigg TE. Use of GnRH agonist implants for long-term suppression of fertility in extensively managed heifers and cows. *Anim Reprod Sci.* 2002 Dec 16;74(3-4):151-62. doi: 10.1016/s0378-4320(02)00189-6.

Doroteu EM, Viana JHM, Ferreira Junior JA, Macedo JTA, Oliveira RA, Pedroso PMO. Effect of a single or two doses of an anti-GnRH vaccine on testicle morpho-functional characteristics in Nelore bulls. *Trop Anim Health Prod.* 2021 Feb 6;53(1):153. doi: 10.1007/s11250-021-02600-x.

Ginther OJ, Beg MA, Donadeu FX, Bergfelt DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Anim Reprod Sci.* 2003 Oct 15;78(3-4):239-57. doi: 10.1016/s0378-4320(03)00093-9.

Goericke-Pesch S. Long-term effects of GnRH agonists on fertility and behaviour. *Reprod Domest Anim.* 2017 Apr;52 Suppl 2:336-347. doi: 10.1111/rda.12898. Epub 2016 Dec 27.

Hafez, E. S. E.; Jainudeen, M. R; Rosnina, Y. Hormônios, Fatores de Crescimento e Reprodução. In: *Reprodução Animal*, editora Manole, 7.ed., 2004, p.33.

Herbert CA, Trigg TE. Applications of GnRH in the control and management of fertility in female animals. *Anim Reprod Sci.* 2005 Aug;88(1-2):141-53. doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.05.007.

Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci.* 1992 Nov;70(11):3615-26. doi: 10.2527/1992.70113615x.

Maclellan LJ, Bergfeld EGM, Earl CR, Fitzpatrick LA, Aspden WJ, Kinder JE, Walsh J, Trigg TE, D'Occhio MJ. Influence of the luteinizing hormone-releasing hormone agonist, deslorelin, on patterns of estradiol-17 $\beta$  and luteinizing hormone secretion, ovarian follicular responses to superstimulation with follicle-stimulating hormone, and recovery and in vitro development of oocytes in heifer calves. *Biol Reprod.* 1997; 56:878–884.

Mattos R, Orlandi C, Williams J, Staples CR, Trigg T, Thatcher WW. Effect of an implant containing the GnRH agonist deslorelin on secretion of LH, ovarian activity and milk yield of postpartum dairy cows. *Theriogenology.* 2001 Aug 1;56(3):371-86. doi: 10.1016/s0093-691x(01)00570-2.

Pereira NES, Martins LP, Moura RM, Dias LRO, Peixer MAS, Viana JHM. Response to folliclestimulating hormone superstimulation in heifers with ovarian activity suppressed by

active immunization against gonadotrophin-releasing hormone. *Reprod Fertil Develop*, v.33, p.149-150, 2021.

Pereira NES, Martins LP, Moura RM, Dias LRO, Peixer MAS, Viana JHM. Effect of LH contamination in commercial formulations on FSH-induced follicle growth in heifers immunised against gonadotrophin-releasing hormone. *Reprod Fertil Develop*, v.34, p.286-287, 2022.

Rico C, Fabre S, Médigue C, di Clemente N, Clément F, Bontoux M, Touzé JL, Dupont M, Briant E, Rémy B, Beckers JF, Monniaux D. Anti-mullerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod*. 2009 Jan;80(1):50-9. doi: 10.1095/biolreprod.108.072157.

Silvestre FT, Bartolome JA, Kamimura S, Arteché AC, Pancarci SM, Trigg T, Thatcher WW. Postpartum suppression of ovarian activity with a Deslorelin implant enhanced uterine involution in lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 2009 Jan;110(1-2):79-95. doi: 10.1016/j.anireprosci.2007.12.015.

Viana JHM, Pereira NES, Faria OAC, Dias LRO, Oliveira ER, Fernandes CAC, Siqueira LGB. Active immunization against GnRH as an alternative therapeutic approach for the management of *Bos indicus* oocyte donors diagnosed with chronic cystic ovarian disease. *Theriogenology*. 2021 Sep 15;172:133-141. Doi: 10.101/j.theriogenology.2021.06.014.

Viana JHM, Faria O, Pereira NES, Moura RMD, Paganini Filho W, Neri HLDH. The waveless model: clinical and research applications of follicular wave suppression in cattle. *Rev Bras Reprod Anim*. 2023;47(2):76-80. doi:10.21451/1809-3000.RBRA2023.007.

## ANEXOS

### 1. Certificado de aprovação pelo Comitê de Ética

	<b>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia</b> <b>Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA/Cenargen)</b> 
<b>CERTIFICADO</b> <b>002/2023</b>	

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação de estratégias para a supressão de ondas foliculares em bovinos pelo uso de agonista de GnRH", registrada com o número Protocolo CEUA Nº 002/2023, sob a responsabilidade de João Henrique Moreira Viana, que envolve manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA (CEUA/CENARGEN) em reunião ordinária realizada em 10 de outubro de 2023.

Finalidade	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	15/10/2023 a 15/10/2025
Espécie/linhagem/raça	bovino
Nº de animais	36
Peso/Idade	450 kg / 60 meses
Sexo	Fêmeas
Origem	Campo Experimental Fazenda Sucupira



Coordenação CEUA/Cenargen  
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia