

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única

Edgar Mauricio Mogollón-Waltero¹; Hector Javier Narvaez¹; Reginaldo da Silva Fontes¹; Ricardo Lopes Dias da Costa², Célia Raquel Quirino¹, Ângelo Jose Burla Dias¹

¹ Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro UENF. Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal LRMGA Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-602, Campos dos Goytacazes-RJ.

² Pesquisador Científico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios – APTA-SP. Correspondência: mao5_2000@yahoo.com

Resumo

O processo convencional de superovulação em bovinos utiliza oito aplicações intramusculares do hormônio FSH procedimento este que aumenta a manipulação e estresse dos animais. Dessa forma objetivou-se trabalhar uma aplicação única de hormônio FSH incorporada a uma matriz polimérica biodegradável e biocompatível. Foram utilizadas 30 novilhas Nelore divididas aleatoriamente em três grupos, delineados de forma que o controle recebeu 100 mg de FSH em três aplicações a cada 36 horas; e os grupos 1 e 2 uma aplicação de 100mg e 50mg desse hormônio respectivamente sendo veiculado na matriz polimérica. A resposta superovulatória foi determinada por

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

ultrassonografia de acordo com a quantidade e tamanho dos folículos em crescimento e o número de corpos lúteos (CL) antes da coleta de embriões, e a quantidade e grau de desenvolvimento das estruturas coletadas no lavado uterino. Observou-se efeito tanto das doses e do número de aplicações de FSH, no número de estruturas coletadas ($P>0,05$), sendo superior no grupo 1 com média de $4,0\pm 7,42$ embriões por coleta em relação aos grupos controle e 2 com $1,7\pm 4,03$ e $0,5\pm 1,58$ respectivamente; o número de corpos lúteos foi de $8,10\pm 1,52$; $5,56\pm 3,88$ e $2,40\pm 1,71$ para os grupos controle, 1 e 2 respectivamente, e o número de folículos ($>6\text{mm}$) no dia 8 foi $14,70\pm 3,53$; $17,33\pm 5,57$ e $9,30\pm 4,08$ para os grupos controle, 1 e 2 respectivamente. Conclui-se que o FSH veiculado a uma matriz polimérica é eficiente em produzir superovulação em novilhas Nelore.

Palavras-chave: Ovulação múltipla, matriz polimérica, Nelore, FSH.

Super ovulation of Nelore heifers using FSH carried into biodegradable and control delivery polymeric matrix in only application

Abstract

The conventional process of superovulation in cattle need eight intramuscular injections of FSH which increases handling and stress degree of animals. The aim of this work were to reduce the number of injections for one and the amount of hormone FSH to 50% by incorporating it into a biodegradable and biocompatible polymeric matrix. In this experiment were used 30 Nelore heifers were randomly divided into three groups, the control group received 100 mg of FSH in three injections each 36 hours, while the other groups received only one injection of 100 or 50 mg of hormone loaded in the polymer matrix. The superovulatory response was determined according to the number and size of growing follicles, and the number of corpora lutea (CL) before collection by ultrasound examination furthermore the quantity and development state of the collected structures in the uterine washed. There was effect, in both doses and number of applications FSH on the number of

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

collected structures ($P > 0.05$), the result being higher in the group with a mean 4.0 ± 7.42 embryos per collection Vs 1.7 ± 0.5 and 4.03 ± 1.58 in control and group 2 respectively, the number of corpora lutea was 8.10 ± 1.52 , 5.56 ± 3.88 and 2.40 ± 1.71 for control and groups 1 and 2 respectively and the number of follicles ($> 6\text{mm}$) on day 8 was 14.70 ± 3.53 , 17.33 ± 5.57 and 9.30 ± 4.08 for control and 1 and 2 groups respectively. It is concluded that FSH loaded in polymeric matrix produce efficient superovulation in Nelore heifers with only one subcutaneous injection.

Keywords: Multiple ovulation, polymeric matrix, Nelore cattle, FSH.

INTRODUÇÃO

Na última década o Brasil, tornou-se o maior produtor mundial de embriões bovinos e, atualmente, encontra-se em posição de destaque com quase 50% do total de embriões produzidos mundialmente. A atividade concentrou-se principalmente, nas raças zebuínas e taurinas de corte, com as transferências realizadas, preferencialmente a fresco (Varago, 2008)¹⁶.

Dentre as biotecnologias reprodutivas usadas nos últimos tempos na indústria pecuária, é cada vez mais comum o uso das que utilizam ovulação múltipla ou superovulação, porém ainda não é possível diminuir o efeito negativo gerado pelo manejo dos animais devido à meia-vida curta do hormônio FSH, que varia de 5 a 12 horas aproximadamente (Callejas, 2002)³.

Por isso é importante tentar diminuir o estresse causado pela aplicação seriada dos hormônios em um protocolo de superovulação tradicional, diminuindo o manejo dos animais no curral o que não ocorre quando é necessário injetar o hormônio FSH para superestimulação a cada 12 horas.

Por outro lado, os polímeros degradáveis a hidroxácidos não tóxicos, em processos hidrolíticos e/ou enzimáticos, são usados comumente na medicina por oferecer vantagens como biocompatibilidade, biodegradabilidade e pela possibilidade de constituir polímeros transportadores apropriados para a veiculação de medicamentos, além da possibilidade de manter uma liberação

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

hormonal controlada e diminuir a toxicidade dos medicamentos veiculados (Amaral, 2007)¹.

O custo atual dos hormônios para sincronização e superovulação é também outro problema que enfrenta a transferência de embrião (TE). No Brasil a produção *in vitro* (PIV) de embriões vem superando a TE tradicional sendo que a primeira acarreta custos maiores aos produtores devidos principalmente ao uso de técnicas que requerem um controle rigoroso no laboratório e uso de equipamentos de aspiração folicular com ultrassom.

Sendo assim, neste trabalho foi realizado não só a diminuição do número de vezes que os animais entram no curral para as aplicações de hormônio, mas também a quantidade de hormônio FSH aplicado, visto que a matriz polimérica permite a liberação controlada e constante, diferente do sistema tradicional de duas injeções diárias.

O objetivo do trabalho foi incorporar o hormônio FSH em uma matriz polimérica para conseguir a superovulação com uma só injeção subcutânea em novilhas da raça Nelore. Além de testar o uso de uma dose mais baixa de FSH possibilitando, assim uma alternativa econômica para os produtores.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho *in vitro* foi realizado no Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético da UENF e os testes *in vivo* na Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), do Extremo Oeste - Andradina (SP) nos meses de junho e julho do 2009.

De um grupo de 45 novilhas da raça Nelore Mocho, foram selecionadas 30 para formação de 3 grupos contendo 10 animais cada. A média de peso e o escore de condição corporal foi de $385,36 \pm 32,92$ kg e 3,0 a 3,5 (na escala de 1 a 5) respectivamente, com média de idade de 30 meses. Todos os animais permaneceram nas condições padrão de pastagem da fazenda com sal mineral e água *ad libitum* e foram submetidas à avaliação clínica geral e ultrassonográfica para avaliar atividade ovariana.

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

A sincronização das fêmeas foi realizada em dia aleatório do ciclo estral, considerado como dia zero (D0) com o uso de um dispositivo intra vaginal de liberação lenta contendo 1 mg de progesterona (Primer[®], Tecnopec, Brasil) e uma injeção intramuscular (IM) de 3ml de Gonadiol[®] (3 mg de Benzoato de Estradiol, Schering-Plough, Brasil). Quatro dias após (D4) foi iniciada a superovulação com aplicações (IM) de Foltropin[®] (FSH, Bioniche, Canada) utilizando 100 mg. como dose total administrada em 3 injeções, colocadas a cada 36 horas no grupo controle (FSH 100% 3X), sendo a primeira e segunda de 40% da dose total, e a terceira de 20%. No dia 6 (D6) administrou-se uma dose (IM) 2 ml de Sincrocio[®] (0,5 mg de PGF2 α , Ouro fino, Brasil) pela manhã e outra pela tarde, o dia 7 (D7) pela manhã foi retirado o implante de P4 e no dia 8 (D8) aplicou-se 10 ml (IM) de Lutropin[®] (12,5 mg de LH, Bioniche, Canadá) pela manhã e a primeira inseminação se realizou na tarde, entanto que a segunda se fez pela manhã do dia seguinte. Nos outros dois grupos, no D4, foi injetado o FSH veiculado numa matriz polimérica como dose única por via subcutânea (SC). O grupo 1 com a dose de 100 mg usada em novilhas Nelore (FSH 100% 1X) e o grupo 2 com 50 mg de FSH (FSH 50% 1X). Os outros procedimentos foram realizados do mesmo modo que no grupo controle.

Todas as novilhas foram submetidas a exame ultra-sonográfico (equipamento Falco 100, Pie medical) com transdutor convexo multi frequencial de 5.0 e 7.5 Mhz via transretal nos dias 0, 4, 6, 8 e 14 dos protocolos, para avaliar o número de folículos, crescimento e formação posterior dos corpos lúteos (CL). Além de avaliar o efeito dos tratamentos sobre a produção de folículos e corpos lúteos, neste trabalho foi avaliada também a quantidade e qualidade dos embriões obtidos.

A coleta dos embriões foi realizada no dia 7 após da primeira inseminação, sendo que todas as fêmeas foram submetidas à anestesia epidural utilizando Lidocaína[®] 2% (4 ml) logo depois se realizou o lavado uterino mediante o uso de cateteres de "Foley", fixados no interior do útero. A lavagem foi realizada com PBS (solução salina fosfatada e tamponada) enriquecida com soro fetal

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

bovino (Cultilab, Brasil) e utilizou-se um filtro para embrião no final do sistema de condução para manter os embriões no líquido o tempo todo e recuperá-los por lavado do filtro, a procura e classificação dos embriões, foi realizada segundo as normas contempladas pela sociedade internacional de transferência de embriões (IETS) sendo utilizados apenas mórulas compactas e blastocistos iniciais, classificados como excelentes (grau I) ou bons (grau II) para o congelamento (Stringfellow, 1998)¹⁴.

A seguinte metodologia foi utilizada para a preparação da matriz polimérica veiculadora do FSH: O Pluronic F127 (Sigma-Aldrich Chemical Co, Estados Unidos) numa concentração entre 15 e 30% foi diluído em solução salina fosfatada e tamponada (PBS) e estocado na geladeira (4- 6°C) por 12 horas para sua diluição total, após a refrigeração, o composto formado foi misturado com o poli vinil álcool (PVA) (Sigma-Aldrich Chemical Co, Estados Unidos) numa relação de 0,5 a 2,0%. Uma vez misturado permaneceu estocado na geladeira de 4- 6 °C até 24 horas antes do momento do uso quando foi adicionado o hormônio FSH, misturando todo o composto no agitador (vortex) e estocando novamente na geladeira (4 a 6°C) até o momento da sua administração subcutânea na tábua do pescoço das novilhas.

Previamente ao uso da matriz nos animais ela foi testada *in vitro* no laboratório para determinar o tempo de gelificação e a duração tanto da liquidificação da matriz quanto da liberação controlada do FSH baixo condições de controle de pressão (5% CO₂) e temperatura (38°C) na estufa de fertilização *in vitro* de embriões, encontrando-se que o comportamento mais estável foi para a matriz construída com PF 127 e PVA 2%.

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e dez repetições. Foi realizada a análise de variância (Proc GLM, SAS,1999)¹³ das variáveis: Número médio de folículos maiores de 6 mm e Número médio de folículos menores de 6 mm (nos dias 8 e 14), Número médio de corpos lúteos no dia 14 e Número de Embriões coletados, quando os dados não apresentaram distribuição normal, os mesmos foram transformados mediante

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

o logaritmo na base 10. As médias dos tratamentos foram comparadas usando o teste "t" (SAS,1999)¹³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste *in vitro* demonstrou que o hormônio FSH pode ser veiculado em uma matriz polimérica construída com Pluronic F 127[®] (20- 30 %) e PVA (0,5 a 2,0%) como já demonstrado nos trabalhos realizados por Takedomi (1994)¹⁵ e Kimura (2007)¹¹ utilizando outros polímeros como a polivinilpirrolidona (PVP) e o gel de hidróxido de alumínio (Al gel) respectivamente ou nos trabalhos de Wensel (2002)¹⁷ com GnRH e Chung (2008)⁷ com hormônio de crescimento (hGH) veiculados em Pluronic F 127.

Os resultados do teste *in vitro* estão expressos numa curva na qual foram comparadas as três concentrações diferentes de PVA (0,5%; 1,0% e 2,0 %) na mistura com PF127 que mostrou que a concentração que apresenta maior duração da matriz e por tanto maior tempo de liberação do FSH foi a de PVA 2,0%. Esta matriz foi também a que apresentou, no seu padrão de liberação do hormônio, maior estabilidade durante os cinco dias do teste mostrando um pico inicial de liberação mais moderado que as outras duas concentrações de PVA (gráfico 1).

Igualmente demonstrou-se que o tempo de dissolução da matriz coincide com o tempo de liberação do hormônio sendo este entre 4 a 5 dias dependendo da concentração de PVA presente na matriz polimérica, ou seja que o tempo de liberação do hormônio apresenta similaridade com o tempo requerido para causar efeito superovulatório nas fêmeas bovinas, resultado que concorda com os apresentados por Kelly (1996)¹⁰; Mapletof (2002)¹² e Chebel (2008)⁶. Considerando que o comportamento da matriz polimérica *in vitro* apresentou respostas adequadas para a veiculação e liberação do hormônio FSH é ideal desenhar estudos que permitam aprofundar os conhecimentos em relação a seu comportamento *in vivo* tendo em conta os efeitos que pode ter a variação de parâmetros como a temperatura corporal, o pH e a resposta imunológica

que a longa duração do hormônio poderá causar no animal embora existam estudos relatando que as vacas apresentam anticorpos contra a FSH de origem porcina, mas esta resposta imunológica não interfere na produção de corpos lúteos e embriões viáveis (Duarte, 2008)⁸.

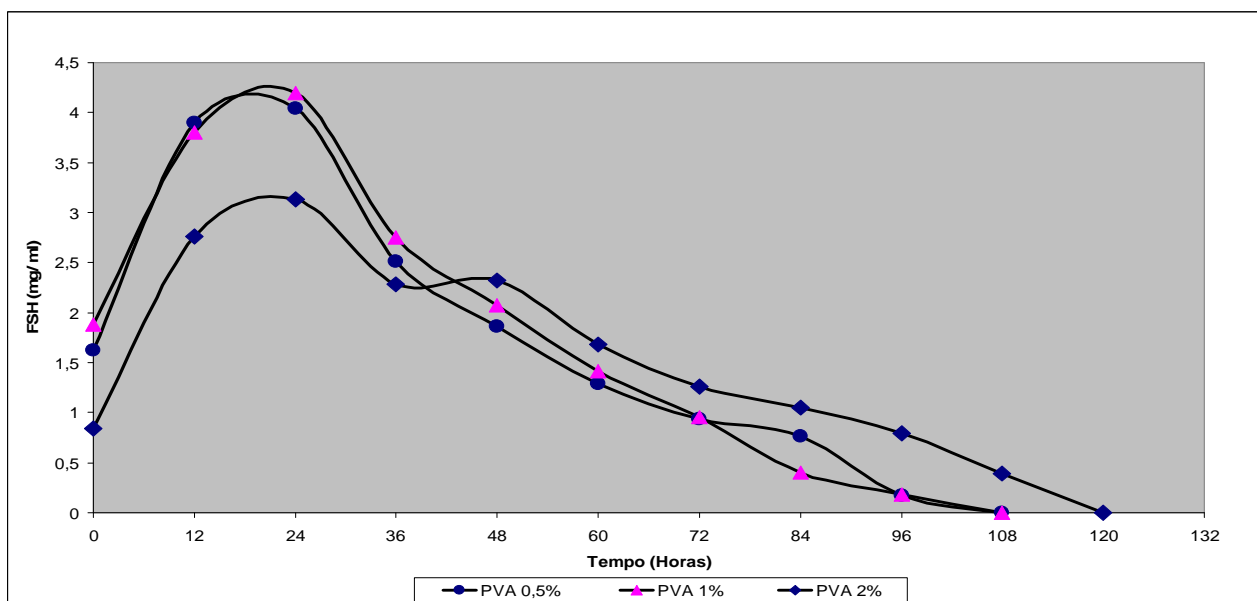


Gráfico 1: Evolução no tempo da liberação *in vitro* de FSH (20 mg) desde uma matriz polimérica fabricada com Pluronic F 127, em três diferentes concentrações de PVA (0,5%, 1,0% e 2,0%).

Já os testes *in vivo* mostraram que o hormônio FSH misturado com a matriz polimérica conseguiu promover o crescimento dos folículos até o tamanho onde eles podem responder ao hormônio LH na raça Nelore. Ainda no grupo que recebeu só 50% da dose total de hormônio, ou seja, acima de 6 mm de diâmetro quando se apresenta a etapa de divergência, ainda que a taxa de ovulação seja superior quando os folículos atingem maior diâmetro (7 a 10 mm) neste período (Carvalho, 2005⁴; Gimenes, 2008⁹).

No presente estudo os ovários das novilhas responderam ao aumento dos níveis de hormônio FSH apresentando crescimento folicular, tanto quando foram administradas 3 injeções intramusculares com intervalo de 36 horas (3X) quanto se administrou uma única injeção subcutânea (1X) com a dose

total de hormônio para novilhas (100 mg) ou com a metade de dita dose veiculada na matriz polimérica como reportado por Takedomi (1994)¹⁵ e Kimura (2007)¹¹.

A tab. 1 apresenta a resposta do crescimento folicular que os três grupos tiveram até o tamanho adequado para apresentar a divergência, ou seja, ter a capacidade para responder ao estímulo do LH no dia 8 do protocolo, porém o grupo 50% apresentou queda na quantidade de folículos maiores de 6 mm ($9,3\pm 4,08$) e aumento nos menores ($8,8\pm 7,27$) respeito dos outros grupos podendo se inferir que neste grupo a quantidade do FSH não foi suficiente para levar os folículos ao adequado desenvolvimento para conseguir ovulação.

Tabela 1: Número médio e respectivos desvios-padrão de folículos maiores e menores de 6 mm, nos dias 8 e 14 e número médio de corpos lúteos e respectivos desvios-padrão no dia 14, nos três grupos experimentais.

Variáveis Analisadas	Grupos experimentais		
	Controle	FSH 100%	FSH 50%
Nº Médio Folículos < 6mm no dia 8	$2,30\pm 2,98^a$	$2,30\pm 3,46^a$	$8,80\pm 7,27^b$
Nº Médio Folículos > 6mm no dia 8	$14,70\pm 3,53^t$	$17,33\pm 5,57^a$	$9,30\pm 4,08^c$
Nº Médio Folículos < 6mm no dia 14	$0,90\pm 1,37^a$	$7,22\pm 6,94^a$	$9,50\pm 5,80^b$
Nº Médio Folículos > 6mm no dia 14	$5,40\pm 2,84^a$	$5,11\pm 3,48^b$	$6,60\pm 3,72^a$
Nº Médio Corpos Lúteos o dia 14	$8,10\pm 1,52^a$	$5,56\pm 3,88^a$	$2,40\pm 1,71^b$

Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si pelo teste t ($P < 0,05$).

Os dados da tabela 1 mostram como o grupo 100% FSH (1X) obteve um comportamento superior em relação dos outros superando o grupo controle no parâmetro de folículos maiores de 6 mm no dia 8.

Foi observado neste experimento que a maioria dos folículos ainda que atingissem o grau de desenvolvimento necessário para responder ao estímulo

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

do hormônio LH (6 mm no dia 8) não conseguiram ovular, porém alguns animais conseguiram fazer múltiplas ovulações e outros apresentaram tanto folículos persistentes (anovulatórios) e/ou formação de cistos. Como foi reportado também nos trabalhos de Kimura et al (2007)¹¹ mas diferente dos achados de Callejas (2002)³ quem afirma que o número de folículos maiores no momento da coleta é baixo (1,2 a 2 folículos) quando comparado a superovulação com FSH veiculado em PVP (dose única) ou injetado por via intramuscular (doses múltiplas).

Dentre as possíveis explicações em relação aos folículos terem apresentado desenvolvimento mas não conseguirem ovular, estão a possibilidade da matriz polimérica ter liberado o hormônio FSH muito rapidamente em alguns animais, que poderiam ter apresentado metabolismo acelerado e por tanto aumento da temperatura corporal e/ou pH do sangue, que pela sua vez podem afetar o comportamento dos polímeros como reportado por Jeong e Vandamme citados por Castro (2006)⁵ quem afirmam que alguns copolímeros apresentam degradação mais rápida *in vivo* que *in vitro*, fato este atribuído a atuação enzimática.

Outra possível explicação deste fenômeno pode ser totalmente contrária da anterior, ou seja, que a duração da matriz polimérica e por tanto dos níveis de hormônio FSH no animal foi muito prolongado e por isso apresentaram-se grande quantidade de folículos maiores de 6 mm ainda depois da aplicação do hormônio LH como indutor da ovulação no dia 8 dos protocolos.

Resultados anteriores observaram que tanto na raça Nelore quanto na Holandesa, sob condições fisiológicas apresenta-se declínio nas concentrações plasmáticas de FSH próximo ao momento da divergência folicular que na raça Nelore acontece perto dos 6 mm de diâmetro e 2,5 dias depois da ovulação do ciclo anterior. Pode então acontecer que esse declínio nos níveis de FSH seja necessário para o adequado desenvolvimento dos folículos e fique prejudicado pela ação de liberação constante do hormônio pela matriz polimérica, fato que não acontece quando se utiliza um protocolo de múltiplas injeções (Gimenes, 2008)⁹.

MOGOLLÓN-WALTERO, E.M. et al. Superovulação de fêmeas Nelore utilizando FSH veiculado em uma matriz polimérica biodegradável de liberação controlada em aplicação única. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 30, Ed. 217, Art. 1447, 2012.

Segundo Amsterdam (2002)² as células gonadais podem ser superestimuladas pelas gonadotrofinas FSH ou LH pelo qual existe um mecanismo de dessensibilização que é essencial para impedir esta estimulação. Pode acontecer, por exemplo, o processo denominado luteólise funcional no qual as células da granulosa vão se luteinizando mostrando redução da sensibilidade ao LH ainda tendo receptores para esse hormônio.

No gráfico 2 verificou-se efeito significativo ($p < 0,05$), do tratamento controle sobre o grupo 50% FSH (1X) para o número de corpos lúteos observados por ultrassom o dia 14 (dois dias antes da coleta), mas não apresenta diferença significativa em relação ao grupo 100% FSH (1X), mas eles não apresentam concordância com os achados no momento da coleta, pois não correspondem com o número de estruturas encontradas fato que pode-se explicar pelos animais que responderam, mas não puderam ser coletadas pela dificuldade de transposição do aplicador devido ao cervix.

O grupo FSH 100% veiculado em matriz polimérica apresentou maior quantidade de embriões, mostrando diferença estatística com os outros grupos e também apresentou diferença significativa em relação ao número de folículos maiores de 6 mm de diâmetro no dia 14 do protocolo.

Os achados anteriores têm demonstrado que o grupo de animais tratados com a dose total normalmente usada em novilhas Nelore (FSH 100 mg), veiculada numa matriz polimérica biodegradável de liberação controlada e injetada por via subcutânea, como dose única, conseguiram resultados tão bons quanto os tratados com múltiplas aplicações do hormônio FSH.

Em relação à matriz polimérica considera-se necessário realizar ainda mais testes *in vivo* a fim de estabelecer com certeza os mecanismos de liberação dos hormônios e as propriedades intrínsecas aos polímeros que a formam.

Deverá tentar-se trabalhar no futuro com animais de maior desenvolvimento tanto corporal quanto uterino para evitar dificuldades no momento da coleta, da mesma forma que seria ideal trabalhar com animais pré-sincronizados e de histórico reconhecido para a produção de embriões.

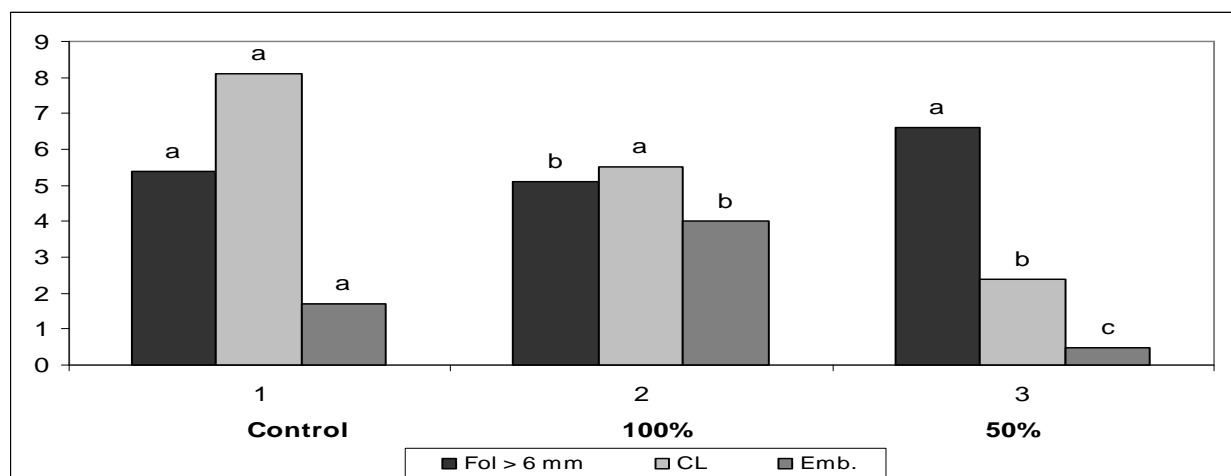


Gráfico 2: Número médio de folículos maiores de 6 mm no dia 14, Número médio de corpos lúteos no dia 14 e Número médio de embriões coletados nos três tratamentos superovulatórios. Valores com sobrescritos iguais não diferem entre si pelo teste "t" ($p > 0,05$).

A realização de mais pesquisas que utilizem matrizes poliméricas como veiculadoras de hormônios poderá, no futuro, encontrar uma dose intermédia entre 50 e 100 % do hormônio FSH ou ainda apresentar diminuição da dose total aplicando uma segunda dose, intramuscular de 20 a 30 % do total como reforço na finalização do processo de crescimento dos folículos.

Conclui-se que, o hormônio FSH veiculado numa matriz polimérica constituída por Pluronic F 127 e poli vinil álcool pode se utilizar em única aplicação subcutânea para produzir superovulação em novilhas da raça Nelore usando 100 mg FSH.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AMARAL, E.; GRABE, A.; NOGUEIRA, H.; LINZ, G.; BARRATT, G.; MOSQUEIRA, V. Cardiotoxicity reduced by Halofantrine entrapped in nanocapsule devices. **Life Sciences**, v.80, p.1327- 1334. 2007.
- 2- AMSTERDAM, A.; HANOCH, T.; DANTES, A.; TAJIMA, K.; STRAUSS, J.; SEGER, R. Mechanism of gonadotropin desensitization. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 187, p. 69- 74. 2002.

- 3- CALLEJAS, S., ALBEIRO, R., CABODEVILA, J., DULOUT, F., ALLER, J. E TERUEL, M. Efecto de la estimulación ovarica com FSH-P em dosis única disuelta em polivinylpirrolidona y la combinación de FSH-P y ECG em dosis reducidas. **Revista Argentina de producción animal**. v.22, p. 141- 151, 2002.
- 4- CARVALHO, L. **Caracterização ultra-sonográfica do desvio folicular ovariano em vacas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*)** 2005. Tese de mestrado Universidade estadual paulista, faculdade de Medicina Veterinária y Zootecnia, Botucatu.
- 5- CASTRO, MARIA LEONORA DE. **Copolímeros estatísticos biodegradáveis de E caprolactona e L,L-dilactideo- síntese, caracterização e propriedades**, 2006. Tese de Doutorado Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
- 6- CHEBEL, R., DEMÉTRIO, D., METZGER, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. **Theriogenology**, v. 69, p. 98- 106. 2008.
- 7- CHUNG, H. LEE, Y. PARK, T. Thermo- sensitive and biodegradable hydrogels based on stereocomplexed Pluronic multi- block copolymers for controlled protein delivery. **Journal of controlled release**, v. 127, p. 22- 30. 2008
- 8- DUARTE, K., PIRES, R., GOMES, L. Resposta imunológica de vacas Nelore e caracu superovuladas com FSHp injetado por via subcutânea. **PUBVET**, Londrina, v. 2, N. 39, Art # 377, 2008. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/texto.php?id=377>>. Acesso em : Setembro 2010.
- 9- GIMENES, L., SÁ FILHO, M., TORRES, J., BELTRAN, M., NOGUEIRA, G., BARUSELLI, P. Perfil de FSH e LH na divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 45, p. 11- 16, 2008.
- 10- KELLY, P., DUFFY, P., ROCHE, J., BOLAND, P. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. **Animal reproduction science**, v. 46, p. 1- 14. 1997.
- 11- KIMURA, K., HIRAKO, M., IWATA, H., AOKI, M., KAWAGUCHI, M., E SEKI, M. Successful superovulation of cattle by a single administration of FSH in aluminum hydroxide gel. **Theriogenology**, v. 68, p. 633- 639, 2007.
- 12- MAPLETOFT, R., BENNETT, K., ADAMS, G. Recent advances in the superovulation in cattle, **Reproduction and nutrition development**, v. 42, p. 601- 611. 2003.
- 13- SAS. Institute Inc. *SAS. User's Guid.* Version 8. Cary, N.C, 1999.
- 14- STRINGFELLOW, D, SEIDEL, S. (Eds.). **Manual of the International Embryo Transfer Society.**, Savoy, IL: 1998.
- 15- TAKEDOMI, T., AOYAGI, Y., KONISHI, M., KISHI, H., TAYA, K., WATANABE, G., SASAMOTO, S. Superovulation of Holstein heifers by a single subcutaneous injection of FSH dissolved in polyvinilpirrolidone. **Theriogenology**, v.43; p. 1259- 1288. 1995.
- 16- VARAGO, F.; MENDONÇA, L.; LAGARES, M. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32. n. 2, p. 100- 109. 2008.

17- WENZEL,J.W.; SREE BALAJI, K.S.; KOUSHIK, K.; NAVARRE, C.; DURAN, S.; RAHE,C.; KOMPELLA, U. Pluronic F127 gel formulations of deslorelin and GnRH reduce drug degradation and sustain drug release and effect in cattle. **Journal of controlled release**, v. 85, Issues 1-3. 2002.