

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/12/2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL

Defesa de Dissertação

**EFEITO DO ÁCIDO MEFENÂMICO SOBRE A MOBILIDADE
EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS**

VERIDIANA DE PAULA ANDRADE

Botucatu – SP

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL

**EFEITO DO ÁCIDO MEFENAMICO SOBRE A MOBILIDADE
EMBRIONÁRIA EM ÉGUAS**

VERIDIANA DE PAULA ANDRADE

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus Botucatu, para obtenção do título de mestre em Biotecnologia Animal, área de Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Alvarenga

Botucatu- SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU- UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Andrade, Veridiana De Paula.

Efeito do ácido mefenâmico sobre a mobilidade embrionária em éguas / Veridiana De Paula Andrade. Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Marco Antônio Alvarenga
Capes: 50504037

1. Agentes anti-inflamatórios não esteróides. 2. Transferência de embriões. 3. Prenhez. 4. Égua. 5. Prostaglandinas. 6. Ácido mefenâmico.

Palavras-chave: anti-inflamatório não esteroide; prenhez; prostaglandina; transferência de embrião.

Nome da autora: Veridiana De Paula Andrade

Título: Efeito do Ácido mefenâmico sobre a mobilidade embrionária em éguas

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marco Antônio Alvarenga

Presidente e Orientador

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu.

Prof. Dra. Fabiana Ferreira de Souza

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dra. Claudia Barbosa Fernandes

Membro

Departamento de Reprodução Animal
FMVZ – USP – São Paulo

Data da defesa: 15 de Junho de 2018

Dedicado a: Isabel e José Luís

Dedico esse trabalho aos meus pais Isabel De Paula Andrade e José Luís de Freitas Andrade, com todo meu amor e gratidão, por tudo que fizeram por mim ao longo de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo que conquistei até agora, mas peço a Ele para me dar sabedoria para conquistar muito mais.

À minha família, principalmente minha mãe Isabel e meu pai José Luís, minhas irmãs Mariana e Fabiana, meus sobrinhos Maria Elisa e Luís Augusto, minhas avós Deomar e Benedita e meu avó Antônio pela compreensão, incentivo diário amor e carinho incondicional.

Em memória ao meu avó, Luís Augusto de Freitas Andrade, pelos ensinamentos e suas sábias palavras sempre farão eco em nossas consciências.

Ao meu orientador Marco Antônio Alvarenga, pela oportunidade do mestrado, pela amizade e aprendizado constante.

À amiga querida Carolina Okada por toda ajuda, incentivo e risos compartilhados.

Aos professores do Departamento de Reprodução Animal, pelos ensinamentos.

A todos os amigos pós-graduandos, residentes, funcionários e estagiários.

Agradeço também a FMVZ/ UNESP pela oportunidade. É uma honra fazer parte desta instituição.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado.

E finalmente, agradeço aos animais, pelos ensinamentos diários de lealdade, amizade, amor e simplicidade.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Artigo

Figura 1- Modelo representativo para avaliação da permanência embrionária no útero, onde ambos os cornos foram estatisticamente considerados como um. (1) segmento caudal do corpo uterino, (2) segmento médio do corpo uterino, (3) segmento cranial do corpo uterino, (4) segmento caudal do corno, (5) segmento médio do corno e (6) segmento craniano do corno.....27

Figura 2- Tempo em minutos de permanência do concepto nos segmentos uterinos de acordo com os momentos. Letras minúsculas (a, b, c) demonstram significância estatística ($p < 0.05$)29

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AINEs	Antiinflamatórios não estereoidais
CL	Corpo lúteo
COX	Ciclooxigenase
COX-1	Ciclooxigenase 1
COX- 2	Ciclooxigenase 2
EPsi	Fator inibidor da síntese de prostaglandina
FM	Flunixin meglumine
kDa	Quilodalton
P4	Progesterona
PGE-2	Prostaglandina E2
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
PGES	Prostaglandina E sintase
PTGFS	Prostaglandina F sintase
PTGER2	Prostaglandina E tipo 2
TBF- α	Fator de necrose tumoral α

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 RECONHECIMENTO MATERNO DA GESTAÇÃO E MOBILIDADE EMBRIONÁRIA.....	2
2.2 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES E PRODUÇÃO DE PROSTAGLANDINAS.....	9
2.3 EFEITO DOS ANTIINFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES NA REPRODUÇÃO EQUINA.....	10
3. REFERÊNCIAS.....	12
HIPÓTESE.....	20
CAPÍTULO 2	21
ARTIGO	22
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAL E MÉTODO	24
2.1 Aspectos éticos.....	25
2.2 Local e animais	25
2.3 Avaliações ultrassonográficas.....	25
2.4 Tratamento	27
2.5 Análise estatística.....	27
3. RESULTADOS	27
4. DISCUSSÃO.....	28
5. REFERÊNCIAS.....	31

ANDRADE, V. P. Efeito do ácido mefenâmico sobre a mobilidade embrionária em éguas. Botucatu 2018, 45p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"- UNESP

RESUMO

Na espécie equina, o embrião se movimenta no útero entre os dias 9 e 16 após a ovulação, o conceito apresenta uma forma esférica e se move constantemente no lúmen uterino mediante contrações miométriais, produzidas por estimulação química da vesícula embrionária. O deslocamento embrionário durante este período é essencial para o reconhecimento materno da gestação. Este longo período de estímulo garante que o embrião produza sinais anti-luteolíticos no endométrio, evitando a luteólise. Após 17 dias, a vesícula embrionária cessa a mobilidade e ocorre a fixação em um dos cornos. Durante a mobilidade, o embrião produz prostaglandinas PGE-2, PGF-2 α e PGI-2. Se houver uma falha durante a migração embrionária, o reconhecimento materno da gestação pode ser afetado e conseqüentemente há lise do corpo lúteo, resultando na perda precoce da prenhez. O uso do anti-inflamatório flunixin meglumine imediatamente após a transferência do embrião é amplamente utilizado para prevenir uma reação inflamatória local, a luteólise e a perda embrionária precoce. No entanto, de acordo com a literatura, o ácido mefenâmico causa menos efeitos sobre a mobilidade embrionária e aumenta as taxas de gestação. O objetivo deste estudo foi elucidar o efeito do ácido mefenâmico sobre a mobilidade embrionária em éguas. Foram selecionadas 10 éguas para o estudo. Após a confirmação da gestação com ultrassom transretal, a mobilidade embrionária foi avaliada por ultrassonografia em série (a cada 5 minutos) durante 1 hora. Este exame foi considerado como momento controle. As éguas receberam 1,5g de ácido mefenâmico por via oral. O segundo exame de ultrassonografia em série foi realizado 2 horas após administração, quando o fármaco atingiu a concentração máxima sérica. Após 24 horas da ação da administração do medicamento, a terceira avaliação foi realizada para verificar os efeitos residuais. O momento controle resultou em um valor médio de $6,0 \pm 0,3$ movimentos por hora (m/h) de avaliação. Após o tratamento com o ácido mefenâmico, os embriões apresentaram $2,7 \pm 0,3$ m/h e 24 horas $5,2 \pm 0,4$ m/h. Podemos concluir que o ácido mefenâmico afetou a mobilidade embrionária, mas não causou efeitos remanescentes as 24 horas após a administração.

Palavras-chave: anti-inflamatório não esteroide, transferência de embrião, prenhez, prostaglandina

ANDRADE, V. P. Effect of mefenamic acid on embryonic mobility in mares. Botucatu 2017, 45p. Thesis (Master degree) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu city, São Paulo State University “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

ABSTRACT

In the equine specie, the embryo moves in the uterus between days 9 and 16 after ovulation, the conceptus presents a spherical shape and moves constantly in the uterine lumen through myometrial contractions, produced by chemical stimulation of the embryonic vesicle. Embryonic displacement during this period is essential for maternal recognition of pregnancy. This long stimulus period ensures that the embryo produces anti-luteolytic signals to the endometrium, avoiding the luteolysis. After 17 days the embryonic vesicle stops the mobility and occurs the fixation in one of the horns. During mobility, the embryo produces prostaglandins PGE-2, PGF, and PGI-2. If there is a failure during embryo migration the maternal recognition of pregnancy may be affected and consequently lysis of corpus luteum, resulting in the early pregnancy loss. The use of the anti-inflammatory flunixin meglumine immediately after the embryo transfer is widely used in order to prevent a local inflammatory reaction, luteolysis, and early embryonic loss. However, according to the literature, mefenamic acid cause less effects on embryonic mobility and increases pregnancy rates. The objective of this study was to elucidate the effect of mefenamic acid on embryonic mobility in mares. There were selected 10 mares for the study. After confirmation of pregnancy with transrectal ultrasound, the embryo mobility was evaluated by serial ultrasonography (every 5 minutes) during 1 hour. This examination was considered the control moment. The mares received 1.5 g of mefenamic acid orally. The second serial ultrasound examination was performed 2 hours after administration, when the drug reached the maximum serum concentration. After 24 hours of mefenamic acid administration, the third evaluation was accomplished in order to verify if the meclofenamic acid presented residual effects. The control moment resulted in a mean value of 6.0 ± 0.3 movements per hour (m/h) of evaluation. After treatment with mefenamic acid, the embryos presented 2.7 ± 0.3 m/h and at 24 hours 5.2 ± 0.4 m/h. We can conclude that mefenamic acid affected embryonic mobility, but did not cause remnant effects 24 hours after administration.

Keywords: non-steroidal anti-inflammatory, embryo transfer, pregnancy, prostaglandin

5 REFERÊNCIAS

- [1] Watson ED, Sertich PL. Prostaglandin production by horse embryos and the effect of co-culture of embryos with endometrium from pregnant mares. *Journal of Reproduction and Fertility* 1989; 87:331–336.
- [2] Leith GS, Ginther OJ. Characterization of intrauterine mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology* 1984;22: 401–408.
- [3] Gastal MO, Gastal EL, Torres CAA, Ginther OJ. Effect of PGE₂ on uterine contractility and tone in mares. *Theriogenology* 1998;50:989–99.
- [4] Stout TAE, Allen WR. Prostaglandin E₂ and F_{2α} production by equine conceptuses and concentrations in conceptus fluids and uterine flushings recovered from early pregnant and dioestrous mares. *Reproduction* 2002;123:261–8.
- [5] Bertan CM, Binelli M, Madureira EH. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise - revisão de literatura. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science* 2006;43:824–40.
- [6] Shimizu T, Wolfe LS. Review: Arachidonic Acid Cascade and Signal Transduction. *Journal Neurochem* 1990;55:1–15.

- [7] Needleman P, Truk J, Jakschik BA, Morrison AR, Lefkowitz JB. Arachidonic Acid Metabolism. *Annual Review Biochemistry* 1986;55:69–102
- [8] Habenicht AJR, Goerig M, Grulich J, Rothe D, Gronwald R, Loth U. Human platelet-derived growth factor stimulates prostaglandin synthesis by activation and by rapid de novo synthesis of cyclooxygenase. *Journal of Clinical Investigation* 1985;75:1381–7
- [9] Gastal MO, Gastal EL, Torres CAA, Ginther OJ. Effect of PGE₂ on uterine contractility and tone in mares. *Theriogenology* 1998;50:989–999.
- [10] Stout TAE, Allen WR. Role of prostaglandins in intrauterine migration of the equine conceptus. *Reproduction* 2001;121:771–5.
- [11] Ginther OJ. Mobility of the early equine conceptus. *Theriogenology* 1983;19:401–408.
- [12] Koblischke P, Kindahl H, Budik S, Aurich J, Palm F, Walter I. Embryo transfer induces a subclinical endometritis in recipient mares which can be prevented by treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs. *Theriogenology* 2008;70:1147–1158.
- [13] Kask K, Odensvik K, Kindahl H. PGF_{2a} release associated with an ET procedure in the mare. *Equine Veterinary Journal* 1997;29:286–289.
- [14] Neely DP, Stabenfeldt GH, Sauter CL. The effect of exogenous oxytocin on luteal function in mares. *Journal of Reproduction and Fertility* 1979;55:303–308.
- [15] Okada CTC, Segabinazzi LG, Crespilho AM, Dell'Aqua JA, Alvarenga MA. Effect of the flunixin meglumine on pregnancy rates in an equine embryo transfer program. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2018;62:40-43
- [16] Willsher S, Kolling M, Allen WR. Meclofenamic acid extends donor-recipient asynchrony in equine embryo transfer. *Equine Veterinary Journal*. 2006;38:428-432.
- [17] Ginther OJ. Mobility of twin embryonic vesicles in mares. *Theriogenology* 1984;22:83–95.
- [18] Skidmore JA, Billah, M. Embryo transfer in the dromedary camel using asynchronous, meclofenamic acid- treated recipients. *Reproduction, Fertility and Development*. 2005;17:417-421.
- [19] Okada CTC, Andrade VP, Dell'Aqua CF, Nichi M, Fernandes CB, Papa FO, Alvarenga MA. The effect of flunixin meglumine, firocoxib and meloxicam on the uterine mobility of equine embryos. *Theriogenology*. 2018 (in press)
- [20] Tan HN, Liu Y, Diao HL, Yang ZM. Cyclooxygenases and prostaglandin E synthases in preimplantation mouse embryos. *Zygote* 2005;13:103–8.

[21] Atli MO, Kurar E, Kayis SA, Aslan S, Semacan A, Celik S. Evaluation of genes involved in prostaglandin action in equine endometrium during estrous cycle and early pregnancy. *Animal Reproduction Science* 2010;122:124–32.

[22] Bland SA, Blake JW, Ray RS. Mefenamic Acid Blood and Urine Levels in the Horse Determined by Derivative Gas-Liquid Chromatography—Electron Capture. *Journal of Chromatographic Science*, 1976; 14: 201-203.