

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

AVALIAÇÃO DA DINÂMICA FOLICULAR EM CAMUNDONGAS TRATADAS COM CATOSAL B12®¹

Ronaldo Junior Da Silva², Denize Da Rosa Fraga³, Maria Andréia Inkelmann⁴, Cristiane Elise Teichmann⁵, Mara Iolanda Batistella Rubin⁶, Eliana Burtet Parmeggiani⁷.

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida pelo Departamento de Estudos Agrários, pertencente ao Grupo de Pesquisa em Saúde Animal da UNIJUI.

² Aluno do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da UNIJUI, Bolsista PIBIC/CNPq, ronaldojr15@hotmail.com

³ Professora Mestre do Departamento de Estudos Agrários, UNIJUI, orientadora, denise.fraga@unijui.edu.br

⁴ Professora Doutora do Departamento de Estudos Agrários, UNIJUI, orientadora, maria.inkelmann@unijui.edu.br

⁵ Professora Mestre do Departamento de Estudos Agrários, UNIJUI, cristiane.teichmann@unijui.edu.br

⁶ Professora Doutora do Curso de Medicina Veterinária da UFSM, mararubin90@yahoo.com.br

⁷ Médica Veterinária, egressa do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, UNIJUI, elianbparmeeggiani@hotmail.com

Introdução

Os camundongos são membros da classe Mammalia, ordem Rodentia, família Muridae, gênero Mus, espécie Mus musculus. A sua introdução como um animal de laboratório em pesquisas deve-se principalmente pelo fato de ser muito pequeno e prolífero, por possuir período de gestação curto, fácil domesticação e manutenção, além de ser ativo e extremamente ágil. Segundo Ribeiro et al., (1995) a idéia de se utilizar estes animais em pesquisa se torna muito útil, pois fornecem informações sobre o organismo como um todo, fato este que não é conseguido utilizando outros animais. Por este motivo, tornou-se o mamífero mais utilizado na experimentação com animais (SANTOS, 2002).

A experimentação animal nas pesquisas científicas vem contribuindo para o desenvolvimento da ciência e tecnologia, possibilitando a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de diversas doenças que acometem tanto os seres humanos como os animais. Os principais focos destas pesquisas tem sido aprimorar o conhecimento acerca dos mecanismos fisiopatológicos de doenças, empreender ensaios terapêuticos com novos fármacos, estudar marcadores biológicos e avaliar novas técnicas com perspectivas da aplicabilidade na espécie humana. Para a realização de pesquisas na área reprodutiva é preciso que um parâmetro fisiológico seja levantado a fim de estabelecer como ocorre o desenvolvimento fisiológico do organismo animal. Pesquisas que demonstrem o processo contínuo de crescimento folicular que culmina com a formação de folículos pré-ovulatórios denominam-se pesquisas de dinâmica folicular. A perfeita garantia da dinâmica folicular é estabelecida pelos processos de recrutamento folicular, seleção e dominância dos folículos em um ciclo estral (MIGUEL, 2002).

A manutenção de uma determinada espécie é dependente de um mecanismo de perpetuação eficaz, desta forma a perpetuação de uma espécie depende de estratégias reprodutivas que funcionem. Nos

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

mamíferos domésticos e selvagens, para a obtenção do sucesso reprodutivo é extremamente importante o adequado funcionamento do sistema reprodutor. O órgão mais importante do sistema reprodutivo feminino é o ovário, que contém o gameta feminino (ovócito), cada ovócito está associado a um folículo que, por sua vez, possui potencial de dar origem a um novo indivíduo e perpetuar a espécie. Para que este potencial seja realizado, uma sequência de eventos deve acontecer de forma dinâmica e ordenada (BINELLI et al., 2009).

O uso de fósforo e vitamina B12 está relatado como um adjuvante na produção de oócitos de melhor qualidade durante o ciclo estral de diversas espécies, porém os dados a cerca deste assunto são escassos. Compreender a dinâmica folicular do ciclo estral de camundongas tratadas com este complexo permitirá o incremento de protocolos reprodutivos, para outras espécies, como por exemplo, para bovinos (LOPES et al., 2010; PEREIRA et al., 2012.; BARONI et al., 2013). Trabalhos com o uso de Catosal B12® em diferentes espécies tem demonstrado sua ampla eficiência em melhorar a saúde geral, estimulando o apetite, o sistema imunológico, melhorando as funções hepáticas, digestivas e musculares. Ainda o catosal B12® estimula o processo de hematopoiese (formação de glóbulos vermelhos), melhora a concentração de hemoglobina, aumentando o hematócrito e as proteínas plasmáticas totais (DENIZ et al., 2009). O seu uso reduz também a incidência de problemas puerperais, aumenta a taxa de prenhez, diminui o período entre parto e concepção, proporciona melhora na produção de leite e ganho de peso, tanto em bovinos leiteiros como de corte (PALMER, 1980).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do uso de um composto fosfórico e vitamina B12 (Catosal B12®) sobre a dinâmica folicular de camundongas com vistas ao incremento da viabilidade na produção de oócitos.

Metodologia:

O ensaio experimental foi conduzido com camundongas oriundas do Biotério da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), localizada no município de Ijuí/RS, o protocolo seguiu as diretrizes recomendadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Foram utilizadas 50 camundongas (fêmeas), divididas em grupo tratado (GT, n=25) e grupo controle (GC, n=25).

As fêmeas foram separadas dos machos por 30 dias e ficaram em ciclo escuro para induzir o anestro. Após foram aproximadas novamente dos machos por três dias, sendo ao final realizada a aplicação de 0,001ml de Catosal B12® por animal, por via subcutânea, em dose única, sendo este considerado como dia 0, no grupo tratado. No grupo controle foi aplicado o mesmo volume de solução fisiológica, via subcutânea. Os grupos foram separados em:

- 1) Animais eutanasiados no primeiro dia após aplicação (GT1, n=5 e GC1, n=5);
- 2) Animais eutanasiados no segundo dia após aplicação (GT2, n=5 e GC2, n=5);
- 3) Animais eutanasiados no terceiro dia após aplicação (GT3, n=5 e GC3, n=5);
- 4) Animais eutanasiados no quarto dia após aplicação (GT4, n=5 e GC4, n=5);
- 5) Animais eutanasiados no quinto dia após aplicação (GT5, n=5 e GC5, n= 5).

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

As camundongas receberam ração balanceada peletizada, água à vontade em bebedouros automáticos com válvula, sendo alojadas em gaiolas com cama de substrato de maravalha de pinus, e com lotação de 10 animais por gaiolas, em uma sala climatizada do laboratório de Biotecnologia e Reprodução Animal da UNIJUI.

A eutanásia foi realizada por anestesia geral, com anestésico barbitúrico, seguida de decapitação. Após este procedimento era incisado o abdômen e posteriormente exposto o útero para ser dissecado e removido juntamente com os ovários. Foram realizadas análises macroscópicas dos ovários para mensuração de número de folículos e corpo lúteo.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com dois tratamentos (Catosal B12® e Controle), sendo divididos os animais em cinco grupos (dias), cada animal foi considerado uma repetição no dia. Os resultados das avaliações de quantidade de folículos, qualidade e resultados microscópicos foram comparados entre os grupos nos diferentes dias. Sendo comparados pelo teste t de Student e teste não paramétrico de Mann-Whitney, pelo programa SAS. Objetivando avaliar o efeito da aplicação de Catosal B12® sobre a dinâmica folicular de camundongas.

Resultados e Discussão:

Cada mililitro de Catosal B12® contém 0,05mg de cianocobalamina que é popularmente conhecida como vitamina B12 e 100mg de butafosfan, que é o equivalente a 17,3mg de fósforo orgânico na forma de ácido fosfórico. A vitamina B12 e o butafosfan regulam várias funções celulares e metabólicas, tanto a vitamina B12 como o fósforo, proporcionam o aumento da atividade de várias enzimas antioxidantes no funcionamento do metabolismo celular, auxiliando na intervenção da replicação do DNA, mantém a estabilidade genética e homeostasia celular (LOPES et al., 2010; PEREIRA et al., 2012).

Com a utilização de Catosal® nas camundongas é possível verificar aumento em relação ao número de folículos no grupo tratado, com diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0.0004$). Na tabela 1 está representado o grupo tratado com Catosal B12® e o grupo controle de camundongas submetidas à avaliação da produção folicular. Ao avaliar o efeito da suplementação de butafosfan e cianocobalamina (Catosal B12®) em camundongas, visando a sua ação sobre a produção de folículos, verificou-se neste estudo efeito benéfico, ou seja, a suplementação com butafosfan e cianocobalamina apresenta uma interessante alternativa para incrementar e viabilizar o aumento na produção de folículos em camundongas. Ao avaliar a dinâmica conforme o dia do ciclo verifica-se um incremento positivo de folículos em todos os dias (D1 a D5), sendo a maior produção de folículos contados no dia 2 no grupo tratado.

Tabela 1- Resultados médios de folículos em camundongas no grupo tratado com Catosal B12® e no grupo controle.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

	Grupo Tratado	Grupo Controle
	Número de Folículos	Número de Folículos
Dia 1	11	8
Dia 2	17	13
Dia 3	12	11
Dia 4	15	12
Dia 5	14	9

A ação sistêmica da combinação de butafosfan e cianocobalamina sobre os tecidos não é totalmente esclarecida. O que já foi elucidado é que o fósforo presente na molécula de butafosfan pode atuar na síntese de ATP (adenosina trifosfato) e participar da fosforilação de compostos intermediários da gliconeogênese. Já a cianocobalamina age sobre o bloqueio da lipólise e no aproveitamento dos AGNES (ácidos graxos não esterificados) no fígado, pois ativa o ciclo de Krebs e incrementa a gliconeogênese (ROLLIN et al., 2010). A ação da cianocobalamina melhora o metabolismo dos carboidratos e pode aumentar o aporte de glicose e IGF-I (fator de crescimento semelhante à insulina) para folículos, sendo que a glicose é a principal fonte energética para os ovários (RABIEE et al., 1997), o que justifica o incremento no número de folículos, visto que há maior aporte energético aos ovários.

Conclusão:

Neste trabalho é possível concluir que o uso do composto fosfórico e vitamina B12 (Catosal B12®) possuem efeito positivo sobre a dinâmica folicular de camundongas possibilitando assim um acréscimo na viabilidade para a produção de oócitos.

Referências Bibliográficas:

BARONI, J. I. et al. Aumento do diâmetro folicular em novilhas Jersey sincronizadas para inseminação artificial em tempo fixo correlacionado ao uso de catosal. In: 10º Simpósio do Leite – 4º Fórum Nacional de Lácteos – 2ª Mostra de Trabalhos Científicos, 2013, Erechim. Anais da 2ª Mostra de Trabalhos Científicos do Leite de Erechim, 2013.

BINELLI, M.; PORTELA, M. V.; MURPHY, D. B. Dinâmica ovariana e eficiência reprodutiva: estado da arte. Revista Brasileira Reprodução Animal, Belo Horizonte, n.6, p. 134-139, dez. 2009.

DENIZ, A.; SPIECKERHAUSER, U.; REHAGEN, M. Efficacy of Butafosfan and Vitamin B12 Combination (Catosal B12®) on Biochemical and Hematological Blood Parameters in Dogs Treated with Dexamethasone. International Journal of apply Research of Veterinary Medicine, v.7, n.3, p. 116-129, 2009.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXIV Seminário de Iniciação Científica

LOPES, G. F. et al. Efeito da aplicação de Catosal B12® no início do encarneamento sobre a eficiência reprodutiva de ovelhas mantidas a campo no Rio Grande do Sul/Brasil. *A Hora Veterinária*, v. 30, n. 178, p. 13-17, 2010.

MIGUEL, K. J. Estudo da população de mastócitos e da concentração de histamina na superovulação e na atresia folicular em ratas Wistar pré-púberes. 2002. 77 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Funcional e Molecular na área de Fisiologia)-Universidade Estadual de Campinas, 2002.

PALMER, C.R. Metaphylaxis in postpartum conditions in dairy cows with butaphosphone: A trial under South African conditions. *Journal of South Africa Veterinary Association*, v. 51, p. 239-242, 1980.

PEREIRA, R. A. et al. Metafilaxia com Catosal B12® para incrementar o ganho de peso de bezerros durante o início da recria. *A Hora Veterinária*, v. 32, n. 188, p. 23-26, 2012.

RABIEE, et al. An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio-venous difference methods in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, v.48, p. 9-25, 1995.

RIBEIRO, S. M. L.; Campos, P.; Tirapegui, J. O rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica de seu uso. *Revista Farmacêutica Bioquímica Universal São Paulo*; 31(1): 21-8 jan.-jun. 1995.

ROLLIN, E. et al. The effect of injectable butphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum beta-hydroxybutyrate, calcium, and phosphorus concentrations in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.93, p. 978-987, 2010.

SANTOS, B. F. Criação e manejo de camundongos. In: Andrade A., Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, p.1158. 2002