

Parâmetros físicos do sêmen de galos Leghorn branca para inseminação artificial e produção de ovos férteis

Physical parameters of white Leghorn rooster semen for artificial insemination and production of fertile eggs

Almeida, J

Universidade Santa Úrsula – USU, Botafogo – RJ, Brasil
E-mail: jaciveterinariorj@gmail.com

A inseminação artificial é uma técnica com grande potencial para aplicação em aves, devido ao controle que oferece sobre a reprodução e à sua relativa simplicidade. No entanto, sua aplicação comercial em galinhas ainda é limitada a alguns núcleos de reprodutores na avicultura industrial. O presente estudo visa apresentar os parâmetros físicos do sêmen de galos da raça Leghorn branca, mantidos em criatório particular para a produção de ovos férteis, atendendo à demanda de laboratórios de pesquisa de doenças e desenvolvimento de vacinas. O estudo foi conduzido com 25 galos da raça Leghorn branca, com 24 meses de idade e peso médio de 2,2 kg, mantidos em gaiolas de arame medido (40x40x40 cm), suspensas a 80 cm do solo, dispostas em fileiras triplas, em galpão coberto com paredes teladas e sistemas de ventilação com nebulizadores, para manter a temperatura média entre 27 e 28 °C. A alimentação consistiu em ração com 17% de proteína (Soma®). O manejo foi realizado em Campo Grande, zona Oeste do Rio de Janeiro. A coleta de sêmen foi realizada duas vezes por semana, por meio de massagens abdominais e lombo-sacras, com os reprodutores posicionados sobre uma mesa. O sêmen foi coletado em microtubos Eppendorf® 2 mL, com *pool* de 8 a 10 reprodutores. As coletas ocorreram por volta das 14:00h, momento em que a maioria das matrizes já havia realizado a postura, facilitando a inversão da cloaca para a inseminação artificial. Foram avaliados os parâmetros de volume, turbilhonamento, motilidade, vigor (de forma subjetiva, utilizando microscópio de campo claro), defeitos maiores e totais (microscópio de contraste de fase) e concentração espermática (em câmara hematocitométrica de Neubauer, diluição 1:1000 em solução formol-salina tamponada). Para a análise estatística utilizou-se a média e desvio padrão. Os resultados médios obtidos foram: volume de $0,46 \pm 0,1$ mL, turbilhonamento de $4 \pm 0,4$, motilidade de $93,2 \pm 2,3\%$, vigor de $4,6 \pm 0,5$, defeitos maiores de $3,3 \pm 1,2$, defeitos totais de $3,8 \pm 1,6$ e concentração de $4,9 \pm 0,3 \times 10^9$ SPTZ/mL. A fertilidade final foi superior a 98%. Os bons resultados observados refletem a seleção genética realizada ao longo de várias gerações, o atingimento do máximo potencial de produção dos animais e as boas condições de manejo e alimentação.

Palavras-chave: *Fertilidade. Qualidade do sêmen. Seleção genética.*

Aplicação do extrato hidroetanólico da casca de maracujá na refrigeração de espermatozoides epididimários de bovinos

Application of hydroethanolic extract from passion fruit peel in the refrigeration of bovine epididymal spermatozoa

Kassia Cristina de Barros¹, Alex Souza Rique^{1,2}, Arianne Raquel de Menezes Morais³, Dafiny Caetano Lemos¹, Matheus Soares da Silva Melo^{1,2}, Milena Ornilo da Silva¹, Ian Porto Gurgel do Amaral³ e Sildivane Valcácia Silva^{1,2}

¹Laboratório de Biotecnologia em Reprodução Animal, Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias da UFPB, Areia, PB, Brasil. ³Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Biotecnologia da UFPB, João Pessoa, PB, Brasil.

*E-mail: academicoagatha@gmail.com

A bovinocultura é uma atividade econômica fundamental no Brasil, que tem o maior rebanho comercial do mundo. A criopreservação destaca-se como biotécnica nesse setor por permitir o armazenamento a longo prazo de gametas e embriões de animais com alto valor genético. No entanto, esta biotécnica apresenta desafios, como a baixa taxa de sobrevivência espermática pós-descongelamento. Para minimizar as cioinjúrias, diluidores seminais têm sido desenvolvidos com o objetivo de preservar a estrutura espermática durante a redução de temperatura. Extratos de plantas, ricos em bioativos, surgem como alternativas promissoras para a criopreservação. Além disso, a reutilização de resíduos da indústria alimentícia, como os resíduos do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa*), pode ser uma solução sustentável e economicamente viável como aditivo ou substituto de diluidores seminais. Isso posto, o presente trabalho objetivou avaliar a ação de compostos bioativos oriundos de resíduo de maracujá na criopreservação de espermatozoides bovinos. Os frutos foram obtidos *in natura*, higienizados, sua polpa removida, e as cascas cortadas em pequenos pedaços. Estas últimas foram secas em estufa, trituradas e peneiradas para obtenção de uma fina farinha. O processo extrativo foi feito em etanol 40% e posteriormente, o extrato foi concentrado. O extrato hidroetanólico foi caracterizado quanto aos metabólitos secundários, espectroscopia de infravermelho, açúcares redutores e potencial antioxidante. Foi feita uma solução mãe do extrato em tampão TRIS e após foi adicionado ao diluidor TRIS-gema nas concentrações de 0% (GC), 2,5% (G1) e 5% (G2). Os grupos experimentais foram avaliados quanto a sua capacidade de criopreservação em espermatozoides bovinos refrigerados a 5 °C, durante 72 h. O extrato demonstrou um perfil fitoquímico rico, contendo flavonoides, terpenoides e taninos. No entanto, a quantificação de açúcares redutores ($87,1 \pm 4,7\%$) pode ter sido superestimada devido à interferência de outras biomoléculas presentes. Também apresentou potencial antioxidante com $IC_{50} = 0,068$ mg/mL e equivalência de Trolox TEAC $0,046 \pm 0,004$ mg/mL considerando a concentração de 2,0 mg/mL. Quanto à criopreservação de espermatozoides, estatisticamente, os grupos experimentais contendo o extrato tiveram um desempenho semelhante ao grupo controle. Entretanto, foi possível identificar uma tendência de melhoria da motilidade e do vigor do grupo G1 em relação ao GC nos últimos tempos avaliados. Isso pode se dar pela quantidade de açúcares redutores, flavonoides e demais moléculas com ação antioxidante presentes no extrato, que ao longo do tempo, reduziram os efeitos das espécies reativas de oxigênio. Embora nessas condições o efeito do extrato tenha sido limitado, há a necessidade de estudos adicionais para avaliar outras concentrações e condições de uso, incluindo a congelamento.

Palavras-chave: casca; biotecnologia; diluidor seminal; criopreservação.

Keywords: peel; biotechnology; seminal extender; cryopreservation.

Caracterização *in silico* da ligação entre colesterol e diferentes tipos de albuminas como modelo para estudos sobre função e capacitação espermática.

In silico characterization of cholesterol binding to different types of albumins as a model for studies on sperm function and capacitation.

Eduardo Rodrigues Pessoa¹, Victor Lucas Bernardes França^{2,3}, Denise Damasceno Guerreiro¹, Bruno Ramires Macedo Costa¹, Valder Nogueira Freire³, Arlindo Alencar Moura¹

¹ Department of Animal Science, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil;

² Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil;

³ Department of Physics, Federal University of Ceará, Fortaleza, CE, Brazil
Email: eduardopessoa95@gmail.com

Sperm capacitation is a crucial process in fertilization, involving changes such as the depletion of cholesterol from the sperm membrane. Cholesterol loss is commonly promoted by substances such as high-density lipoproteins, β -cyclodextrins, and bovine serum albumin. In this study, we investigated the binding of cholesterol (CHO) to human, bovine, caprine, and ovine serum albumins (HSA, BSA, CSA, and OSA, respectively) through docking and molecular dynamics, molecular fractionation with conjugated caps (MFCC) analysis, and quantum biochemical methods. Experimental structures of albumins and cholesterol, obtained from the Protein Data Bank and PubChem, were prepared and optimized for molecular docking. AutoDockTools 1.5.7 was used for charge application, polar hydrogen retention, and torsion tree definition, while AutoDock Vina 1.1.235 performed blind docking with flexible CHO and rigid albumins. Selected binding modes were refined by molecular dynamics in GROMACS 2021.2, considering binding site frequency and docking score. Interactions between cholesterol, serum albumin, and nearby water molecules were analyzed through quantum biochemistry. 2D schemes of the refined sites were generated based on standard geometric criteria, and density functional theory (MFCC) calculations described non-covalent interactions within a 10.0 Å radius. The results of this study highlight the relevance of serum albumins in the removal and transport of cholesterol, a process fundamental to sperm capacitation. Computational analysis revealed that HSA and OSA have a higher binding affinity for cholesterol, suggesting a superior potential of these proteins in modulating sperm membrane fluidity. These findings expand the understanding of the biochemical mechanisms involved in capacitation and may contribute to the development of strategies that optimize in vitro fertilization and other assisted reproductive techniques.

Palavras-chave: *Albumins, Cholesterol, Sperm Capacitation, In Silico*

Terapia com Plasma Rico em Plaquetas (PRP) na Endometrite Crônica em Mulheres e na Endometrite Persistente Pós-Cobertura em Éguas: Uma Abordagem Comparativa

Platelet Rich Plasma (PRP) Therapy in Chronic Endometritis in Women and Persistent Breeding-induced Endometritis (PBIE) in Mares: A Comparative Approach.

Eveline de Fátima Lima Catão^{1*}, Jêmede Duarte Valença¹, Gilvannya Gonçalves de Sobral¹, Marcelo Pessoa², Régis de Sousa Barbosa dos Santos³, Andreza Rodrigues Viana⁴, Breno Barros de Santana⁵; Gustavo Ferrer Carneiro¹

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil;

²Central de Reprodução MP, Bauru, SP, Brasil; ³Veterinário Autônomo, Macaé, RJ, Brasil; ⁴Veterinário Autônomo, Garanhuns, PE, Brasil; ⁵Pós graduação Repro Equus – Instituto Educacional de Santa Catarina – IESC - Faculdade Guaraí, TO, Brasil

*E-mail: gustavo.ferrer@ufrpe.br

A endometrite crônica (EC) em mulheres e a endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) em éguas são condições inflamatórias que impactam negativamente a fertilidade, resultando em falhas de implantação e redução das taxas de gravidez / prenhez. Ambas apresentam etiologia multifatorial, frequentemente associada a infecções microbianas, disfunção imunológica, retardo na resposta inflamatória uterina e resistência a tratamentos convencionais. O plasma rico em plaquetas (PRP) tem se destacado como uma alternativa terapêutica inovadora, com propriedades regenerativas e imunomoduladoras, sendo utilizado tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária para restaurar a funcionalidade endometrial. O objetivo desse estudo foi avaliar retrospectivamente a eficácia do PRP no tratamento da EC em mulheres e da EPPC em éguas suscetíveis baseado na capacidade de eliminação da infecção/inflamação uterina em até 72 horas após inseminação ou monta natural. Em humanos, foram analisados dados de 50 pacientes (idade média de 40,14 anos) tratadas com PRP entre 2020 e 2023, todas com falhas reprodutivas prévias e diagnóstico de EC confirmado por imuno-histoquímica (CD138+). O PRP (0,5 a 1,0 mL) foi infundido no endométrio entre o 10º e 12º dia do ciclo menstrual, após falha com tratamento padrão recomendado pelos guidelines do Centers for Disease Control and Prevention (CDC). A resposta foi avaliada por nova biópsia endometrial no ciclo seguinte. Na medicina veterinária, foram analisadas 62 éguas com diagnóstico de EPPC, sendo 18 matrizes, 17 doadoras de embriões e 10 receptoras. O PRP foi administrado por infusão intrauterina de 20 mL, e os desfechos avaliados incluíram a taxa de prenhez (matrizes e receptoras) e/ou lavado positivo pós coleta de Embriões nas doadoras. Algumas éguas que repetiram o tratamento foram consideradas como outro animal. Em mulheres, das 29 pacientes com persistência de EC após antibioticoterapia, todas apresentaram cura comprovada por imuno-histoquímica após a infusão de PRP. Dessas, 21 obtiveram gestação clínica (72,4%), evidenciando a eficácia do PRP na restauração da receptividade endometrial. Nas éguas, 66,1% (41/62) obtiveram resultado positivo. Entre as 26 matrizes tratadas, 15 obtiveram prenhez após uma única aplicação de PRP, 3 necessitaram de duas aplicações para alcançar a prenhez e 8 não responderam ao tratamento. Entre as 26 coletas de embriões, 13 responderam com uma única aplicação de PRP, 4 necessitaram de até três aplicações para obtenção de um embrião e 8 não apresentaram resposta aos tratamentos. Esses achados demonstram um impacto positivo do PRP na recuperação endometrial e no aumento da fertilidade, embora a resposta ao tratamento possa variar entre os indivíduos. Os resultados sugerem que o PRP é uma abordagem potencialmente eficaz para o tratamento de EC em mulheres e EPPC em éguas, promovendo regeneração tecidual e melhorando os desfechos reprodutivos em ambas as espécies. A similaridade fisiopatológica entre a EC em mulheres e a EPPC em éguas reforça o potencial translacional dessa terapia, incentivando o desenvolvimento de novos protocolos terapêuticos baseados na medicina regenerativa.

Palavras-chave: falha gestacional, equino, mulheres, medicina regenerativa

Keywords: pregnancy failure, equine, women, regenerative medicine

Avaliação da congestão presente nas artérias coronárias do coração de ratas prenhes expostas cronicamente ao isoflurano

Evaluation of the congestion present in coronary vessels of the heart of pregnant rats chronically exposed to isoflurane

Isabelle Vitória Gonçalves Amandes¹, Guilherme Schiess Cardoso², Maria Fernanda Frasson Pontes¹, Giovana Negretti Gorini¹, Ana Paula Frederico Rodrigues Loureiro Bracarense³, Phelipe Oliveira Favaron^{4*}

¹Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina-PR, Brasil, ²Departamento de Clínicas Veterinárias - UEL, ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – UEL, ⁴ Departamento de Biologia Geral - UEL

*E-mail: phelipe@uel.br

O isoflurano é o anestésico mais utilizado na medicina veterinária, porém são escassos estudos sobre os efeitos que a exposição crônica aos seus resíduos, presentes em ambientes cirúrgicos, pode causar ao sistema cardiovascular, sendo sugerida a possibilidade do aumento de abortos e doenças congênitas na prole. O comprometimento do tecido cardíaco materno pode levar a uma diminuição do fluxo sanguíneo uterino e consequente diminuição da circulação uteroplacentária, bem como o suprimento para os embriões e fetos. Objetivou-se determinar possíveis danos cardíacos causados pela exposição crônica ao isoflurano. Ao todo, 19 ratas Wistar prenhes foram alocadas em dois grupos experimentais de acordo com a distância do aparelho de anestesia (Novitech, 15750 Takaoka SAT 500): grupos ZRA – zona respiratória do anestesiologista (n=10) e ZRC – zona respiratória do cirurgião (n=9), os quais ficaram a 1 e 2 metros do aparelho de anestesia, respectivamente. As fêmeas foram submetidas a 4 horas de exposição diária ao isoflurano (1,5% V de isoflurano em fluxo de 2L/min de ar comprimido) por 18 dias consecutivos. O grupo controle (n = 8), foi exposto às mesmas condições de manejo, mas sem exposição ao anestésico. Após o período de exposição, as 27 ratas foram eutanasiadas pela técnica de decapitação por guilhotina e as amostras fixadas em formaldeído 10% tamponado. Os corações foram coletados e analisados macroscopicamente, comparando os diferentes grupos. A avaliação do grau de congestão das artérias coronárias e seus ramos foi realizada de maneira encoberta, por meio de fotografias individuais e mensuração ao olho, sendo classificadas em intensidades: 0 para a ausência de congestão, 1 para congestão leve, 2 para moderada e 3 para severa. O estudo foi aprovado pela CEUA-UEL (005.2023). Não houve diferença macroscópica entre os grupos. As artérias coronárias originaram-se diretamente da aorta, ramificando-se em artéria coronária direita e esquerda, e emitiram os ramos interventriculares anterior (coronária esquerda) e posterior (coronária direita). Ao analisar a congestão dos vasos, as médias dos valores obtidos foram: grupo controle: 1,7; grupo ZRA: 2,1; grupo ZRC: de 2. Apesar de subjetivos, os resultados sugerem maior grau de congestão das artérias coronárias nos grupos expostos ao anestésico. Tais vasos são responsáveis por oxigenação e nutrição do miocárdio, podendo indicar alteração da função cardíaca e consequente risco ao suprimento uterino. Apoio financeiro: CNPq, Processo 421153/2023-7.

Palavras-chave: congestão, isoflurano, exposição crônica

Keywords: congestion, isoflurane, chronic exposure.

Avaliação dos efeitos da exposição ao isoflurano sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central em fetos de ratos*Evaluation of the effects of exposure to isoflurane on the development of the central nervous system in rat fetuses***Giovana Negretti Gorini^{1*}, Maria Fernanda Frasson Pontes¹, Caio Garcia Barbosa da Silva¹, Isabelle Vitória Gonçalves Amandes¹, Laura Cardoso Fontes¹, Carlos Alberto Miqueloto², Guilherme Schiess Cardoso³, Phelipe Oliveira Favaron²**¹Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina-PR, Brasil; ² Departamento de Biologia Geral – UEL; ³ Departamento de Clínicas Veterinárias - UEL

O isoflurano é um fármaco amplamente utilizado na medicina e medicina veterinária. Devido à falta de um sistema de exaustão em centros cirúrgicos, resíduos deste anestésico podem contaminar as salas de cirurgia, expondo os profissionais de saúde que atuam no ambiente. A exposição crônica a estes resíduos está relacionada a alterações orgânicas, principalmente no sistema reprodutivo, além de teratogenicidade. Objetivou-se determinar os efeitos da exposição crônica ao isoflurano sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central em embriões de ratas Wistar. As fêmeas foram expostas ao isoflurano, 1,5% V a 2L/min, em centro cirúrgico sem sistema de exaustão, por 4 horas consecutivas, a 1m ou 2m de distância do aparelho de anestesia, simulando respectivamente a zona respiratória do anestesista (ZRA) e do cirurgião (ZRC), desde o primeiro dia até o 12º dia de gestação. Os animais foram eutanasiados 24h após a última exposição por meio de decapitação por guilhotina e os úteros gravídicos foram fixados em formaldeído 10%. Foram analisados todos os embriões das ratas expostas dos grupos ZRA (n = 115) e ZRC (n=114). O grupo controle (n = 117) foi exposto sob as mesmas condições de manejo, com exceção do gás anestésico. O *crown-rump* foi utilizado como parâmetro para avaliar o desenvolvimento embrionário. Todos os protocolos foram aprovados pela CEUA-UEL (005.2023). Observou-se que 21,05% dos embriões do grupo controle apresentaram tamanho inferior ao esperado, enquanto apenas 2,6% dos embriões do ZRA e 4,51% do ZRC ficaram abaixo do esperado. Foi registrado o não fechamento do tubo neural na região do 4º ventrículo em 23,08% dos embriões do grupo controle, enquanto 34,78% do ZRA e 47,37% do ZRC apresentaram a mesma alteração. O teste exato de Fisher ($p < 0,05$) foi aplicado para avaliar a associação entre o tratamento com o fármaco e as alterações observadas. O resultado obtido para o tamanho dos embriões indica que há diferença entre o grupo controle e os tratados ($p = 0,0001$), mostrando uma maior frequência de embriões menores que o esperado no grupo controle. Para o não fechamento do 4º ventrículo, também houve diferença significativa entre o controle e os tratamentos ($p = 0,0251$), sugerindo que os resíduos do gás influenciaram no atraso do desenvolvimento do sistema nervoso. Não houve diferença entre os grupos tratados para as características analisadas ($p = 0,311$), indicando um efeito similar em ambas as exposições. Conclui-se que o isoflurano pode provocar alterações no desenvolvimento embrionário do sistema nervoso central, reforçando a teoria de que a exposição crônica a esse gás anestésico pode causar alterações teratogênicas. Estudos que mimetizam um ambiente cirúrgico associados à exposição de resíduos anestésicos são de extrema importância para reconhecer os riscos às gestantes e ao desenvolvimento embrionário, sendo uma questão de saúde pública. Apoio financeiro: CNPq, processo 421153/2023-7. Bolsista CNPq, modalidade I.C, processo 146615/2024-7.

Palavras-chave: *Exposição ocupacional, teratogênese, crown-rump length.***Keywords:** *Occupational exposure, teratogenesis, crown-rump length*

L-carnitine and melatonin mitigate the oxidative stress during vitrification and warming of bovine cumulus-oocyte complexes*L-carnitina e melatonina atenuam o estresse oxidativo causado pela vitrificação e aquecimento em complexos cumulus-oócitos bovinos***Vivian Angélico Pereira Alfradique¹, Gicele Santos Apolinario^{1*}, Thais de Almeida Oliveira¹, Thamiris Elias Cardoso da Silva¹, Camila Pientznauer Soares Monte Vianna¹, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista¹, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan¹**¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

*E-mail: gicelesantos@id.uff.br

Oocyte vitrification procedures cause significant oxidative damage, which compromises cryosurvival and developmental competence. In this context, evidences suggest that exogenous antioxidants can reduce the oxidative damage imposed by cryopreservation. The aim of this study was to compare the effect of non-enzymatic antioxidant supplementation during vitrification and warming of cumulus-oocyte complexes (COCs). For this, 400 bovine COCs graded as I and II were randomly allocated into the experimental groups: positive control (POSControl; fresh COCs; n=88); negative control (NEGControl; vitrified/warmed in the absence of antioxidant, n=75); glutathione (GSH; vitrified/warmed in the presence of 5 mM GSH; n=83); L-carnitine (LC; vitrified/warmed in the presence of 3.03 mM of LC, n=76) and melatonin (MLT; vitrified/warmed in the presence of 10⁻⁹ M of MLT, n=78). COCs were washed in holding medium (HM; TCM199 with Hanks' salts and 20% fetal bovine serum), and then a pool of five COCs was placed and maintained for 3 min in an equilibrium solution [HM supplemented with 7.5% ethylene glycol (EG) and 7.5% dimethyl sulfoxide (DMSO)]. After this, the COCs were transferred to a vitrification solution (HM supplemented with 15% EG, 15% DMSO, and 0.5 M of sucrose), placed in a Cryotop[®] device, and immersed in liquid nitrogen for up to 1 min. The warming step occurred by submerging the tip of Cryotop[®] in the HM containing 1 M of sucrose at 37 °C for 1 min. After that, the COCs were transferred to HM supplemented with 0.5 M of sucrose for 3 min. Subsequently, COCs were maintained for 5 min in HM supplemented with 0.25 M of sucrose and then washed for 5 min in HM. After warming, the COCs were denuded using 0.1% hyaluronidase and analyzed for GSH (Cell Tracker Blue CMF2HC dye), reactive oxygen species (ROS; H₂DCFDA dye) levels, mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi$ m, JC-1 dye) and expression of genes related to antioxidant enzymes (*SOD1*, *SOD2* and *GPX1*), regulation of ferroptosis (*ACSL4* and *GPX4*) and ATP production (*ATP6* and *ATP8*). The variables were subjected to the chi-square test or Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test (P<0.05). Data are presented as mean $\pm$ SEM. Oocytes from the NEGControl group exhibited an increase (P<0.05) in ROS levels and a reduction (P<0.05) in GSH levels compared to the fresh group. However, the supplementation of GSH, LC, or MLT in the vitrification/warming solutions was able to restore the intracellular ROS and GSH levels similarly (P>0.05) to those observed in the fresh group. Vitrified oocytes presented higher (P>0.05) $\Delta\Psi$ m compared to fresh oocytes. Although the values remained higher (P<0.05) than those observed in fresh oocytes (1.4 $\pm$ 0.1 red/green fluorescence ratio), the LC or MLT (1.7 $\pm$ 0.1 and 1.7 $\pm$ 0.1, respectively) supplementation was capable of reducing (P<0.05) the $\Delta\Psi$ m compared to vitrified/warmed oocytes with or without GSH (2.0 $\pm$ 0.1 and 2.0 $\pm$ 0.1, respectively). In cumulus cells, the NEGControl group downregulated the mRNA expression of *ATP6* and *ATP8* (negative vs positive control). However, LC or MLT supplementation promoted the upregulation (P<0.05) of *SOD2* or *SOD1* transcripts, respectively. In oocytes, *ACSL4*, *ATP6*, *ATP8*, and *GPX1* transcripts were upregulated (P<0.05) in all vitrified/warmed oocytes compared to fresh oocytes; besides, the presence of LC or MLT during vitrification/warming upregulated (P<0.05) the *SOD1* transcript compared with the fresh group. In conclusion, the supplementation of LC or MLT in vitrification and warming solutions was capable of alleviating the oxidative stress caused by vitrification at molecular and cellular levels. Acknowledgments: CAPES, FAPERJ, and CNPq.

Keywords: Cryopreservation, Oocyte, GV stage, Non-enzymatic antioxidant.**Palavras-chave:** Criopreservação, Oócito, Estágio VG, Antioxidante não enzimático.

Consumo de dieta hiperproteica diminui a proporção de folículos atrésicos ovarianos e mododifica a duração do ciclo estral em camundongos fêmeas nulíparas

High protein diet intakes decreases the proportion of ovarian atretic follicles and modifies the duration of the estrous cycle in nulliparous female mice

**Stephanny Rodrigues Rainha¹; José Andrés Nivia Riveros¹;
Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida¹**

¹ Laboratório de Biologia Estrutural e Reprodução, Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
E-mail: stephannyrodrigues@gmail.com

O uso de dietas com altos níveis de proteína é uma prática comum na rotina de pessoas que desejam diminuir o peso corporal, assim como na produção animal para melhorar o desempenho zootécnico. Entretanto, os efeitos dessas dietas sobre a função reprodutiva feminina ainda não são bem compreendidos. Este estudo objetivou avaliar o efeito do consumo de dieta hiperproteica sobre a morfologia ovariana em fêmeas nulíparas. Camundongos Swiss fêmeas adultas (n=20) foram divididas em dois grupos experimentais: NP- dieta controle, (14% de proteína bruta, n=10); HP- dieta hiperproteica, (55% de proteína bruta, n=10). Ambas as dietas foram fornecidas *ad libitum* durante três semanas e o ciclo estral foi monitorado diariamente por meio de lavado vaginal. As fêmeas foram eutanasiadas ao final do tratamento e separadas em quatro subgrupos experimentais de acordo com a fase do ciclo estral estabelecida antes da eutanásia: NPF- dieta controle e fase folicular; NPL- dieta controle e fase lútea; HPF- dieta hiperproteica e fase folicular; HPL- dieta hiperproteica e fase lútea. Os ovários foram coletados e processados para avaliação histomorfométrica da densidade folicular ovariana e proporção volumétrica dos componentes estruturais ovarianos-(CEUA^o343/2022). Os resultados foram analisados pelo teste estatístico de Tukey-Kramer com valor de significância de $P < 0,05$. Analisando o ciclo estral, observou-se aumento da duração do mesmo ($P=0,031$) decorrente à maior duração da fase folicular ($P=0,004$) e redução da fase lútea ($P=0,002$) no grupo HP em comparação ao grupo NP. Em relação aos ovários, na fase folicular, o grupo HPF apresentou menor densidade e proporção de folículos atrésicos das categorias primordiais (e secundários ($P < 0,05$)) quando comparado ao grupo NPF ($P < 0,05$). Ainda na fase folicular, o grupo HPF apresentou maior proporção de folículos pré-antrais e menor proporção de folículos antrais ($P < 0,05$). Ao se avaliar a fase lútea, o grupo HPL apresentou menor densidade e proporção de folículos atrésicos secundários ($P < 0,05$), não sendo a densidade folicular das demais categorias afetadas pelo tratamento ($P > 0,05$). Os resultados encontrados sugerem que o consumo prolongado de dieta hiperproteica modifica o ciclo reprodutivo, aumentando a fase folicular e assim os dias férteis nas fêmeas, acompanhado da diminuição da atresia folicular, especialmente na fase folicular. Assim, sugere-se uma maior síntese de fatores de crescimento e gonadotrofinas, que modulam o desenvolvimento folicular e consequentemente o comportamento sexual.

Palavras-chave: fertilidade, histomorfometria, foliculogênese, dieta hiperproteica

Keywords: fertility, histomorphometry, folliculogenesis, high-protein diet

Estudo retrospectivo de distúrbios reprodutivos por consumo de plantas tóxicas em bovinos e pequenos ruminantes atendidos pelo Centro de Desenvolvimento da Pecuária no período de 2016 a 2024

Retrospective study about reproductive disorders caused by the consumption of toxic plants in cattle and small ruminants treated by the Centro de Desenvolvimento da Pecuária from 2016 to 2024

Matheus Paiva Rocha¹, Catherine Peixoto Cavalcante¹, Rafaela Jesus dos Santos¹, Milena Ferreira dos Santos¹, Flávio Oliveira Pimentel¹, Ana Paula Gonçalves Ferreira¹, Lais Gouveia Caymmi¹, Múcio Fernando Ferraro de Mendonça¹.

¹Centro de Desenvolvimento da Pecuária, Departamento de Anatomia, Patologia e Clínicas Veterinárias, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, Brasil.

*E-mail: paivamatheus490@gmail.com

Intoxicações por plantas tóxicas tornam o cenário da pecuária no Brasil desafiador, uma vez que geram perdas diretas, sendo por mortes em rebanhos, redução de índices reprodutivos (abortos, má formações), diminuição da produtividade geral, e perdas indiretas, relacionadas aos custos de implementação de medidas para evitar o contato dos animais com as plantas tóxicas na pastagem, como cercas, pastoreio alternativo, compra de novos animais para substituição dos que morreram e despesas com o diagnóstico e tratamento das intoxicações. No Brasil, as perdas econômicas relacionadas ao consumo dessas plantas são difíceis de serem determinadas devido à escassez de dados. Portanto, objetivou-se com este trabalho realizar um estudo retrospectivo de casos de distúrbios reprodutivos devido ao consumo de plantas tóxicas por bovinos e pequenos ruminantes atendidos pelo Centro de Desenvolvimento da Pecuária (CDP), da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (EMEVZ - UFBA), no período correspondente aos anos de 2016 à 2024. Para tanto, foram avaliados todos os prontuários de casos de intoxicações por plantas que estavam relacionados a distúrbios reprodutivos, sendo estes abortos e má formações fetais, e registradas as informações a respeito da epidemiologia, etiologia e sinais clínicos. No período em questão, foram atendidos pelo CDP um total de 1.793 bovinos e 1.048 pequenos ruminantes provenientes de 26 municípios baianos, sendo que apenas cinco destes municípios constaram distúrbios reprodutivos. Dentro da espécie bovina, 126 casos são referentes a intoxicações com diferentes quadros clínicos por plantas tóxicas, sendo que nos atendimentos de pequenos ruminantes, foram registrados 35 casos de intoxicações no geral. Contudo, os quadros relacionados a distúrbios reprodutivos para bovinos foram 5 e para pequenos ruminantes 3, representando 3,9% e 8,6% do total, respectivamente. Quanto às plantas em questão, tem-se registrado em todos os casos relacionados a distúrbios reprodutivos a planta *Mimosa tenuiflora*, conhecida popularmente por jurema preta. A planta representa para ambos os grupos de animais 4,97% do total das intoxicações registradas. Além disso, as localidades no qual foram constatados os distúrbios reprodutivos de pequenos ruminantes tiveram enfoque no município de Ipirá, enquanto os bovinos foram dos municípios de Santo Amaro, São Sebastião do Passé, Olindina e Cachoeira, todos localizados na Bahia. Quanto aos sinais clínicos observados pelo consumo da *Mimosa tenuiflora*, tem-se má formações congênitas, sendo observado nos atendimentos de pequenos ruminantes palatosquise e artrogripose, e nos de bovinos, polimelia, deformidade flexural e microftalmia. É evidente que o conhecimento a respeito das plantas tóxicas se faz necessário, tanto para produtores, como para profissionais atuantes na área de ciências agrárias, uma vez que ajuda a minimizar os impactos negativos na pecuária através da prevenção e controle dos pastos.

Palavras-chave: bovinos, distúrbios reprodutivos, pequenos ruminantes, sinais clínicos.

Keywords: cattle, reproductive disorders, small ruminants, clinical signs.

Prolapso vaginal em rato wistar (*Rattus norvegicus*) – Relato de caso
*Vaginal prolapse in a wistar rat (*Rattus norvegicus*) – Case report*

Luiz Henrique Moraco Corrêa, Natália de Oliveira Fonseca, Carolina Santos Lopes, Letícia Sayuri Setoguchi, Vanessa Balan Júlio, Bruno Oliani de Risso, Fabiana Ferreira de Souza, Sheila Canevese Rahal

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ),
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, São Paulo, Brasil

*Email: luiz.moraco@unesp.br

O prolapso vaginal pode ser classificado em I, II, III considerando o grau de eversão da mucosa vaginal. As causas são ainda incertas, contudo, a principal hipótese é a estimulação estrogênica durante o estro. A principal consequência do tecido prolapsado são lesões associadas ou não a automutilação, que devem ser tratadas. O prolapso pode ser observado em diferentes espécies, contudo nos ratos (*Rattus norvegicus*), atualmente criados como *pets* não-convencionais, a alteração não foi ainda descrita. Então, o objetivo deste relato foi descrever o prolapso vaginal em uma fêmea de rato da linhagem Wistar. Uma rata com ~1,5 ano de idade e 400 gramas de peso vivo foi atendida, no Setor de Reprodução Animal, com a queixa de eversão da mucosa vaginal há 24 horas. O proprietário relatava ainda que, recentemente, havia introduzido 2 machos não-castrados, em caixa separada, porém, próximos a caixa em que a fêmea estava. Ao exame clínico, notou-se prolapso vaginal de ~1,5 cm, o qual foi reduzido com o auxílio de um *swab* vaginal e lubrificante. Neste atendimento, a fase do ciclo estral não foi determinada. Em torno de 24 horas após o primeiro atendimento, o animal retornou em vista da recidiva. Optou-se por nova redução, ovariohisterectomia (OHE) e histeropexia no peritônio parietal, após anestesia inalatória. Durante o procedimento foi visualizada intussuscepção do corno uterino esquerdo e corpo do útero. O útero foi reposicionado para prosseguir com a ligadura do pedículo esquerdo. No conhecimento dos autores, este é o primeiro relato de prolapso vaginal espontâneo em ratos. O reposicionamento da vagina não garante a ausência de recidivas, já que o tecido prolapsado sofre alterações na contratilidade da musculatura lisa. Além disso, o estrógeno sérico elevado reduz a expressão de receptores de estrógeno alfa, o que reduz a quantidade de colágeno no tecido, propiciando o prolapso vaginal. A redução associada com a OHE pode ser considerado um tratamento para o prolapso vaginal espontâneo em ratas.

Palavras-chave: Estro, Mercol, Ovariohisterectomia, Pet-não-convencional.

Keywords: Estrus, Mercol, Ovariohysterectomy, Unusual-pets.

Efeitos do exercício resistido na função testicular de camundongos obesos*Effects of resistance exercise on testicular function in obese mice*

Karen Castillo Quintana^{1*}, Elvira Elizabeth Márquez Sánchez², Aline da Silva Lima², Cristian Ferreira Corona¹, Felipe Alves Alencar Lima¹, Jessica Sabrina Canedo da Silva Sumensse¹, Jean Franciesco Vettorazzi^{1,2}, Weber Beringui Feitosa^{1,2}

¹Programa de Pós-graduação em Biociências. ²Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza. Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu-PR, Brasil;

*E-mail: karenquintana2001@gmail.com

A obesidade, uma condição prevalente mundialmente, está associada a disfunções hormonais, como a redução da testosterona e o aumento do estradiol, que comprometem a espermatogênese e impactam negativamente a fertilidade masculina. Além disso, a obesidade altera o metabolismo lipídico nos testículos, induzindo estresse oxidativo e prejudicando a qualidade espermática. O exercício resistido, por outro lado, tem demonstrado efeitos benéficos sobre a fertilidade, incluindo a melhora dos níveis hormonais e a redução do estresse oxidativo. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do exercício resistido sobre a função testicular em camundongos machos obesos. Para isso, 36 camundongos da linhagem C57BL/6 foram alimentados com dieta padrão (4% de gordura) ou hiperlipídica (45% de gordura) por 60 dias. Após esse período, os animais foram divididos em quatro grupos experimentais, com metade dos camundongos de cada dieta sendo submetida ao exercício resistido por 70 dias. Os grupos experimentais foram: controle sem exercício (C), controle com exercício (CE), obesidade sem exercício (O) e obesidade com exercício (OE). Após os tratamentos, os camundongos foram eutanasiados para coleta dos testículos, que foram pesados e processados para análises histológicas (Hematoxilina-eosina) e imunofluorescência. Para a imunofluorescência, utilizou-se o anticorpo primário anti-BiP de coelho (1:200) e o secundário anti-IgG de cabra (1:400). A quantificação da circunferência e do diâmetro dos túbulos seminíferos, assim como da fluorescência da BiP, foi realizada no software ImageJ. A análise estatística foi conduzida no software SigmaPlot 14.0. Os dados foram previamente testados quanto a normalidade (Shapiro-Wilk) e a homogeneidade de variâncias (Levene). Em seguida, realizou-se ANOVA de dois fatores (two-way ANOVA), e as comparações múltiplas foram feitas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A obesidade reduziu significativamente a relação peso testicular/corporal ($0,526 \pm 0,0338$) em comparação com os grupos C ($0,72 \pm 0,04$) e CE ($0,73 \pm 0,03$). No entanto, o exercício resistido atenuou essa redução no grupo OE ($0,63 \pm 0,02$). Não foram observadas diferenças significativas nas medidas de circunferência (C: $60,28 \pm 2,43 \mu\text{m}$; CE: $60,18 \pm 2,47 \mu\text{m}$; O: $59,91 \pm 2,11 \mu\text{m}$; OE: $60,46 \pm 2,19 \mu\text{m}$) e diâmetro (C: $11,53 \pm 0,26 \mu\text{m}$; CE: $11,57 \pm 0,29 \mu\text{m}$; O: $11,45 \pm 0,22 \mu\text{m}$; OE: $11,51 \pm 0,24 \mu\text{m}$) dos túbulos seminíferos entre os grupos. A expressão de BiP, uma chaperona associada à homeostase celular e à espermatogênese, foi avaliada por imunofluorescência. Nos grupos controle (C e CE), a BiP apresentou maior expressão nas células de Leydig, enquanto no grupo O, a intensidade de fluorescência foi reduzida nessas células, indicando desregulação da homeostase celular devido à obesidade. No grupo OE, a expressão de BiP foi restaurada, sugerindo que o exercício físico pode modular positivamente o estresse do retículo endoplasmático nos testículos. Os resultados deste estudo sugerem que o exercício resistido atenua os efeitos negativos da obesidade na função testicular, preservando a relação peso testicular/corporal e restaurando a expressão de BiP nas células de Leydig. Isso sugere que o exercício físico pode modular positivamente a homeostase celular e reduzir o estresse do retículo endoplasmático, contribuindo para a manutenção da espermatogênese em condições de obesidade.

Palavras-chave: Infertilidade masculina; Chaperona, BiP, espermatogênese.

Keywords: Male infertility; Chaperone; BiP, Spermatogenesis.

Avaliação do uso de antimicrobianos em bezerros e novilhas em fazendas leiteiras da Argentina

Evaluation of antimicrobial usage in young cattle of dairy farms from Argentina

M. J. Marconi^{a, b, c}, L.V. Madoz^{a, c}, F. Aliverti^b, M. Lucas^d, J. Bettridge^e, L. de la Sota^{a, c}, K. Reyher^e, N. Mestorino^b, M. Jaureguiberry^{a, c, f, *}

^aConsejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina.

^bLaboratorio de Estudios Farmacológicos y Toxicológicos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (FCV-UNLP), La Plata, Argentina.

^cInstituto de Investigaciones en Reproducción Animal, FCV-UNLP, La Plata, Argentina.

^dFacultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Pilar, Argentina.

^eBristol Veterinary School, University of Bristol, Bristol, UK.

^fCentro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias, FCV-UNLP, Chascomús, B7130FCA, Argentina.

*Email: mjaureguiberry@fcv.unlp.edu.ar

The early stages of animal development have a significant impact on future productive and reproductive performance. It is known that incorrect antimicrobial use (AMU) increases the selection of resistant bacteria, making the treatment of infectious diseases challenging. In this sense, and considering that calves and heifers represent the reproductive future of the dairy farm, it is important to quantify and characterize AMU to develop strategies for the proper use of antimicrobials during these stages. This study aimed to quantify and compare AMU in calves and heifers using a mass-based metric over a year. A longitudinal data collection spanned over 15 months, between March 2021 and June 2022, on 12 dairy farms belonging to two regions of central-eastern Argentina. Calves were defined as birth to weaning and heifers from weaning to first calving. Each dairy farm was visited five times, with an interval of around three months between visits. During the first visit, two bins and bags were brought to the farm to collect used medicine bottles. During each visit from the second to the fifth, the bottles collected into the bins and bags were counted and recorded. Statistical analyses were performed using RStudio. To characterize the AMU in young cattle, the median, and interquartile range (IQR) were used. The difference between groups (aggregated young cattle vs. calves, or aggregated young cattle vs. heifers) was assessed using the Wilcoxon signed-rank test. The Pearson correlation (r) between AMU in calves and heifers separately vs. AMU in aggregated young cattle (calves and heifers together) was estimated by cor-test. When calves and heifers were considered together, median AMU was 22.30 mg/kg/year (IQR = 57.21 mg/kg/year). When calves and heifers were considered separately, median AMU for calves was 188.29 mg/kg/year (IQR=228.88 mg/kg/year) and median AMU for heifers was 15.15 mg/kg/year (IQR=45.71 mg/kg/year). There was a significant difference between the median AMU for aggregated young cattle vs. calves and heifers separately (22.30 vs. 188.29 mg/kg/year; $p=0.0005$ [aggregated vs. calves, respectively]; and 22.30 vs. 15.15 mg/kg/year; $p=0.001$ [aggregated vs. heifers, respectively]). In the case of the European Medicines Agency's Category B antimicrobials which are critical for human health, when calves and heifers were considered together, the median was 0.67 mg/kg/year (IQR=1.54 mg/kg/year). When calves and heifers were considered separately, the median for calves was 5.77 mg/kg/year (IQR=8.96 mg/kg/year) and the median for heifers was 0.06 mg/kg/year (IQR=0.41 mg/kg/year). There was a significant difference between Category B AMU in aggregated young cattle vs. calves and heifers separately (0.67 vs. 5.77 mg/kg/year; $p=0.009$ [aggregated vs. calves, respectively]; and 0.67 vs. 0.06 mg/kg/year; $p=0.009$ [aggregated vs. heifers, respectively]). AMU in heifers was positively correlated with aggregated AMU in young cattle (AMU in calves and heifers together, $r=0.97$, $p<0.0001$), but AMU in calves did not show a correlation with aggregated AMU ($r=0.49$, $p=0.11$). Category B AMU in calves and heifers was positively correlated with aggregated Category B AMU ($r=0.94$, $p<0.0001$ and $r=0.74$, $p=0.006$, respectively). This study highlights the importance of measuring AMU in calves and heifers separately, taking into account the antimicrobial category used. These types of analyses allow us to develop strategies to target antimicrobial stewardship on farms most effectively.

Key words: ANTIMICROBIAL USE – DAIRY CATTLE

L-carnitine or melatonin supplementation during vitrification and warming enhances the nuclear maturation and viability of immature bovine *cumulus*-oocyte complexes

Thamiris Elias Cardoso da Silva^{1*}, Vivian Angélico Pereira Alfradique¹, Thais de Almeida Oliveira¹, Gicele Santos Apolinario¹, Thais Gomes de Oliveira¹, Ribrio Ivan Tavares Pereira Batista¹, Joanna Maria Gonçalves Souza-Fabjan¹

¹Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

*E-mail: thamiriseccs@id.uff.br

Oocyte vitrification has great importance in cattle breeding programs, as it enables the indefinite storage of female gametes. However, this technique causes oxidative damage, compromising oocyte developmental competence. In this context, several exogenous antioxidants have been investigated as a potential strategy to mitigate the cryodamage during the vitrification process. Therefore, this study aimed to compare the effects of different non-enzymatic antioxidants [reduced glutathione (GSH), L-carnitine, or melatonin] supplementation during vitrification and warming, in order to identify the best molecule to improve the cryotolerance of immature bovine *cumulus*-oocyte complexes (COCs). To achieve this, bovine COCs classified as grade I or II (n = 721) were randomly distributed into experimental groups based on the composition of the vitrification/warming solutions: negative control – no antioxidant supplementation (negative control; n=126); GSH – supplementation with 5 mM GSH (n=137); LC – supplementation with 3.03 mM L-carnitine (n=115); MLT – supplementation with 10⁻⁹ M melatonin (n=112). Non-vitrified (fresh) COCs served as a positive control group (n=231). A pool of five COCs was maintained in a holding medium (HM; TCM199 with Hanks' salts and 20% fetal bovine serum), and then placed in equilibration solution [HM supplemented with 7.5% dimethyl sulfoxide (DMSO) and 7.5% ethylene glycol (EG)] for 3 min. Subsequently, the COCs were exposed to vitrification solution (HM supplemented with 15% DMSO, 15% EG, and 0.5 M sucrose), loaded onto Cryotop[®] device, and immersed in liquid nitrogen for up to 1 min. For warming, Cryotop[®] was immersed and incubated in HM supplemented with 1 M sucrose (37 °C) for 3 min. The warmed COCs were then washed into HM containing decreased concentrations of sucrose (0.5, 0.25, and 0 M) for 5 min in each washing step. Post-warming analyses were conducted to assess nuclear oocyte maturation (Hoechst 33342 dye), GAP junction communication (GJC; calcein-AM dye), early apoptosis (Annexin-V/propidium iodide assay), oocyte survival and viability (Neutral Red staining). The variables were subjected to the Chi-square test or Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test (P<0.05). No difference (P<0.05) was observed in GAP junction activity and the rate of early apoptotic oocytes between the experimental groups. The viability and survival rates of vitrified/warmed COCs were lower (P<0.05) than those of fresh COCs. However, the supplementation of melatonin during vitrification/warming increased (P<0.05) the oocyte viability rate compared to the negative control group, and remained similar (P>0.05) to the groups treated with other antioxidants (GSH and LC). The nuclear maturation rate was higher (P<0.05) in the fresh group compared with vitrified-warmed groups. Nonetheless, the addition of L-carnitine [29.4% (20/68)] increased (P<0.05) the ability of COCs to resume meiosis and reach the metaphase II in comparison to those from the negative control [12.2% (9/74)] and GSH [14.3% (12/84)] groups, and remained similar (P>0.05) to the MLT group [24.2 (15/62)]. In conclusion, the addition of L-carnitine and melatonin to vitrification/warming solutions enhances the nuclear maturation or viability of vitrified/warmed bovine COCs, without affecting early apoptosis and GJC. Therefore, supplementing vitrification and warming solutions with these antioxidants may represent a promising strategy to improve the cryotolerance of immature bovine COCs. Acknowledgements: CAPES, CNPq, and FAPERJ.

Keywords: Antioxidant, Cryopreservation; Cryotop; Glutathione; Oocyte.

Palavras-chave: Antioxidante; Criopreservação; Cryotop; Glutathione; Oócito.

Efeitos da exposição crônica ao isoflurano sobre a morfologia do sistema urinário de ratas gestantes

Effects of chronic exposure to isoflurane on the morphology of urinary system of pregnant rats

Laura Cardoso Fontes^{1*}, Maria Fernanda Frasson Pontes¹, Giovana Negretti Gorini¹, Ana Paula Frederico Rodrigues Loureiro Bracarense², Phelipe Oliveira Favaron³, Guilherme Schiess Cardoso⁴

¹Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina-PR, Brasil; ² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva – UEL; ³ Departamento de Biologia Geral – UEL; ⁴ Departamento de Clínicas Veterinárias – UEL

*E-mail: laura.cardoso.fontes@uel.br

A exposição crônica ao resíduo ambiental dos anestésicos gerais inalatórios, como o isoflurano, tem sido associada a alterações nos sistemas orgânicos, como o reprodutor. Porém são escassos os estudos que comprovem a ação deletéria em outros órgãos. Objetivou-se verificar os efeitos da exposição crônica ao resíduo de isoflurano sobre os rins. Foram utilizadas 26 ratas Wistar, no 18º dia gestacional. Após a confirmação da cópula por meio da presença do tampão vaginal, as ratas foram expostas diariamente, por 4 horas consecutivas, ao isoflurano ambiental (1,5 %V em fluxo de 2 L/min), em salas cirúrgicas sem sistemas de exaustão, nas distâncias de 1 m (grupo ZRA – Zona Respiratória do Anestesista, n = 10) e 2 m (ZRC – Zona Respiratória do Cirurgião, n = 8) do aparelho de anestesia inalatória (Novitech, 15750 Takaoka SAT 500), respectivamente. Os animais do grupo controle (n = 8) foram expostos às mesmas condições de manejo, exceto a exposição ao isoflurano. Após eutanásia dos animais, por decapitação por método da guilhotina, os órgãos inerentes ao sistema urinário foram coletados, identificados e fixados em formaldeído tamponado a 10% ou paraformaldeído a 4% para posterior análise quanto à morfologia e biometria. Todos os protocolos foram aprovados pela CEUA-UEL (005.2023). Foi realizado teste de Tukey. Quanto aos parâmetros macroscópicos, uma amostra de rim do grupo ZRA e duas amostras do grupo controle demonstraram regiões multifocais vermelho-escuras e rosa-pálidas distribuídas pela superfície do órgão, sugestivas de infarto renal em região cortical. O comprimento longitudinal entre os grupos não apresentou diferença, sendo de $17,32 \pm 0,796$ mm para o grupo controle, $17,11 \pm 0,842$ mm para a ZRA e $16,46 \pm 0,87$ mm para a ZRC. Quanto ao peso dos rins, o grupo controle ($0,77 \pm 0,122$ g) apresentou maior peso que o grupo ZRA ($0,68 \pm 0,098$ g) e o grupo ZRC ($0,625 \pm 0,06$ g), com $p = 0,031$. A variação no peso dos rins e as características macroscópicas observadas sugerem que a exposição crônica ao resíduo de isoflurano promoveu pequenas regiões de infarto renal em ratas gestantes, podendo levar comprometimento de excreção de substâncias por parte da mãe, o que afeta diretamente a prole. Apoio financeiro: CNPq, Processo 421153/2023-7.

Palavras-chave: *exposição laboral, salas de operação, anestésicos inalatórios*

Keywords: *work exposure, operating rooms, inhalational anesthetics*

A new non-steroidal animal contraceptive based on the cytotoxic effect of ethane dimethanesulfonate

Um novo contraceptivo animal não-esteroidal baseado no efeito citotóxico do dimetanossulfonato de etano

Wilma De Grava Kempinas^{1*}, Jorge Willian Franco de Barros¹, André Costa², Marcos Tokuda², Gary Robert Klinefelter³

¹ Institute of Biosciences of Botucatu, São Paulo State University (UNESP), SP, Brazil; ² Municipal Zoological Park "Quinzinho de Barros", SP, Brazil; ³ Environmental Protection Agency, USA

*E-mail: wilma.kempinas@unesp.br

Ethane dimethanesulfonate (EDS) is an alkylating agent known to cause depletion of Leydig cells following intraperitoneal injections in laboratory rats and other animals. Groundbreaking laboratory studies conducted by our team, which merited a patent filing, revealed that EDS administered by diet causes transient infertility in Wistar rats (*Rattus norvegicus*). In these experiments rats received dietary formulations of EDS over 3 weeks, and 7 days later showed significant decrease on sperm parameters, circulating sexual hormones and in the fertility potential and reproductive performance. Most of these parameters recovered 70 days later. Herein our goal was to investigate the antifertility effects of EDS in a real-world approach, by exposing both male and female rats simultaneously, as well as the reproductive outcomes to their offspring until 3rd generation. A study was also conducted on the contraceptive potential of subcutaneous injections containing EDS in laboratory rats and zoo meerkats (*Suricata suricatta*). The experimental designs were approved by the institutional Ethics Committees. For this, adult Wistar rats were treated with chow containing EDS or vehicle for 30 days, then were cross-mated. In F0, male rats showed impairment in sperm parameters, reproductive organ weights, testicular and epididymal histology, and ejaculatory capacity, while female rats had decreased ovarian weight. F0 fertility was decreased mainly due to the male exposure to EDS. F1, F2, and F3 offsprings had more subtle reproductive impairment mainly in estrous cycles of female rats, indicating transgenerational effects. In rats, sub-cutaneous injections induced long-term anti-fertility effects. In meerkats, EDS caused from decreased sperm motility to absence of sperm cells in the ejaculated. Taken together, these results indicate that EDS can be used as a basis for the development of strategies for animal population control. Additionally, androgen depletion caused by exposure to EDS has potential applicability in improving meat production, aiding in treating reproductive diseases and controlling male aggressive behavior, among others. Our goal now is to establish new collaborations to develop a bait and trap system to test the new contraceptive with rodents in cities and rural areas, as well as to test its effectiveness in other synanthropic, domestic and wild animals.

Keywords: Animal Contraception; Fertility Control; Animal Populational Control; Ethane Dimethanesulfonate; Leydig Cell.

Palavras-chave: *Contracepção Animal; Controle de Fertilidade; Controle Populacional de Animais; Dimetanossulfonato de etano; Células de Leydig.*