CENTRO UNIVERSITÁRIO PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS - UNIPAC

Mariana Viduani Machado

COMPARATIVO DA TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA NA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO COM SÊMEN A FRESCO E SÊMEN CONGELADO.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos, como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Juiz de Fora
2020

CENTRO UNIVERSITÁRIO PRESIDENTE ANTÔNIO CARLOS - UNIPAC

Mariana Viduani Machado

COMPARATIVO DA TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA NA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO COM SÊMEN A FRESCO E SÊMEN CONGELADO.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos, como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.
Orientador: Dra. Isis Lustosa Goulart

Juiz de Fora
2020

Mariana Viduani Machado

COMPARATIVO DA TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA NA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO COM SÊMEN A FRESCO E SÊMEN CONGELADO.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Isis Lustosa Goulart

Profa. Me. Anna Marcella Neves Dias

COMPARATIVO DA TAXA DE RECUPERAÇÃO EMBRIONÁRIA NA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO COM SÊMEN A FRESCO E SÊMEN CONGELADO.

COMPARATIVE OF EMBRYONIC RECOVERY RATE IN EMBRYO TRANSFER WITH FRESH AND FRESH SEMEN.

MARIANA VIDUANI MACHADO[1] ISIS LUSTOSA GOULART[2]

Resumo

Introdução: A transferência de embriões é uma importante biotecnologia reprodutiva que além de proporcionar grande progresso tem alcançado melhores resultados desde que se iniciou no Brasil na década de 80. Empregada em diversas raças no meio equestre, pode ser realizada a partir da utilização da monta natural ou inseminação artificial, sendo a segunda outra importante biotecnologia reprodutiva muito utilizada com grande eficiência. O estudo referente à anatomia, fisiologia do animal e o domínio da técnica estão diretamente relacionados aos resultados obtidos. As técnicas de transferência de embrião e inseminação artificial podem apresentar diferentes resultados de acordo com as condições de manejo e aplicação das mesmas. **Objetivo:** elucidar dados numéricos da taxa de recuperação embrionária na transferência de embrião equina com a utilização da inseminação artificial com sêmen congelado e sêmen a fresco. **Métodos:** Foram coletados e realizou-se uma análise comparativa quanto à utilização de sêmen à fresco e congelado a partir da inseminação artificial para coleta de embrião através do método transcervical não-cirúrgico utilizando-se cálculos percentuais. Os resultados encontrados a partir das análises de dados revelam que a inseminação artificial é viável e possui bons resultados em equinos, mesmo considerando a utilização das duas formas de sêmen e que a qualidade do sêmen quando criopreservado pode ou não interferir nos resultados dependendo da sua aplicabilidade na inseminação artificial. **Resultados:** Foram coletados dados em três estações de monta subsequentes, totalizando 199 inseminações com 170 lavados positivos, com utilização de sêmen congelado e sêmen à fresco, não sendo observados prejuízos quanto à utilização do sêmen congelado quando comparado ao sêmen à fresco. **Conclusão:** avaliaram-se os dados e resultados, observando que não houve diferenças significativas quanto à utilização do sêmen em suas duas formas, e não foram constatados fatores que interferiram diretamente nos resultados obtidos.

[1] Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos – UNIPAC Juiz de Fora

[2] Médico Veterinário, Professor do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Presidente Antonio Carlos – UNIPAC Juiz de Fora.

Descritores: Transferência de embrião, doadoras de óvulos, receptoras, inseminação artificial, biotecnologia reprodutiva.

Abstract

Introduction: Embryo transfer is an important reproductive biotechnology that, in addition to providing great progress, has achieved better results since it started in Brazil in the 1980s. Employed in several breeds in the equestrian environment, it can be performed using the natural mount or artificial insemination, the second other important reproductive biotechnology being widely used with great efficiency. The study regarding the anatomy, physiology of the animal and the mastery of the technique are directly related to the results obtained. The techniques of embryo transfer and artificial insemination can present different results according to the conditions of management and application of the same. **Objective:** to elucidate numerical data on the rate of embryonic recovery in equine embryo transfer using artificial insemination with frozen semen and fresh semen. **Methods:** A comparative analysis was performed and a comparative analysis was carried out regarding the use of fresh and frozen semen from artificial insemination for embryo collection through the non-surgical transcervical method using percentage calculations. The results found from the data analysis reveal that artificial insemination is viable and has good results in horses, even considering the use of the two forms of semen and that the quality of the semen when cryopreserved may or may not interfere in the results depending on its applicability in artificial insemination. **Results:** Data were collected in three subsequent breeding seasons, totaling 199 inseminations with 170 positive washes, using frozen semen and fresh semen, with no losses regarding the use of frozen semen when compared to fresh semen. **Conclusion:** data and results were evaluated, noting that there were no significant differences regarding the use of semen in its two forms, and there were no factors that directly interfered with the results obtained.

Keywords: Embryo Transfer, Tissue Donors, Receptor Insemination, Artificial, reproductive biotechnology.

INTRODUÇÃO

A Transferência de embriões é uma biotecnologia reprodutiva muito utilizada na espécie equina, definida como uma técnica que coleta o embrião da égua doadora e realiza a implantação do mesmo em uma égua receptora que gestará o embrião e amamentará o potro ao nascimento.[1-3]

O constante desenvolvimento do mercado equestre proporciona maior procura de animais geneticamente melhorados, superiores, com boa performance esportiva e reprodutiva, justificando então o aumento da demanda de técnicas reprodutivas que otimizam as produções, proporcionam melhor

aproveitamento dos animais, sendo a transferência de embriões a ferramenta mais promissora para esse propósito.[4,5]

Sobre o histórico da biotecnologia reprodutiva, dados apontam o nascimento do primeiro potro em 1974, sendo que no Brasil registros demarcam o ano de 1987, sendo iniciada em 1986. Os progressos da TE foram sendo alcançados facilitando cada vez mais o acesso e popularidade da utilização nos dias atuais.[2,4,6,7]

As raças que mais utilizam a transferência de embrião são: Mangalarga Marchador, Campolina, Quarto de Milha e Mangalarga Paulista.[7]

As éguas possuem a característica de sazonalidade reprodutiva, são poliéstricas estacionais, ocorrendo assim máxima ovulação durante o verão e mínima durante o inverno. O aumento da luminosidade influencia diretamente a ciclicidade dessa fêmea, ocorrendo vários cios na primavera e verão, sendo que cada ciclo estral, dura em média 21 dias. Na prática, a anatomia ovariana e a dificuldade em induzir superovulações dificultam a realização da transferência de embrião, porém, esses fatores não a tornam impossível.[3,4,8]

A relevância em dominar a anatomia e fisiologia reprodutiva equina está interligada diretamente ao resultado obtido na transferência de embrião (TE) e no êxito da biotecnologia. O sistema reprodutor da égua é composto por dois ovários, dois ovidutos, dois cornos uterinos, corpo do útero, cérvix, vagina, vulva considerando-se as glândulas mamárias como parte dele. O ovário sofre variações de tamanho de acordo com a fase do ciclo reprodutivo em que se encontra o animal, assim como a atividade folicular e a idade do animal. [3,4,8]

Pode-se destacar como vantagem dessa técnica, fatores como, melhor aproveitamento do animal e sua genética, produção de maior número de potros por égua ao ano, animais idosos continuam na reprodução como doadoras, tal como animais jovens, atletas, em condição reprodutiva insatisfatória, animais com problemas comportamentais, quadros patológicos como artrite e laminite, incluindo também benefício para o garanhão, evitando desgaste pela diluição do sêmen coletado. Entretanto, a dificuldade de ovulações múltiplas, alto número de doadoras idosas e dificuldades em manipular o sêmen de forma adequada se apresentam como limitações da técnica.[1,2,4,7-9]

Em resumo, a TE pode ser realizada em centros de TE ou por veterinários prestadores de serviço em propriedades particulares que possuem

sua própria estrutura, seguindo basicamente os seguintes passos: seleção e preparo da égua receptora, sincronização dos ciclos da doadora e receptora, considerando que a taxa de recuperação embrionária está diretamente ligada à doadora e a taxa de prenhez é afetada pela receptora, e então se inicia a produção do embrião propriamente dito a partir da inseminação artificial ou monta natural na égua doadora, coleta-se o embrião da doadora, envase e transferência para a receptora. Fatores que podem influenciar a recuperação embrionária envolvem técnica de colheita, dia da colheita, dimensão do embrião, estágio do corpo lúteo da receptora, assim como o procedimento de transferência, qualidade do sêmen utilizado, fertilidade do mesmo e utilização do sêmen a fresco ou congelado, que podem apresentar variações nas taxas de sucesso.[1,3,7,8,10]

Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi analisar lavados uterinos para coleta de embrião, realizando um comparativo nas taxas de sucesso quanto à utilização do sêmen a fresco e congelado a partir da inseminação artificial.

MÉTODOS

Foram analisados dados comparativos quanto à utilização de sêmen à fresco e congelado com a realização da biotecnologia reprodutiva de inseminação artificial, e posterior coleta do embrião através do método transcervical não-cirúrgico no período de 2016 a 2019, analisados a partir de cálculos percentuais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A coleta de dados foi realizada nas estações de monta 2016/17, 2017/18 e 2018/19, totalizando 199 lavados alcançando 170 recuperações embrionárias, ou seja, 85,5% de aproveitamento.

Quadro 1 – Taxa de recuperação embrionárias estações de 2016/17, 2017/18 e 2018/19

Estação reprodutiva	Lavados uterinos	Recuperações embrionárias	Taxa
2016/2017	57	43	75,5%

2017/2018	77	72	93,5%
2018/2019	65	53	84,6%
Média	199	168	85,4%

Dos dados citados acima, totalizou-se 16 inseminações realizadas com sêmen congelado nas estações de monta de 2017/18 e 2018/2019.

A coleta de dados foi realizada em propriedades particulares, em que se utilizaram éguas doadoras de diferentes faixas etárias, compreendidas entre 4 a 18 anos de idade.

Todos os ciclos foram acompanhados via ultrassonografia transretal, considerando que a indução da ovulação foi feita com deslorelina sintética (Sincrorrelin), e/ou hCG (Chorulon). Sincrorrelin é composto por hormônio GnRH sintético que estimula a liberação de FSH e LH (hormônio folículo estimulante e luteinizante, respectivamente), usado como agente estimulante do crescimento folicular e indutor de ovulação em média de 36 a 48 horas. Chorulon associado ao Sincrorrelin induzem a ovulação, auxiliam na eficiência reprodutiva, ajustam o momento de ovulação, em até aproximadamente 48 horas, apresentando variação nesse período de tempo.[1]

Os lavados / coletas concentraram-se principalmente entre D8, D9 e D10, utilizando como forma de coleta o método transcervical não-cirúrgico, que consiste em direcionar o animal doador ao tronco de contenção, enfaixar a cauda, higienizar a vulva e secar, introduzir a sonda de coleta para equinos esterilizada de silicone com balonete, em seguida passagem da sonda (vagina, cérvix e corpo do útero), inflar balonete (a quantidade em ml varia de acordo com o animal), tração da sonda para trás e oclusão da cérvix. Essa sonda apresenta duas extremidades, uma para ejetar a solução de ringer com lactato, realiza-se o preenchimento total do útero e fecha, em seguida abre a outra extremidade que se direciona ao coletor, realiza-se a massagem do útero via retal e então ocorre a chegada do embrião, ainda é necessário drenar o restante do líquido e finalizar a coleta.[1]

Figura 1: lavado uterino: A – sonda de coleta para equinos; B – corpo coletor e fluido; C – sonda em uso.

Fonte: modificado de Silva[1]

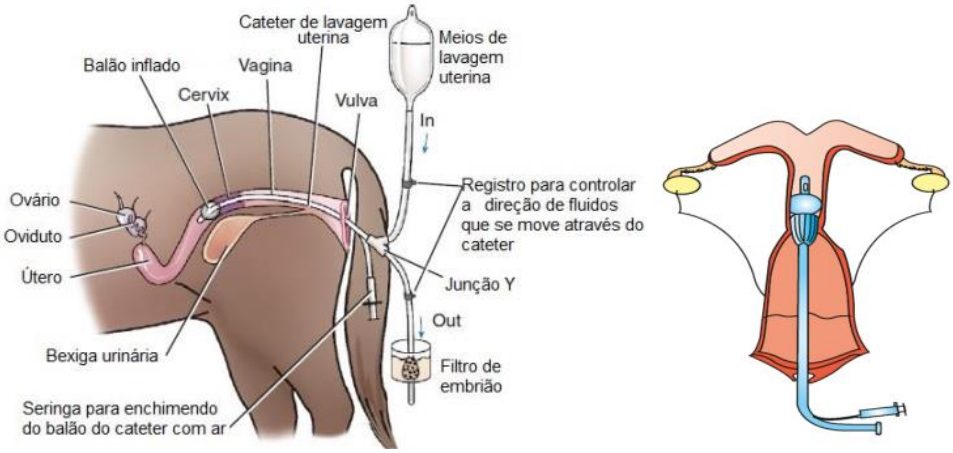

Figura 2: Lavagem Uterina e demonstração da colocação correta da sonda, respectivamente.

Fonte: modificado de Silva[1]

Foram utilizados sêmens de diferentes garanhões, com análise de boa qualidade espermática, considerando principalmente os sêmens congelados, uma vez que nem todos os garanhões tem a possibilidade de ter seu sêmen criopreservado e que a fertilidade seminal é bastante variável entre os machos.[11]

O sucesso da técnica não depende de uma só conduta específica, mas sim de um conjunto de fatores, como trabalho em equipe envolvendo médico veterinário e equipe do Haras, manejo, clima, entre outros.[2]

Neste estudo, não foram identificadas diferenças significativas quanto à utilização do sêmen congelado e à fresco, obtendo 87,5% e 84,15% de aproveitamento respectivamente, justificando a representação conjunta na tabela, considerando que um importante fator ao utilizar o sêmen congelado é no estro reduzir ao máximo o período de tempo entre a inseminação e a ovulação, além da análise rigorosa da qualidade do sêmen. Neste trabalho não foram avaliados taxas de prenhez após transferência de embrião.[1]

Avaliando os dados apresentados, as recuperações de embrião no lavado uterino estão pouco acima dos parâmetros esperados do Brasil considerados por CAMARGO, C. E. (2008), que varia entre 45,5% a 83,3%. SILVA, M. V.(2019) obteve 63,89% através da inseminação artificial. CARVALHO, A. L. (2012) encontrou diferença significativa na utilização do sêmen congelado, com taxa de 41,6% e 55,8% em sêmen refrigerado. TESKE, J. (2017), encontrou 80% de taxa de recuperação, sendo o autor que mais se aproximou dos resultados encontrados. MCCUE, P.M. (2011) encontrou 46,8% e descreve que a utilização do sêmen congelado influenciou reduzindo as taxas de recuperação embrionária, associando ao atraso na fertilização ou no desenvolvimento do embrião. Acredita-se que a diferença dos resultados esteja no aprimoramento da técnica ao longo dos anos, habilidade da técnica, melhoramento genético dos animais que interferiram também em fatores de fertilidade e qualidade reprodutiva, justificando o progresso dos resultados encontrados, considerando que não houve interferência de algum fator específico no resultado das taxas. O sêmen criopreservado também não influenciou de forma significativa nas taxas de inseminação artificial, obtendo-se médias finais semelhantes.[1,2,3,6,11]

CONCLUSÃO

Concluiu-se que não houve um fator específico que determinou os resultados, e sim um conjunto de fatores associados no trabalho do médico veterinário atrelado ao manejo da fazenda. O sêmen criopreservado apresentou resultados de aproveitamento muito semelhante ao sêmen à fresco, e pelos excelentes resultados encontrados no trabalho infere-se que a inseminação artificial é viável em equinos.

REFERÊNCIAS

1. Silva MV. Taxa de recuperação embrionária e taxa de prenhez em equinos da raça Quarto de Milha em duas estações de monta de Haras no Município de Rolim de Moura – RO [monografia]. Rolim de Moura: Universidade Federal de Rondônia; 2019.

2. Carvalho AL. Fatores que influenciam o sucesso de um programa de transferência de embriões equinos [tese]. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa; 2012.

3. Teske J. Transferência de embriões em equinos [monografia]. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina; 2017.

4. Lira RA, Peixoto GCX, Silva AR. Transferência de embrião em equinos: revisão. Acta Veterinária Brasílica. 2009; v.3, n.4: 132 – 140.

5. Montechiesi DF. Transferência de embriões em equinos e os fatores relacionados às taxas de prenhez. Ciência Animal. 2015. 25 (1); 187-194 – edição especial. Disponível em: http://www.uece.br/cienciaanimal/dmdocuments/palestra15_p187_194.pdf

6. Mccue PM. Transferência de Embriões em Equinos : Recuperação do Embrião. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP [Periódico na internet]. 2011 [citado 2020 Ago 29]; 9 (3): [cerca de 5p.]. Disponível em: https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/download/21/7

7. Alvarenga MA, Tongu EAO. Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferências de embrião de equinos. Revista Brasileira Reprodução Animal [Periódico na internet]. 2017; [citado 2020 Ago 29]; 41 (1): [cerca de 6p.]. Disponível em: www.cbra.org.br

8. Camargo CE. et al. Aspectos relacionados com a recuperação embrionária em éguas da raça Brasileiro de Hipismo, utilizadas em programa comercial de transferência de embrião. Vet. e Zootec. 2013 mar.; 20(4): 74-83.

9. Braga RL, Crusco SE. Transferência embrionária em equinos: Método não cirúrgico baseado na técnica ultrassonográfica de injeção ultra uterina. PUBVET. 2017; 11(2): 143-148.

10. Fleury JJ. et al. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga [Periódico na internet]. 2001; [citado 2020 Ago 29]; 38 (1): [cerca de 5p.]. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/bjvras/v38n1/9671.pdf

11. Camargo CE. Fatores reprodutivos que interferem em um programa comercial de transferência de embriões em éguas de hipismo [Tese]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2008.