

INOVULAÇÃO DE DOIS EMBRIÕES POR RECEPTORA BOVINA - RELATO DE CASO

Luiz Filipe Tavares de Souza^{1*}, Michelly Soares Silva¹, Patrícia Alves Dutra².

¹Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Bom Despacho - Una – Bom Despacho/MG – Brasil – *Contato: luizfelipe1323@gmail.com

²Docente do Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte – UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil

INTRODUÇÃO

A transferência de embrião (TE) é uma biotecnologia que possibilita que um animal de genética superior possa difundir um número maior de progênes. Atualmente são utilizados dois métodos para a multiplicação da genética através da TE, sendo a colheita de embriões no sétimo dia após a inseminação artificial (IA), da doadora que foi superovulada, o que caracteriza a (fertilização *in vivo*), ou através de produção de embriões *in vitro* (PIV) que se trata do processo de aspiração dos ovócitos foliculares (OPU). A fecundação é realizada em laboratório e os embriões também poderão ser inovulados ao sétimo dia após a fecundação¹⁸.

Em 1951 foi feita a primeira transferência de embrião em bovinos, a partir desse momento foram desenvolvidos muitos trabalhos científicos. Entretanto os estudos que prevalecem até o momento atual com o objetivo de aprimorar tais técnicas como, por exemplo, o local ideal de deposição do embrião no corno uterino e a melhoria do reconhecimento materno da gestação continuam inconsistentes^{1, 2}. A inovulação de dois embriões, sendo um em cada corno uterino pode levar ao aumento da produção de progesterona (P4) pelo corpo lúteo (CL), aumento da produção de interferon-tau (IFNT), e inibição da ciclicidade após inovulação do embrião na receptora³.

Objetivou-se avaliar a taxa de prenhez em consequência da inovulação de dois embriões produzidos *in vitro*, sendo um em cada corno uterino das receptoras bovinas.

RELATO DE CASO E DISCUSSÃO

No dia 02 de dezembro de 2021 foi selecionado um lote de dez animais, fêmeas bovinas da fazenda Campo Formoso, no município de São Sebastião do Oeste MG. Eram vacas leiteiras, mestiças, com idade entre 4 a 5 anos, primíparas, escore de condição corporal (ECC) de 3 numa escala de 1 a 5.

Primeiramente foi feito o exame ginecológico para ver se estavam todas aptas a entrarem no protocolo, ao final do exame todas apresentaram se em perfeitas condições, dessa maneira foi iniciado o protocolo hormonal padrão para receptoras, dia 0 (D0) 02/12/2021 com aplicação intramuscular de 2mL de benzoato de estradiol (BE, Tecnopec®) e inserção do dispositivo intravaginal com 1g de progesterona (P4, Sincrogest®) dia 8 (D8) 10/12/2021 com aplicação intramuscular de 2mL de D- cloprostenol, um análogo sintético da prostaglandina F2α(PGF2α, Sincrocio®), 300UI de gonadotrofina carionica equina (eCG, Novormon®), 0,5mL ciplionato de estradiol (ECP, SincroCP®) e retirada do implante de P4, dia 17 (D17) 19/12/2021 realizada a TE para as receptoras (Fig. 1).

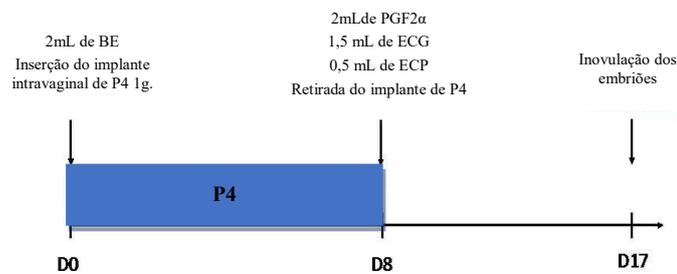


Figura 1: Representação esquemática do protocolo das receptoras de embriões.

Fonte: (Arquivo pessoal)

Foi solicitado ao laboratório de distribuição de genética da região no dia de início do protocolo para preparar os embriões que seriam transferidos, sendo estes classificados de acordo com sua qualidade (Fig. 2). Desse

modo foram solicitados 10 embriões excelentes classificados grau 1 e 10 embriões de qualidade inferior, classificados como grau 3.

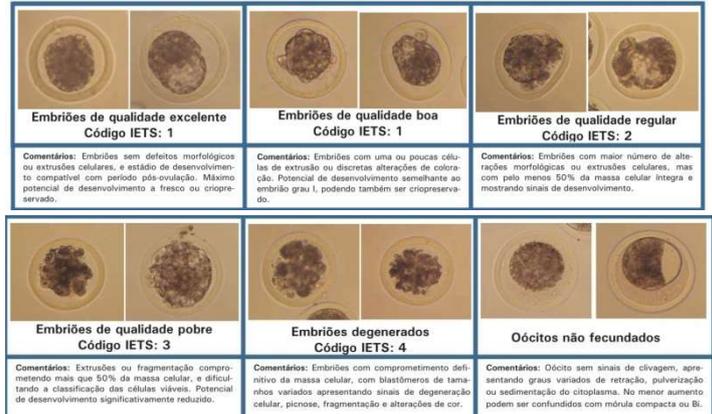


Figura 2: Classificação quanto a qualidade de cada embrião.

Fonte: Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS).

No D17 os embriões foram transportados do laboratório a fazenda para serem transferidos para as receptoras. As receptoras foram submetidas ao exame ginecológico por meio da ultrassonografia transretal em modo B do útero e ovários, usando um transdutor linear de 5,0 MHz. Assim, aquelas que apresentaram um ou mais CLs estavam aptas para receberem os embriões, as que não possuíam CL, portanto não responderam ao protocolo e foram descartadas.

Cada receptora antes da inovulação foi anestesiada com 4mL de cloridrato de lidocaína 2%, via epidural baixa, e a vulva foi higienizada com água corrente e papel-toalha. A camisa sanitária plástica foi usada para prevenir a contaminação uterina. O inovulador, com a bainha e a palheta contendo embriões grau 1, foram inovulados no terço médio/final do corno uterino ipsilateral ao ovário que se encontrava o CL. Enquanto, os embriões com qualidade inferior grau 3, foram inovulados no terço médio/final do corno uterino contralateral ao ovário que não apresentava CL. Apenas uma fêmea não respondeu ao protocolo, assim o número de animais inovulados ficou em nove. Desse modo, nos nove animais foram inovulados dois embriões um em cada corno uterino.

No dia 17/01/2022, após 30 dias da TE voltamos a propriedade para realizar o diagnóstico de gestação (DG) nas nove vacas que receberam os embriões, o diagnóstico foi realizado através de palpação retal e com a ajuda do equipamento de ultrassom, no qual tivemos resultado final de oito vacas apresentando prenhez positiva de um único embrião (Fig. 3).

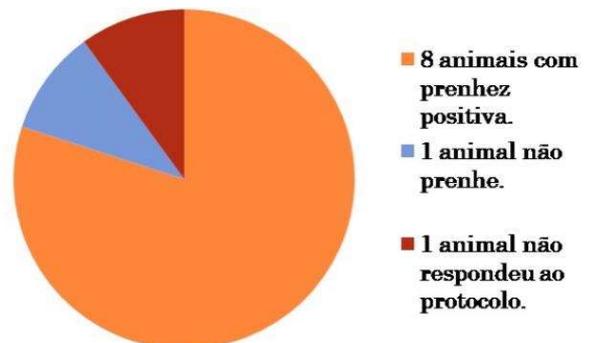
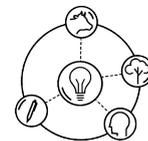


Figura 3: Gráfico com a amostra de animais e resultados obtidos.

Fonte: (Arquivo pessoal)

X Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente



Atualmente é sabido que existem muitas variáveis que influenciam no sucesso da transferência de embriões *in vitro*, tais como, grupo genético, estágio de desenvolvimento e tempo de cultivo dos embriões, lado do corpo lúteo, touro, número de inovulações prévias realizadas em cada receptora e sequência de horas de serviço gastas para realizar as inovulações. Além disso, no período pré-implantação o embrião e o endométrio são responsáveis por secretar vesículas extracelulares que são capazes de fazer a comunicação entre células vizinhas ou tecidos distantes. Com isso o contato entre o concepto em desenvolvimento e o meio uterino da gestante durante a pré-implantação é importante para o reconhecimento materno da gestação e a receptividade no útero, provendo assim um cenário ideal para a sua implantação na parede uterina que ocorre entre os dias 8-9 após a fecundação¹⁰.

Aos 8-9 dias, ou seja, 1-2 dias após a inovulação ocorrerá eclosão do blastocisto da zona pelúcida. O concepto começa a se alongar por volta de 15 dias, formando um filamento de 10 a 15 cm o qual ocupa todo o corno uterino ipsilateral ao CL¹². Esse alongamento é necessário para possibilitar a secreção de concentrações suficientes de IFNT e o reconhecimento máximo do sinal de gestação e expandir sua área de contato tecidual entre concepto e parede uterina para aumentar a troca vascular entre ambos^{6,7}. O concepto secreta o IFNT entre os dias 12 a 26, com pico nos dias 15-16¹³. A função do IFNT é sinalizar a gestação, o mesmo inibe a expressão de estrógeno e ocitocina no endométrio uterino o que previne a liberação pulsátil de PGF2 α que é luteolítica¹⁴. As inovulações feitas no corno ipsilateral ao CL funcional têm resultados favoráveis com aumento nas taxas de prenhez quando comparados aos resultados da inovulação no corno contralateral ao CL¹⁷.

Já os embriões inovulados no corno uterino contralateral ao CL também têm a capacidade de produzir IFNT logo após o momento da eclosão do blastocisto. Estima-se que devido a baixa vascularização presente no corno contralateral e a qualidade do embrião ser menor grau 3, há um déficit no transporte de nutrientes e substâncias para seu desenvolvimento, sendo assim por volta do 15-20 dia após implantação esse embrião tende a sofrer absorção, morte embrionária¹⁶.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo os dados obtidos no relato os embriões secundários inovulados podem ter sido causa da elevação da taxa de prenhez dessa amostra através do aumento de IFNT ocasionado por ele, presente no meio uterino, comparando a média nacional que é de 31% de prenhez em rebanho leiteiro³ no presente trabalho o resultado foi de 80% de prenhez aos 30 dias após a TE o que leva a uma real possibilidade e viabilidade de uso de dois embriões por receptora, visando o aumento efetivo da taxa de prenhez em um rebanho bovino leiteiro. Através dos resultados e estudos dispostos nesse trabalho afirma-se que o IFNT é um dos principais fatores para que se tenha reconhecimento materno da gestação eficiente. Há necessidade de mais estudos sobre o tema, como forma de contribuir por meio deste, conclui-se que existem formas de elevar o reconhecimento materno da gestação, como no caso o uso de um embrião secundário no corno contralateral ao CL para aumentar a produção de IFNT.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WILLETT E.L. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science*, v.113, p. 247, 1951.
2. CHEN, Y. et al. Effect of interferon-tau administration on endometrium of nonpregnant ewes: a comparison with pregnant ewes. *Endocrinology*, v. 147, n. 5, p. 2127-2137, 2006.
3. Thatcher WW et al. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. *Theriogenology*, v.56, p.1435-1450, 2001.
4. Viana JHM. Produção de embriões bovinos *in vivo* (transferência de embriões - TE) e *in vitro* (Fecundação *in vitro* FIV) no Brasil: histórico, cenário atual e perspectivas. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, 1, 2008, Pelotas, RS. Anais... Pelotas: EMBRAPA, 2008. p.48-55.
5. SANCHES, B. V. et al. A new direct transfer protocol for cryopreserved IVF Embryos. *Theriogenology*, v. 85, p. 1147-1151, 2016.

6. Forde N, Lonergan P. Interferon-tau and fertility in ruminants. *Reproduction* 2017; 154:F33-F43.
7. Blomberg L. et al. Blastocyst elongation, trophoblastic differentiation, and embryonic pattern formation. *Reproduction* 2008; 135:181-195.
8. ROBERTS RM, GREEN JA & SCHULZ LC 2016 The evolution of the placenta. *Reproduction* 152 R179-R189. (doi:10.1530/REP-16-0325)
9. GARCIA-ISPIERTO II, LÓPEZ-GATIUS F2. Progesterone supplementation in the early luteal phase after artificial insemination improves conception rates in high-producing dairy cows. *Theriogenology*, vol.90, p.20-24, 2017.
10. SAADELDIN, I. M. et al. Embryonic-maternal cross-talk via exosomes: potential implications. *Stem Cells and Cloning : Advances and Applications*, v. 8, p. 103- 107, 07/07 2015. ISSN 1178-6957.
11. BÓ, G.; MAPLETOFT, R. Evaluation and classification of bovine embryos. *AnimReprod*, v. 10, n. 3, p. 344-348, 2013.
12. DORNIK, P. et al. Physiology and Endocrinology Symposium: biological role of interferon tau in endometrial function and conceptus elongation. *Journal of animal science*, v. 91, n. 4, p. 1627-1638, 2013. ISSN 1525-3163.
13. FARIN, C. E. et al. Expression of trophoblastic interferon genes in sheep and cattle. *Biology of Reproduction*, v. 43, n. 2, p. 210-218, August 1, 1990 1990.
14. SPENCER, T. E. et al. Conceptus-derived prostaglandins regulate gene expression in the endometrium prior to pregnancy recognition in ruminants. *Reproduction*, v. 146, n. 4, p. 377-387, October 1, 2013 2013.
15. WANG, X. L. et al. A Potential Autocrine Role for Interferon Tau in Ovine Trophoctoderm. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 48, n. 5, p. 819-825, 2013. ISSN 1439-0531.
16. BAZER, F. W. et al. Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)*. 3: 745-767 p. 2011.
17. SEIDEL, G.E. Critical review of embryo transfer procedures with cattle. In: Mastroianni, L. Jr., Biggers, J. D. (Eds) *Fertilization and embryonic development in vitro*. Plenum Press, p.323-353, 1980.
18. GONÇALVES, P. B. F. et al. Biotecnias aplicadas à reprodução animal. REICHENBACH, Horst, Dieter, et al., São Paulo: Varela, Cap. 8. p.127 – 162. 2001.
19. STRINGFELLOW, D. A., GIVENS, M. D. Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS). 4. ed. 2010.