



## PRODUÇÃO DE EMBRIÕES *IN VITRO* PELA TÉCNICA DE ICSI EM EQUINOS

Ana Luiza De Melo Paiva<sup>1\*</sup>, Ana Elisa Sousa Neves<sup>1</sup>, Júlia Gomes Costa<sup>1</sup>, Marcos Henrique Maia de Oliveira e Silva<sup>1</sup>, Mariana de Albuquerque Nacaratti<sup>1</sup>, Tainá Alane Lopes Fernandes<sup>1</sup> e Gabriel Dias Costa<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil – \*Contato: analuizamp.bh@gmail.com

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

### INTRODUÇÃO

A produção de embriões *in vitro* em equinos pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) é uma biotecnologia inovadora que vem sendo utilizada nas estações de monta. Essa reprodução assistida, produção de embriões *in vitro* em equinos pela técnica ICSI, é executada a partir da injeção de um espermatozoide dentro do citoplasma de um oócito maduro<sup>3</sup>. Uma das vantagens dessa técnica é a utilização de somente um espermatozoide viável para cada oócito maturado, desse modo utilizando somente um décimo da palheta de sêmen consegue-se fazer vários embriões<sup>3</sup>.

No Brasil, a médica veterinária Perla Fleury, diretora da In Vitro Clonagem, foi a pioneira da potra de proveta. Ela foi responsável pela primeira potra provida pela técnica de ICSI realizada em outubro de 2012<sup>7</sup>.

O objetivo deste trabalho foi descrever a técnica de produção de embriões *in vitro* em equinos pela técnica de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), destacando as principais vantagens e desvantagens desse procedimento.

### MÉTODOS

Foram consultados 7 estudos científicos, artigos e literatura especializados e relacionados à Produção de Embrião *in vitro* pela técnica ICSI em equinos. A pesquisa foi realizada em bancos de dados acadêmicos, como Revista Brasileira de Reprodução Animal, Repositório institucional UNESP, Scielo. Foram utilizadas as palavras chaves: Produção de embriões *in vitro*, reprodução equina, técnica de ICSI em equinos, e selecionados estudos que contribuíram significativamente para compreensão dos processos da produção de embriões *in vitro* em equinos pela técnica descrita.

### RESUMO DE TEMA

A produção de embriões *in vitro* (PIV) pela técnica de ICSI é uma biotecnologia e um avanço na reprodução equina. Essa técnica é fundamental para preservação de linhagens de cavalo de alto valor genético<sup>5</sup>.

A técnica de ICSI segue um processo minucioso, no qual existem várias etapas: a inicial é a escolha da doadora do oócito, para isso a égua é submetida à estimulação ovariana com hormônios, para promover o crescimento de folículos ovarianos<sup>5</sup>. Na segunda etapa, o médico veterinário especialista aspira esse oócito por meio de um procedimento guiado por ultrassom e uma agulha para fazer a aspiração de oócito (OPU). Para isso é necessário realizar uma sedação desse animal, para que não sinta desconforto e para a segurança do animal e do médico veterinário<sup>5</sup>.

Na aspiração, podem ser aspirados folículos dominantes que têm a taxa de recuperação de 70 a 80% e são sensíveis à alteração de temperatura, já os folículos imaturos têm uma taxa de recuperação de 20% e são mais resistentes à alteração de temperatura<sup>2</sup>. Essa aspiração varia de cada profissional. Também é feita uma lavagem do folículo com solução salina tamponada com fosfato (PBS) na temperatura de 37 °C, para escarificar e retirar o oócito de dentro dessa cavidade<sup>1</sup>. Após realizar essa aspiração, o líquido é transportado em um tubo de falcon, que fica armazenado em um aquecedor, para que um assistente selecione esses oócitos. É importante ressaltar que esse lugar onde acontecerá o rastreamento seja em um lugar fechado sem muita circulação de impurezas para garantir bons resultados<sup>1</sup>.

o transporte é realizado em suporte térmico em temperatura de 22 °C, os oócitos selecionados são acondicionados em meio específico para maturação oocitária, que varia a fórmula de cada fabricante podendo conter Ham's F12, Gonadotrofina, Fator de crescimento epidérmico, Piruvato, Soro fetal de bezerro, Suplemento e

insulina-transferrina-selênio<sup>4</sup>. Ademais, em uma ficha de anotações, coloca-se identificação em cada tubo, para informar quantos oócitos estão sendo enviados e qual a origem desse oócito para facilitar o entendimento no laboratório. No laboratório, após a maturação os oócitos são desnudados manualmente. Então, é feita uma seleção de oócitos com presença de um corpúsculo polar para realizar a técnica da ICSI (figura 1), após isso esses oócitos são trocados de meio, para que ocorra a ICSI<sup>4</sup>. Para isso, é utilizado um instrumento Piezo-Drill que estabiliza o oócito para realização da técnica<sup>4</sup>. O cruzamento é feito de acordo com o que o proprietário deseja. O sêmen devidamente processado e um dos espermatozoides viáveis é selecionado<sup>8</sup>. Esse espermatozoide com a cauda seccionada é introduzido com uma agulha específica e inserido dentro desse oócito<sup>4</sup>. Após isso, o oócito que já está fecundado passa para o meio de clivagem que acontecerá em 24 horas. O próximo passo é a visualização da clivagem. Os oócitos em que não ocorreram a clivagem dentro de 24 horas são descartados, já os oócitos que clivam e se tornam embriões são observados a cada 24 horas durante sete dias<sup>1</sup>. Existem dois segmentos após os sete dias de clivagem: a vitrificação do embrião, podendo ser utilizado dentro de anos ou meses a escolha do proprietário, ou a espera de mais dois dias de clivagem podendo realizar a transferência de embrião *in vivo* na receptora escolhida para esperar a gestação da égua<sup>4</sup>.

As principais vantagens da produção de embriões *in vitro* pela técnica de ICSI são a utilização de apenas um espermatozoide podendo dividir um palheta de sêmen congelado de alto valor genético e zootécnico para várias doadoras<sup>1</sup>. Também há maior aproveitamento do sêmen de garanhões que vieram a óbito ou que possuem alguma alteração no sêmen<sup>8</sup>. A técnica de produção de embriões *in vitro* por meio da ICSI enfrenta desafios notáveis, como a exigência de mão de obra altamente qualificada e a necessidade de uma estrutura laboratorial adequada, fatores que justificam os custos associados a esse processo. Além disso, a complexidade do número de folículos aspirados e a eficácia na recuperação dos oócitos são alguns dos obstáculos a serem superados<sup>1</sup>. Apesar dessas dificuldades, é digno de nota que o aprimoramento contínuo dessa técnica está em ascensão no Brasil, indicando uma evolução significativa na produção de embriões *in vitro* por meio da ICSI no país.



Figura 1: Procedimento da ICSI<sup>7</sup>. Fonte: In Vitro Equinos.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica de ICSI na produção de embriões *in vitro* representa uma conquista significativa na medicina veterinária. Essa abordagem é de grande importância para criadores e pesquisadores em escala global, proporcionando oportunidades cruciais para a preservação de linhagens



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

genéticas valiosas, a superação de desafios de fertilidade e o aprimoramento genético de raças equinas. Embora seja crucial reconhecer que esse processo complexo e altamente especializado possui desafios e limitações, é uma ferramenta com um imenso potencial para moldar a reprodução equina.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. BRIOTE P. F., Inês. **Bioteecnologias de Reprodução Assistida em Equinos: Ovum Pick Up e Injeção Intracitoplasmática**, 2022, 49 p., Medicina Veterinária - Scholl Of Medicine and Biomedical Sciences ,2022.
2. CARNEIRO F., Gustavo. **Produção in vivo e in vitro de embriões em equinos**, Revista Brasileira de Reprodução animal, Belo Horizonte, v.40, n4, p.158-166, out./dez. 2016.
3. CRUZ E. , Tairini. **Injeção Intracitoplasmática de Espermatozóide em Equinos**, 2014, 18 p., Medicina Veterinária- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Araçatuba, 2014.
4. FRASSON S., Mariana. **Maturação in vitro de oócitos equinos**, 2023, 56 p., Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu, 2023.
5. HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 7.ed. São Paulo : Manole, 1982. 511p.
6. MARQUES B., Daniele. **Fatores que interferem na eficiência do programa de ICSI em equinos**, 2022, 28 p., Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu, 2022.
7. **Quem somos**. In vitro equinos. Institucional. Disponível em: <https://invitroequinos.com/institucional/#quem-somos> Acesso em: 16 de outubro de 2023
8. SIEME, Harald et al. **Criopreservação de sêmen equino: variação inter-individual, processamento de centrifugação, agentes protetores e protocolos de congelamento**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 11-14, jan./mar. 2015.
9. TORRES T., Rafaela . **Avaliação da qualidade, maturação e desenvolvimento embrionário inicial de oócitos oriundos de folículos de diferentes diâmetros em éguas**, 2023, 36 p., Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia, 2023.