

## EMBRIÕES RETIDOS NO OVIDUTO COMO FATOR DE VARIAÇÃO NA TAXA FINAL DE RECUPERAÇÃO APÓS LAVAGEM UTERINA DE VACAS SUPEROVULADAS

RAFAEL HERRERA ALVAREZ<sup>1</sup>, JOÃO BATISTA PEREIRA DE CARVALHO<sup>2</sup>, MARIA INES DE AQUINO BARBOSA CARVALHO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Genética e Reprodução, Instituto de Zootecnia, Rua Heitor Penteado, 56, Centro, Caixa postal 60, 13460-000- Nova Odessa, SP

<sup>2</sup> Núcleo de Pesquisas Zootécnicas "Geraldo José Rodrigues Alkmin", Instituto de Zootecnia, Caixa postal 07, 12400-000- Pindamonhangaba, SP.

**RESUMO:** De forma geral, o número de embriões recuperados após lavagem uterina de fêmeas superovuladas não corresponde ao número de corpos lúteos (CL) presentes no ovário no momento da coleta. O presente estudo objetivou avaliar a participação dos embriões retidos no oviduto na taxa final de recuperação de embriões na espécie bovina. Nos dias 8 a 12 do ciclo estral, 52 vacas mestiças foram superovuladas com duas injeções diárias de FSH-LH durante quatro dias. No terceiro dia foi aplicada uma dose luteolítica de análogo de prostaglandina F2 $\alpha$ . Os animais em estro foram submetidos a monta natural e sete dias após a cobertura os mesmos foram abatidos e seus tratos genitais recuperados. As estruturas ovarianas (CL e folículos) foram identificadas visualmente e os úteros foram lavados com aproximadamente 100 ml de PBS adicionado de 10% soro fetal bovino, utilizando um cateter de Foley. Em seguida, os ovidutos foram lavados (no sentido das fímbrias para o istmo) utilizando-se uma agulha romba acoplada a uma seringa. Os embriões foram localizados sob a lupa binocular e avaliados morfológicamente conforme critérios da IETS. No total, foram detectados 805 CL (média de 15,5 $\pm$ 0,9), sendo que 49 vacas responderam com mais de 3 CL. A taxa de recuperação de embriões, em relação ao número de CL, foi de 81,1% (653 embriões). Treze animais (25%) retiveram um ou mais embriões no oviduto, contribuindo com 4,2% (34 embriões, dos quais 10 foram considerados viáveis) do total recuperado. Considerando esses resultados, foi concluído que parte da variação na taxa de recuperação de embriões de vacas superovuladas com FSH é devida aos embriões retidos no oviduto no momento da coleta uterina.

**Termos para indexação:** Bovinos, oviduto, embriões, taxa de recuperação.

### *EMBRYOS RETAINED IN THE OVIDUCT AS A FACTOR OF VARIATION ON THE FINAL RECOVERY RATE AFTER UTERUS FLUSHING IN SUPEROVULATED COWS*

**SUMMARY:** Usually, the number of embryos recovered from the uterus of superovulated cows not correspond to the number of corpora lutea (CL) presents on the ovary at time of embryo collection. The aim of this study was to evaluate if embryos retained in the oviduct could explain the low rates of embryo recovery. Fifty two crossbred cows were superovulated in the middle of the estrus cycle (days 8 to 12) with twice daily FSL-LH injections, during 4 days. On the morning of the third day the animals were given with a luteolytic dose of prostaglandin F2 $\alpha$  analogue and mated with a bull at the induced estrous. Seven days after mating, the cows were slaughtered and the genital tract recovered for visual inspection of ovarian structures. The uterus was flushed with approximately 100 ml PBS (added of 10% bovine fetal serum), using a Foley catheter and the oviduct was injected (in the sense fimbria to isthmus) with approximately 50 ml PBS, using a needle coupled to a syringe. The embryos

were searched and morphologically evaluated (following IETS criteria) under a stereoscopy. At all, 805 CL (mean  $15.5 \pm 0.9$ ) were counted, with 49 cows showing more than 3 CL. The embryo recovery rate was 81.1% (653 embryos). Thirteen cows (25%) retained one or more embryos into the oviduct, contributing with 4.2% (34 embryos – ten of them viable embryos) from all the embryos. It was concluded that part of the variation of the embryo recovery rate from cows superovulated with FSH may be due to the embryos retained into the oviduct.

**Key words:** Bovine, oviduct, embryos, recovery rate

## INTRODUÇÃO

A inconstância da taxa de recuperação de embriões (número de estruturas coletadas/número de corpos lúteos) pode ser considerada como uma das variáveis mais “desapontadoras” no processo de produção de embriões na espécie bovina (SEIDEL e ELSDEN, 1997).

De forma geral, o número de embriões recuperados após lavagem dos cornos uterinos é 20 a 50% inferior ao número real de corpos lúteos presentes no ovário no momento da coleta (NEWCOMB et al., 1978; HAY et al., 1990; KANUYA et al., 1997). Isentando os problemas decorrentes da técnica de coleta “per se”, as causas dessa discrepância têm sido atribuídas, entre outras, à incapacidade das fimbrias ovarianas de captar todos os óvulos oriundos de ovários superovulados e à retenção de óvulos e/ou embriões no oviduto (NEWCOMB et al., 1976; BETTERIDGE et al., 1980). Entretanto, esses resultados foram observados em novilhas superovuladas com eCG (gonadotrofina coriônica equina). Sabe-se, porém, que a administração de eCG provoca um excessivo aumento do tamanho dos ovários, bem como um aumento na concentração de estrogênios nos dias seguintes à ovulação (ALVAREZ, 1985), estando esse último evento relacionado com o trânsito dos embriões no oviduto (HAWK, 1988). Conseqüência dessas alterações, a taxa de recuperação de embriões de vacas superovuladas com eCG é inferior à obtida com o emprego de hormônios de origem hipofisiária (GOULDING et al., 1991). O FSH parcialmente purificado, extraído de hipófise suína ou equina, provoca um estímulo mais moderado do crescimento ovariano em comparação ao eCG além de não alterar significativamente as concentrações hormonais de estrogênios nos dias posteriores à ovulação (ALVAREZ, 1985; NIBART et al., 1988). Contudo, ainda persiste a discordância na taxa de recuperação de embriões, em relação ao número de corpos lúteos, após lavagem de cornos uterinos nos dias 6-8 do ciclo. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar a participação dos embriões retidos no oviduto na taxa final de recuperação de embriões de vacas superovuladas com FSH.

## MATERIAL E MÉTODOS

Cinquenta e duas vacas do ecótipo mantiqueira, com idades variando de 5 a 10 anos, foram superovuladas com 500 UI de FSH-LH (Pluset, Lab. Serono) administrado em doses decrescentes, duas vezes ao dia (100-100, 75-75, 50-50 e 25-25 UI) durante 4 dias. No terceiro dia, os animais receberam uma dose luteolítica (150 µg) de D+ cloprostenol (Veteglan, Lab. Serono) e foram cobertas, no cio, com um de dois touros da mesma raça, de comprovada fertilidade, 48 e 60 horas após o cloprostenol. Sete dias após a cobertura, as vacas foram sacrificadas e os tratos genitais recuperados para identificação visual das estruturas ovarianas (corpos lúteos e folículos). Os cornos uterinos foram lavados individualmente (utilizando um cateter de Foley nº 16) com aproximadamente 100 ml de PBS adicionado de 10% soro fetal bovino. Os ovidutos foram lavados com aproximadamente 50 ml de PBS (no sentido da fimbria para o istmo) utilizando uma agulha romba acoplada a uma seringa. O líquido recuperado foi colocado em uma placa de Petri e procedeu-se a procura dos embriões utilizando uma lupa binocular. Após localizados, os embriões foram avaliados morfologicamente conforme critérios da International Embryo Transfer Society (IETS, 1990). A consolidação e análise dos dados foi feita utilizando estatística descritiva (média e porcentagem).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente trabalho quantificou o grau de participação dos embriões retidos no oviduto na taxa total de recuperação de vacas superovuladas. No total, foram observados 805 CL nas 52 vacas tratadas (média de 15,5 CL), sendo que 94% dos animais responderam com mais de 3 CL. Embriões no oviduto foram recuperados em 13 (25%) dos animais que apresentaram boa resposta à superovulação enquanto que nenhum embrião foi encontrado nos animais com fraca resposta (menos de 3 CL). O quadro 1 mostra o número de embriões recuperados no útero e oviduto e a

**Quadro 1. Número de embriões coletados dos cornos úterinos e ovidutos em relação à taxa final de recuperação de vacas superovuladas**

Item	Cornos uterinos	Ovidutos	Total
Embriões recuperados (n)	619	34	653
Taxa de recuperação*	76,9	4,2	81,1
Média de embriões recuperados	11,9	0,7	12,6
Embriões viáveis (n)	309	12	321
Média de embriões viáveis	5,9	0,2	6,1

\*em relação ao número de corpos lúteos

contribuição desses embriões na taxa final de recuperação.

Considerando que a somatória do número de embriões recuperados do útero e do oviduto não correspondeu ao número de corpos lúteos identificados nos ovários, pode-se sugerir a possibilidade de perda de oócitos na cavidade abdominal. Com efeito, embora mais moderado que o tratamento com eCG, a superovulação com FSH também provoca um aumento significativo no tamanho dos ovários (ALVAREZ, 1985). Esse aumento impediria às fimbrias ovarianas a captação de parte dos oócitos no momento da ovulação.

Diferente do estudo de BRAND et al. (1978) onde não foi encontrado nenhum embrião no oviduto de vacas abatidas entre os dias 7 e 12, os embriões recuperados do oviduto no presente experimento representaram 5,02% (1,8% viáveis) do total de embriões recuperados. Esses valores são próximos aos relatados por NEWCOMB et al. (1976) e BETTERIDGE et al. (1980) utilizando novilhas superovuladas com eCG e coletadas no dia 7 (7,9%) e 16 (6,1%), respectivamente.

Dois animais que apresentaram boa resposta ovariana apresentaram obstrução na junção útero-tubárica (Figura 1) e na região inicial do oviduto (Figura 2). Não foi estabelecida a implicação dessa patologia na taxa de recuperação de embriões pois tanto no útero como no oviduto não foi encontrada qualquer estrutura. É provável, contudo, que o bloqueio do trânsito dos embriões, provocado por infecções no oviduto, possa ser responsável pela retenção de embriões nessa região

A evidência do presente estudo mostra que, embora a retenção de embriões no oviduto possa estar relacionada com algum tipo de patologia que provoque sua obstrução, na maioria dos casos a retenção de embriões

no oviduto está associada com problemas de ordem fisiológico ou endocrinológico que interferem no tempo de permanência e na velocidade de transporte dos embriões pelo oviduto. Dessa forma, ao menos em alguns animais, o intervalo entre a primeira e a última ovulação pode ser maior que as 8 horas relatadas previamente por LAURINCIK et al. (1993) para animais superovulados. Ainda, alterações hormonais, particularmente nas concentrações de estradiol pós-ovulatório, provocadas pela superovulação, podem igualmente influenciar o trânsito de óvulos e/ou embriões através do oviduto, conforme sugerido por HAWK (1988) e GREVE et al., (1995).

## CONCLUSÃO

As informações do presente estudo permitem concluir que parte da variação na taxa de recuperação de embriões de vacas superovuladas com FSH é devida aos embriões retidos no oviduto no momento da coleta uterina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, R.H. *Contribution à l'étude de la production et de la congélation d'embryons chez les bovins*. Maisons-Alfort: École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1985. 102 f. Dissertação de Mestrado.
- BETTERIDGE, K.L., EAGLESOME, M.D., RANDALL, G.C.B. et al. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16 days after estrus. *Journal of Reproduction and Fertility*, Cambridge, v.59, n.1, p.205-16, 1980.

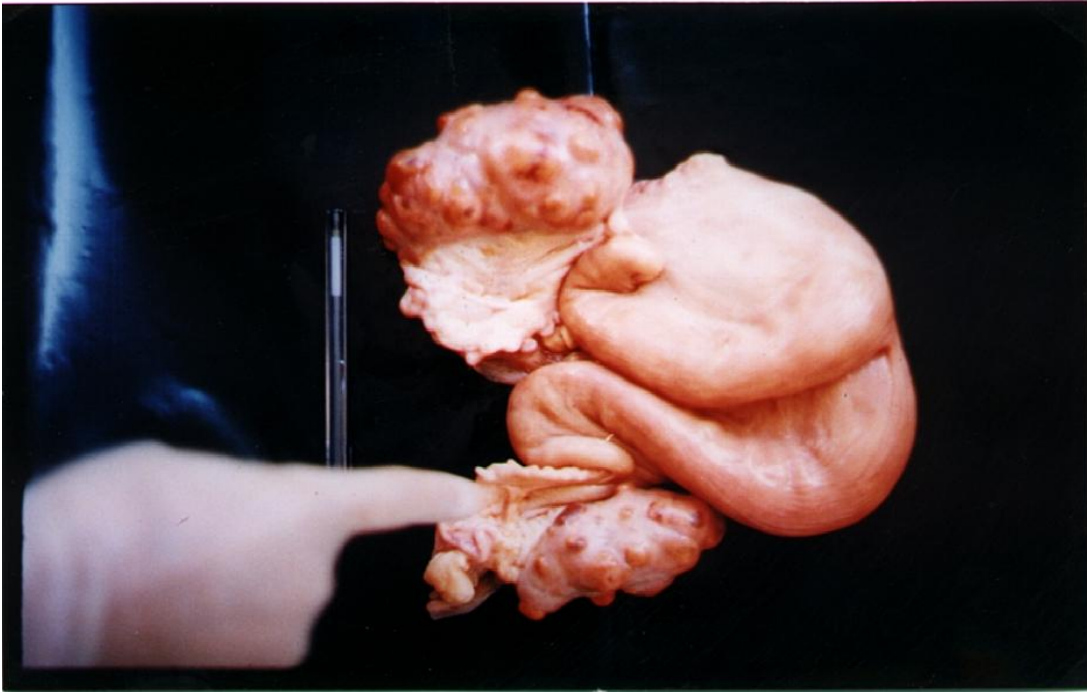


Figura 1. Abcesso periuterino bloqueando a junção útero-tubárica em vaca superovulada. Não foram recuperados embriões no corno uterino nem no oviduto adjacente à infecção

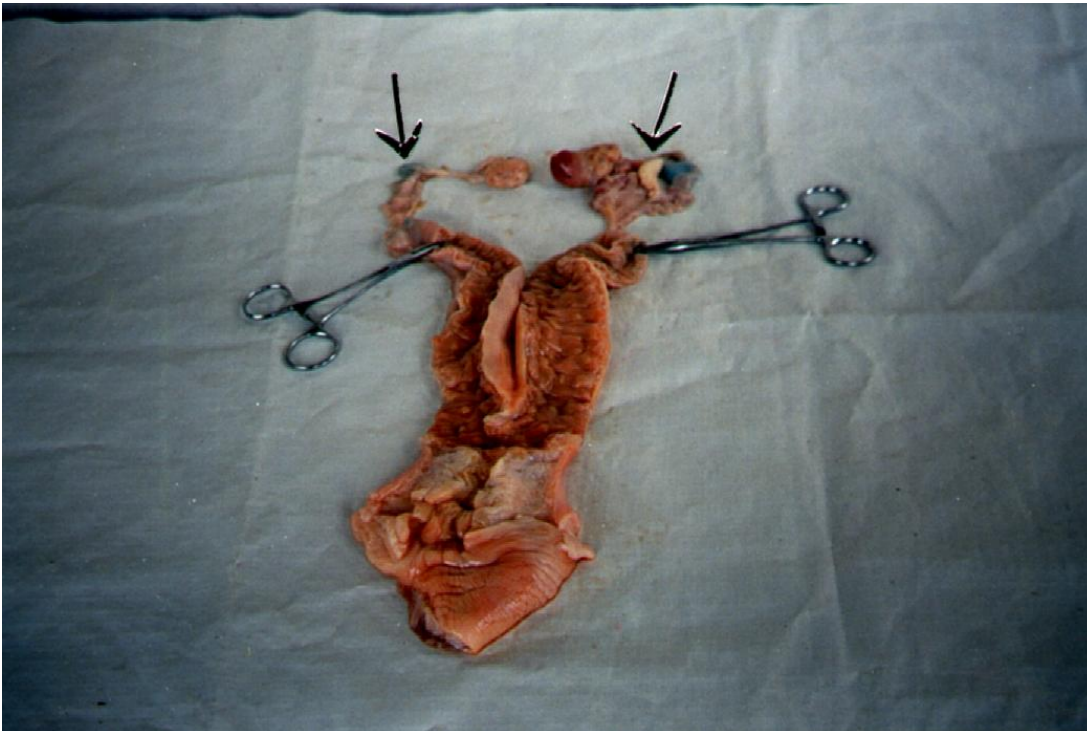


Figura 2. Infecção no início das trompas (provavelmente causada por *Actinomyces pyogenes*) em vaca superovulada. Não foram recuperados embriões no útero nem nos ovidutos desse animal

- BRAND, A., TROUNSON, A.O., AARTS, M.H. et al. Superovulation and non-surgical embryo recovery in the lactating dairy cow. *Animal Production, East Lothian*, v.26, (Feb.), p.55-60, 1978.
- GOULDING, D., WILLIAMS, D.H., ROCHE, J.F. et al. Superovulation in heifers using either pregnant mare serum gonadotrophin or follicle stimulating hormone during the mid luteal stage of the estrous cycle. *Theriogenology, Woburn*, v.36, n.6, p.949-59, 1991.
- GREVE, T., CALLESEN, H., HYTTEL, P. et al. The effects of exogenous gonadotropins on oocyte and embryo quality in cattle. *Theriogenology, Woburn*, v.43, n.1, p.41-50, 1995.
- HAWK, H.W. Gamete transport in the superovulated cow. *Theriogenology, Woburn*, v.29 n.1, p.125-42, 1988.
- HAY, J.H., PHELPS, D.A., HANKS, D.R. et al. Sequential uterine horn versus simultaneous total uterine flush to recover bovine embryos nonsurgically. *Theriogenology, Woburn*, v.33, n.2, p.563-7, 1990.
- IETS. Manual of International Embryo Transfer Society. Ed. D.A. Stringfellow & S.M. Seidel. Champaign, 1990. 72 p.
- KANUYA, N., SCHMIDT, M., CHRIEL, M. et al. Diagnóctic accuracy of estimating the number of CL and ovarian volume to predict superovulatory response in dairy cattle. *Reproduction in Dom. Anima., Berlin*, v.32, n.6, p.291-6, 1997.
- LAURINCIK, J., OBERFRANC, M., HYTTEL, P. et al. Characterization of the preovulatory period in superovulated heifers. *Theriogenology, Woburn*, v.39, n.2, p.537-544, 1993.
- NEWCOMB, R., CHRISTIE, W.B., ROWSON, L.E.A. Non-surgical recovery of bovine embryos. *The Vet. Rec., Oxford*, v.102, n.13, p.414-417, 1978.
- NIBART, M., SLIMANE, N. HERRERA, R. et al. Variations des concentrations plasmatiques des hormones gonadotropes (FSH, LH) et steroïdes (oestradiol-17B, progesterone) après differents traitements de superovulation chez la vache. *Elev. et Insem. Paris*, n.226 p. 11-30, 1988.
- SEIDEL, G.E. ; ELSDEN, P. Embryo transfer in dairy cattle. W.D. Hoard & Sons Company, 1997. 103 p.