

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL TRANSCERVICAL EM OVINOS

TOMA, Hugo Shisei¹; LANDIM-ALVARENGA, Fernanda Cruz²; MONTEIRO,
Claudia Dias²

¹ Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho - Unesp, Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil. Distrito Rubião Júnior, s/n, Unesp - FMVZ Departamento de Clínica Veterinária, Botucatu/SP, CEP:18.618-000. Autor para correspondência. E-mail: hugost@ig.com.br

² Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho - Unesp, Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil. Distrito Rubião Junior s/n, Unesp - FMVZ Departamento Reprodução Animal, Botucatu/SP, CEP:18.606-000. E-mail: vettragi@ig.com.br



RESUMO

A inseminação artificial (IA) em ovinos é uma prática que está crescendo principalmente em animais selecionados para promoverem melhorias genéticas em seus respectivos rebanhos. A técnica mais utilizada em ovinos atualmente é a de IA por via laparoscópica, esta, quando corretamente executada, permite a deposição do sêmen diretamente no útero, mas é uma técnica invasiva e requer vários cuidados. A via natural de acesso ao útero seria a via transcervical, mas esta é de difícil adoção na espécie ovina, já que a cérvix ou colo uterino constitui um dos maiores obstáculos à passagem de instrumentos por ser de difícil dilatação, ter estrutura rígida, ser longa e bastante fechada. A IA transcervical é uma técnica que bem dominada e mostrando bons resultados tem alta probabilidade de se tornar rotineiramente usada, pois se trata de um procedimento barato, que não oferece risco cirúrgico aos animais e não exige mão de obra tão especializada como a técnica laparoscópica.

Palavras-chave adicionais: Inseminação artificial, Ovinos, transcervical, laparoscopia.

SUMMARY

The artificial insemination in ewes is a practice that is growing mainly in animals selected for us to promote genetic improvements in their respective flocks. The technique more used in ewes now it is the one of it went for road laparoscopic, this, when correctly executed, it allows the deposition of the semen directly in the uterus propitiating pregnancy indexes similar to the obtained with it sets up natural, but this requests several cares. The natural road of access to the uterus would be the road transcervical, but this is of difficult adoption in this species, since the cervix or uterine lap constitutes one of the largest obstacles to the passage of instruments for being of difficult dilation, to have rigid structure, to be long and quite closed. Transcervical insemination is a technique that well dominated and showing good results has high probability of turning used usually, therefore it is a cheap procedure, that it don't offer surgical risk to the animals and it don't demand work hand as specialized as the laparoscopic technique.

Key Words: Artificial insemination, ewes, transcervical, laparoscopic.



1-INTRODUÇÃO

Dentro da indústria de bovinos, a inseminação artificial (IA) é usada rotineiramente para aumentar a produção e melhorar a descendência pela introdução de genótipos superiores; em ovinos o mesmo poderia ser feito aumentando ao máximo o uso de carneiros superiores e controlando doenças contagiosas nos rebanhos. Estas vantagens ainda são imensamente facilitadas se a técnica for realizada com o uso de sêmen congelado (HALBERT et al., 1990; KERSHAW et al., 2005).

O principal fator a limitar a fertilidade de ovelhas inseminadas com sêmen congelado de carneiro é a inabilidade do espermatozóide ovino em passar a cérvix da ovelha depois de submetido aos processos de congelamento. A natureza exata das mudanças celulares que causam este problema ainda é desconhecida (WINDSOR, 1995).

Enquanto as técnicas de IA em bovinos já são bem desenvolvidas, as mesmas para ovinos não progrediram muito além das que utilizam laparoscopia como princípio (CAMPBELL et al., 1996).

A Inseminação artificial, quando aplicada juntamente com a prova de progênie, pode aumentar a taxa de progresso genético substancialmente, como já foi demonstrado claramente nos bovinos e pode vir a ser em ovinos (DONOVAN et al., 2004).

A IA é uma prática que está crescendo em ovinos, especialmente em países que importam animais selecionados visando melhorias genéticas em seus rebanhos. (CAMPBELL et al., 1996)

Porém, a falta de um procedimento de inseminação artificial e transferência de embrião não cirúrgico em ovelhas limita severamente o uso destas biotecnologias da reprodução nesta espécie (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

A inseminação artificial e transferência de embriões realizadas cirurgicamente não são, na maioria das vezes, possíveis comercialmente, pois são eficientes, mas caras, consomem tempo, requerem competência técnica, limitam o número de ovelhas usadas por procedimento e necessitam de anestesia (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

Há duas principais barreiras cervicais na fêmea ovina: tamanho e formato da cérvix externa e tortuosidade do canal cervical. Portanto, um procedimento eficaz de



inseminação artificial ou transferência de embrião transcervical para ovelhas deve incluir um método atraumático para transpor a cérvix (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

As freqüentes baixas taxas de penetração cervical em ovelhas representam uma importante limitação para o uso de técnicas de IATC (WINDSOR, 1995).

A anatomia cervical limita o uso de inseminação artificial transcervical intra-uterina (IATC) em ovinos (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

O objetivo deste texto é a revisão de artigos e outras publicações relacionados à inseminação artificial transcervical em ovinos, já que esta é uma técnica que visa a redução de custos e maior difusão das biotecnologias reprodutivas nesta espécie.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Anatomia e peculiaridades da cérvix ovina

O conhecimento da anatomia cervical é muito importante para que seja possível a realização de estudos de técnicas visando sua transposição (HALBERT et al., 1990).

A cérvix ovina é um órgão tubular longo, fibroso composto predominantemente de tecido conectivo com uma camada de serosa exterior e epitélio luminal interno (KERSHAW et al., 2005).

A natureza tortuosa e fechada da cérvix ovina restringe a passagem de aplicadores de inseminação artificial transcervical. Há duas barreiras principais no trato genital de ovelhas: tamanho e formato da cérvix externa e natureza excêntrica do lúmen. Portanto, um procedimento de IATC efetivo para ovinos deve incluir um método atraumático de transposição cervical (CROY et al., 1999; WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

A morfologia do lúmen afeta diretamente a profundidade de penetração cervical, este é altamente enrolado e tortuoso devido à presença de 4-7 anéis cervicais que formam uma barreira física a contaminantes externos. Estes anéis são a barreira principal a inseminação artificial transcervical, pois além de se projetarem no lúmen, o segundo e terceiro anéis freqüentemente estão fora de alinhamento com o primeiro, por estes e outros motivos a inserção da pipeta além de 1 cm no canal cervical é dificultada (KERSHAW et al., 2005).



A oclusão existente entre trato genital externo e interno tem como objetivo evitar grande número de infecções (EVANS; MAXWELL, 1990).

A anatomia da cérvix ovina é altamente variável entre animais e pode esclarecer a grande diferença no sucesso da IATC entre indivíduos (KERSHAW et al., 2005).

O número de crias, a idade, o parto e o estado fisiológico influenciam no comprimento da cérvix ovina. A medida do comprimento do canal cervical tem sido descrita variando de 5,7 a até 10 cm, ilustrando a alta variabilidade entre indivíduos (HUSEIN et al., 1998; KERSHAW et al., 2005).

Devido ao alongamento cervical extenso que ocorre no parto ovelhas pluríparas apresentam maior facilidade de penetração cervical em relação à nulíparas (WINDSOR, 1995).

A morfologia cervical externa também difere entre ovelhas, as principais variações são percebidas em projeções vaginais e, arranjo e quantidade de tecido fibroso que a cercam. Então, faz-se necessário estudar a estrutura anatômica da cérvix ovina para que seja possível o desenvolvimento de um procedimento de inseminação artificial mais eficaz (KERSHAW et al., 2005).

Foram identificados cinco tipos de morfologia cervical externa:

1. Bico de pato: abertura com duas dobras adversárias
2. Racho: abertura sem nenhuma protrusão na vagina
3. Roseta: abertura com agrupamento de dobras cervicais que protraem na vagina
4. Papila: abertura com uma papila que protraí na vagina
5. Aba: abertura com uma dobra de tecido cervical que protraí na vagina

Os tipos de morfologia cervical externa mais freqüente são o da aba 107/297 (36.0%) seguida através do bico de pato 77 / 297 (25.9%) e da roseta 56/297 (18.9%). Esta porcentagem é afetada por fatores como idade e fase do ciclo estral. Em ovelhas adultas o tipo roseta é mais freqüente (21,9%) do que em cordeiras e borregas (5.4%), já para o tipo papila o contrário ocorre (9.4% em adultas contra 21.6% em jovens). Já os outros três tipos não apresentaram diferença na distribuição (KERSHAW et al., 2005).

A penetrabilidade cervical em ovelhas é influenciada pelo grau de dilatação luminal e pela fase do ciclo estral. O segundo e terceiro anéis cervicais são desalinhados em relação ao primeiro, e, além disso, a distância média do segundo anel para o exterior é de 26 mm em jovens e de 41 mm em adultas (KERSHAW et al., 2005).



2.2. Dados sobre inseminação artificial em ovelhas

Em ovinos, a taxa de concepção resultante de inseminação artificial cervical com sêmen congelado é pobre. Para a fertilidade da inseminação artificial com sêmen congelado em ovinos se aproximar das taxas alcançadas por monta natural e inseminação artificial por laparoscopia a deposição do sêmen diretamente no útero é necessária (KERSHAW et al., 2005).

Visando o desenvolvimento de uma técnica de IA menos invasiva e trabalhosa, o método transcervical passou a ser mais estudado, pois para que ele possa ter uso comercial faz-se necessário o aumento de taxas de concepção tão boas ou melhores quando comparados com as decorrentes de laparoscopia (CAMPBELL et al., 1996).

A inseminação artificial em ovelhas está atualmente limitada pela fertilidade pobre obtida na técnica transcervical não-cirúrgica com uso de sêmen congelado (DONOVAN et al., 2004).

Atualmente a laparoscopia é a única técnica comercialmente utilizada para a realização da inseminação intra-uterina em fêmeas ovinas. Porém, esta não teve sua adoção mais difundida na criação de ovinos, devido a preocupações com o bem-estar dos animais, limitações financeiras e necessidade de técnicos especializados. Uma técnica alternativa seria a inseminação artificial transcervical, porém seu uso é limitado pelas peculiaridades da anatomia cervical ovina, que geralmente impede a passagem da pipeta de inseminação artificial para o corpo do útero (KERSHAW et al., 2005).

Recentes trabalhos indicam que a inseminação artificial transcervical pode produzir taxas de prenhez de 50,7% com o uso de sêmen congelado (CAMPBELL et al., 1996).

As taxas de prenhez após IA intra-uterina são maiores do que as obtidas após a realização de IA cervical (SAYRE; LEWIS, 1997).

Taxas de 18 % de prenhez foram obtidas após inseminação artificial cervical e de 57% após transcervical intra-uterina com sêmen congelado (CAMPBELL et al., 1996).

O sêmen fresco fornece taxas de concepção aceitáveis via inseminação cervical ou vaginal, porém deve-se depositá-lo diretamente no útero, quando utilizado congelado-descongelado, para assegurar fertilidade adequada (WINDSOR, 1995).



Maxwell & Hewitt (1986) comparou técnicas de inseminação com sêmen congelado em ovelhas Merino e observou diferença na taxa de prenhez entre as inseminações vaginais, cervicais e intra-uterinas (17,2; 30,1 e 60,6% respectivamente).

Exames de necrópsia em animais estéreis indicaram uma alta incidência de abscessos pericervicais e piometra, estes provavelmente devido a penetração no trato reprodutivo decorrente da inseminação artificial transcervical (CAMPBELL et al., 1996).

Estudos indicam que cerca de 50% dos animais inseminados por via transcervical apresentam algum grau de lesão na mucosa do trato reprodutivo (CAMPBELL et al., 1996).

A habilidade do inseminador também influencia estas taxas, se experiente 32% de prenhez com sêmen congelado é esperado, já se inexperiente 19% (CAMPBELL et al., 1996).

Procedimentos de inseminação artificial transcervical são menos onerosos que a laparoscopia, e não envolvem entrada cirúrgica à cavidade abdominal. Neste procedimento a anestesia, habilidades veterinárias e o aparelho de laparoscopia não são necessários (WINDSOR, 1995).

A taxa de penetração cervical (a proporção de ovelhas na qual a pipeta de AI pode atravessar a cérvix) foi identificada como o principal limitador desta técnica (WINDSOR, 1995).

A inseminação transcervical com sêmen congelado pode resultar em taxas de nascimento (28.5%) semelhantes às obtidas com a IA cervical (22.7%) (NAQVI et al., 1998).

A inseminação artificial com sêmen congelado ainda não tem sido adotada amplamente por produtores de ovelhas comerciais, pois baixas taxas de fertilidade são obtidas na técnica transcervical, e, na laparoscópica apesar dos índices serem aceitáveis seu custo e maior exigência de mão de obra especializado são problemas (SANCHEZ-PARTIDA et al., 1999).

Autores como Paulenz et al. (2002) afirma não ser significativa a diferença na taxa de retorno entre animais inseminados via cervical ou vaginal (SZABADOS et al., 2005).



A taxa de fertilização dos óvulos é mais baixa em ovelhas inseminadas por via transcervical quando comparada com ovelhas inseminadas por laparoscopia (SAYRE; LEWIS, 1997).

Vários autores chamam a atenção para o risco de lesão no canal cervical durante a realização da técnica de IATC (SZABADOS et al., 2005).

2.3. Meios que visam facilitar a realização da inseminação transcervical (IATC) em ovinos

A seleção de animais em condições favoráveis a realização da inseminação transcervical pode ser feita (WINDSOR, 1995).

Atualmente a maioria dos equipamentos para inseminação artificial e transferência de embrião transcervical para ovinos são parecidos com os equipamentos para bovinos, e geralmente são tão rígidos e tão grandes quanto o diâmetro da cérvix da ovelha. Esses instrumentos geralmente causam lesões e rasgam a cérvix, possivelmente causando a liberação de substâncias espermicidas e embriocidas e, portanto diminuindo a fertilidade, porém tem-se estudado a utilização de novos equipamentos (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004; KERSHAW et al., 2005).

Há três métodos para reduzir os efeitos da morfologia cervical ovina:

-físico: prender com uma pinça hemostática a parte externa da cérvix e tracioná-la para alinhar o canal cervical e diminuir as obstruções para chegar ao lúmen uterino.

-químico: dilatando a cérvix com PGE₂, ocitocina ou outras drogas.

-mecânico: utilizando um equipamento para inseminação artificial e transferência de embrião transcervical apropriado para vencer as dificuldades físicas relacionadas à cérvix ovina (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

Se de algum modo fosse possível à tração da cérvix para mais próximo da saída do trato genital a deposição do sêmen poderia ser feita com maior profundidade mais facilmente (SZABADOS et al., 2005).

Outros métodos mecânicos de transposição cervical como a tração do colo uterino, têm sido realizados com a utilização de instrumentos de inseminação modificados (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

Souza (1993) testou dois métodos de inseminação transcervical com sêmen congelado sob estro natural usando um aplicador e agulha de Cassou. Para o grupo



inseminado sem tração foi obtido menor grau de profundidade, para o grupo inseminado com tração foi obtida maior profundidade cervical em decorrência da distensão do canal com suas dobras.

O percentual de prenhez não é influenciado pelo grau de penetração cervical (superficial ou profundo) (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

A inseminação por laparoscopia alcançou um índice de prenhez de 57,14%, superior apenas ao alcançado pela IA sem tração (29%), e semelhante ao da IA com tração (45%) (WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

O sucesso da penetração cervical usando pipeta de inseminação artificial também depende de outros fatores como a posição e variação individual da ovelha e possivelmente a habilidade do técnico (WINDSOR, 1994; WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004; KERSHAW et al., 2005).

Há autores que relatam taxas de penetração cervical de 100% em ovelhas inseminadas entre 8 e 12 semanas pós-parto (comparado a taxas de penetração cervical de 77% com 12 semanas pós-parto). Isto pode refletir a variação entre animais ou diferença na habilidade do veterinário (WINDSOR, 1994; WULSTER-RADCLIFFE et al., 2004).

A fase do ciclo afetou a penetrabilidade da cérvix e a profundidade média de penetração; na fase não luteal a penetração foi 4.6 mm maior do que na luteal e isto é relevante já que se aumentando em 10 mm a profundidade de deposição do sêmen na cérvix aumenta-se em 10% a taxa de prenhez. A maior profundidade de penetração cervical em ovelhas em fase não luteal sugere que há um grau de relaxamento natural da cérvix no estro, possivelmente como uma consequência da ação de esteróides ovarianos (KERSHAW et al., 2005).

Segundo Evans e Maxwell (1990) resultados desanimadores têm sido obtidos com a aplicação de relaxina ou cocaína para dilatar a cérvix de ovinos. Já a ocitocina parece estar envolvida diretamente no amolecimento da cérvix, apesar de que o exato mecanismo de sua ação não estar claro (SAYRE; LEWIS, 1996; 1997).

Alguns autores propõem que o aumento na concentração de estradiol associado com o estro e ovulação estimulam a máxima expressão de receptores cervicais de ocitocina e, esta induz o relaxamento cervical e estimula a liberação de prostaglandina E



e conseqüentemente de COX 2, resultando em relaxamento e remodelamento cervical nesta fase (KERSHAW et al., 2005).

A ocitocina exógena induz contração uterina e relaxamento cervical, portanto pode ser uma boa opção para facilitar a passagem da cérvix e chegada ao útero (SAYRE; LEWIS, 1997).

A redução na taxa de fertilização dos óvulos esta mais ligada ao método de IATC do que ao uso de ocitocina endógena apesar de alguns autores defenderem a tese de que a ocitocina afeta o transporte de espermatozoides do útero para o oviduto (SAYRE; LEWIS, 1997).

A taxa de recuperação embrionária em ovelhas inseminadas laparoscopicamente é maior do que em fêmeas inseminadas por via transcervical; com tratamento de ocitocina em ambos os grupos. Já a qualidade do embrião não diferiu com o método de IA ou tratamento de ocitocina (SAYRE; LEWIS, 1997).

A penetrabilidade da cérvix ovina não diferiu durante o decorrer do estro, mas alguns autores, como Epplston et al. (1994) defendem a tese de que a penetração é maior 12 horas após o início do estro e outros, como Milovanov & Sokolovskoya (1980), a tese de que penetração é facilitada no final do estro (NAQVI et al., 1998).

3. CONCLUSÃO

A inseminação artificial (IA) principalmente quando feita com o uso de sêmen congelado visa aumentar a produção e melhorar a descendência pela introdução de genótipos superiores; esta é uma técnica rotineiramente utilizada em bovinos, mas ainda instável em ovinos.

Várias técnicas de inseminação artificial em ovinos já foram estudadas, mas duas se destacam, a IA laparoscópica e a IA transcervical. A primeira apresenta bons índices, mas exige mão de obra especializada já que se trata de um procedimento cirúrgico e de mais alto custo, já a segunda é de mais fácil execução e de menor custo, porém até o momento apresenta índices inferiores e de grande oscilação.

A morfologia cervical ovina é a principal limitação à realização da IATC, pois é tortuosa, restringindo a passagem de aplicadores.



Vários estudos têm sido feitos visando encontrar métodos tanto físicos como químicos ou mecânicos que facilitem de alguma forma a transposição cervical em ovelhas.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMPBELL, J.W.; HARVEY, T.G.; MCDONALD, M.F.; SPARKSMAN, R.I. Transcervical insemination in sheep: an anatomical and histological evaluation. *Theriogenology*, v. 45, p. 1535-1544, 1996.

CROY, B.A.; PRUDENCIO, J.; MINHAS, K. A preliminary study on the usefulness of hull-8 in cervical relaxation of the ewe for artificial insemination and for embryo transfer. *Theriogenology*, v.52, p.271-287, 1999.

DONOVAN, A.; HANRAHAN, J.P.; KUMMEN, E.; DUFFY, P.; BOLAND, M.P. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Animal Reproduction Science*, v.84, p.359-368, 2004.

EPPLESTON, J.; SALAMON, S.; MOORE, N.W.; EVANS, G. The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relationship to the fertility of frozen-thawed ram semen. *Animal Reproduction Science*, v.36, p. 211-225, 1994.

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. **Inseminación artificial de ovejas y cabras.** España: Zaragoza, p.192, 1990.

HALBERT, G.W.; DOBSON, H.; WALTON, J.S. The structure of cervical canal of the ewe. *Theriogenology*, v.33, p.977-992, 1990.

HUSEIN, M.Q.; BAILEY, M.T.; ABABNEH, J.E. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewes transcervically inseminated with frozen-thawed semen outside the breeding season. *Theriogenology*, v.49, p.997-1005, 1998.



KERSHAW, C.M.; KHALID, M.; MCGOWAN, M.R.; INGRAM, K.; LEETHONGDE E, S.; WAX, G.; SCARAMUZZI, R.J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, v.64, p.1225-1235, 2005.

MAXWELL, W.M.C.; HEWITT, L.J. A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. *The Journal of Agricultural Science*, v.106, p.191-193, 1986.

NAQVI, S.M.K., JOSHI, A., MATHUR, A.K., BAS, S., MITTAL, J.P. Intrauterine artificial insemination of Malpura ewes in natural estrus with frozen ram semen. *Small Ruminants Research*, v. 29, p.329-333, 1998

PAULENZ, H.; ADNOY, T.; FOSSEN, O.H.; SODERQUIST, L.; BERG, K.A. Effect of deposition site and sperm number on the fertility of sheep inseminated with liquid semen. *Veterinary Record*, v.150, p. 299-304, 2002.

SANCHEZPARTIDA, G.; WINDSOR, D.P.; EPPLESTON, J.; SETCHELL, B.P.; MAXWELL, W.M.C. Fertility and Its Relationship to Motility Characteristics of Spermatozoa in Ewes After Cervical, Transcervical, and Intrauterine Insemination With Frozen-Thawed Ram Semen. *Journal of Andrology*, v.20, No. 2, p. 280-288, 1999.

SZABADOS, T.; GERGÁTZ, E.; VITINGER, E.; TASI, ZS.; GYÖKÉR, E. Lambing rate as a function of artificial insemination depth in ewe lambs, primiparous and multiparous ewes. *Acta Agraria Kaposvariensis*, v.9, p.41-49, 2005.

SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Cervical dilatation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewe. *Theriogenology*, v.45, p.1523-1533, 1996.



SAYRE, B.L.; LEWIS, G.S. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. *Theriogenology*, v.48, p.267-275, 1997.

SOUZA, M.I.L. **A via cervical na inseminação artificial ovina com sêmen congelado**. 1993. 47p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

WINDSOR, D.P. Factors influencing the success of transcervical insemination in merino ewes. *Theriogenology*, v.43, p.1009-1018, 1995.

WULSTER-RADCLIFFE, M.C.; WANG, S.; LEWIS, G.S. Transcervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rats. *Theriogenology*, v.62, p.990-1002, 2004.

