

ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE EMBRIÕES NA FERTILIZAÇÃO *IN VITRO* E TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES PARA DOADORAS NELORE¹

Renato Travassos Beltrame², Celia Raquel Quirino³; Luis Gustavo Barioni⁴, Aline Pacheco²

¹Parte da Dissertação do primeiro autor, financiada pelo CNPq

²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UENF/CCTA, Campos dos Goytacazes-RJ. e-mail: rt_beltrame@hotmail.com

³Pesquisador da Embrapa Cerrados – barioni@cpac.embrapa.br

Resumo: Uma função de densidade probabilidade para o número de embriões viáveis produzidos após *Fertilização In Vitro* em doadoras da raça Nelore foi ajustada a partir de dados fornecidos pela Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ). Resultados partiram da análise referente a 20.619 doadoras, 71.602 aspirações e um total de 509.643 embriões. A densidade probabilidade do número de embriões viáveis foi modelada utilizando a função exponencial. A determinação dos parâmetros foi executada utilizando a máxima verossimilhança em um método de gradiente não linear. O nível de precisão obtido foi de $RMSE = 0.040$ e $R^2 = 0.98$ para representação da probabilidade do número de embriões viáveis produzidos por doadoras Nelore na técnica de *Fertilização In Vitro*. A comparação com a curva de densidade probabilidade da recuperação embrionária determinada em Beltrame 2006, foi realizada através da técnica de comparação de curvas pelo teste F segundo o descrito por Silva & Azevedo (2002). Não foram encontradas diferenças entre as curvas. Ainda sugere-se a existência de um fator único limitante que afete biologicamente a produção de embriões nas duas técnicas.

Palavras-chave: banco de dados, densidade probabilidade, simulação

Embryo production analysis at in vitro fertilization and embryo transfer for Nelore Donors

Abstract: A probability density function for the number of viable embryos produced after a *in vitro* fertilization program in Nelore donors was adjusted through data provided by the Brazilian Association of Zebu Creators. Results were based on 20.619 donors, 71.602 aspirations and the total of 509.643 embryos. The probability density function of the number of viable embryos was modeled using exponential distribution. Parameters fitting were carried out for the maximum likelihood using a non-linear gradient method. The precision level was $RMSE = 0.040$ and $R^2 = 0.98$ for the representation of probability of number of viable embryos at in vitro fertilization technique. To analyze probability density of embryo recovery (Beltrame, 2006) with in vitro fertilization adjust was used the curve comparison test through F test (Silva and Azevedo, 2002). There weren't differences between the curves. These results suggest that there may be a unique and restricts factor that affects biologically the embryo production on the both techniques.

Keywords: data bank, probability density, simulation

Introdução

Durante o processo de Transferência de embriões convencional (TE) ou Fertilização in Vitro (FIV) de embriões de uma doadora qualquer é impossível prever o número de embriões viáveis que serão produzidos. Inúmeras decisões pertinentes a FIV e a TE são dependentes desta informação (número de receptoras à sincronizar, custo, número de embriões a congelar, material utilizado, tempo, etc). Mesmo assim, em algumas biotécnicas da reprodução animal, é necessário fazer previsões a respeito do valor futuro de certas variáveis, tomando por base dados históricos (Beltrame et al., 2007).

Fica evidente, portanto, a necessidade de um estudo mais apurado do comportamento de uma série de variáveis aleatórias, objetivando determinar seu comportamento em cenários simulados e não sua utilização como variáveis deterministas.

A determinação da curva de densidade probabilidade da variável número de embriões viáveis, objetiva sua projeção de forma realista em estudos de simulação. Assim, estimativas do

número de prenhez, número de receptoras e doadoras a se utilizar, custo da técnica, elaboração de projetos e cálculos de viabilidade financeira podem ser realizados com maior precisão minimizando risco (Beltrame 2006).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é determinar a curva de densidade probabilidade do número de embriões viáveis produzidos por FIV para doadoras da raça Nelore, efetuando sua comparação com a curva de densidade probabilidade da TE determinada por Beltrame em 2006.

Material e Métodos

O presente trabalho tomou por base dados concedidos pela Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ) relativos FIV em doadoras da raça Nelore.

As informações foram organizadas em planilhas do Microsoft Excel 2003 e a partir deste ponto analisadas através da ferramenta SAS for Windows 1999. Dados de 73.121 aspirações foram disponibilizadas. Uma vez na ferramenta SAS, eliminaram-se da análise todos os dados incoerentes ou de valores nulo. Consideraram-se apenas as aspirações realizadas entre os anos de 2000 à 2007.

Foram retiradas da análise as aspirações onde o número de embriões obtidos e/ou perdidos eram superiores a 35, apresentavam datas inconsistentes e/ ou valores em branco.

A aplicação da restrição resultou na eliminação de 1519 aspirações. A análise partiu então de dados referentes a 20.619 doadoras, 71.602 aspirações e 509.643 embriões.

A seleção dos dados relevantes foi realizada através da função 'proc freq' do SAS for Windows 1999. No caso específico, esta função retornou o somatório do número observado de aspirações, para cada valor de número de embriões viáveis gerados.

A frequência observada corresponde à demonstração do evento específico no passado. Os dados obtidos representam o somatório do número de aspirações com embriões viáveis variando de 0 a 35. Tais informações possibilitaram a determinação da curva de densidade probabilidade.

A frequência observada das aspirações que apresentam numero de embriões viáveis nulos foi interpretada como dado atípico ($f(0) = 0,63$). Embora passível de ocorrência, sugere-se que tal dado seja proveniente da falha de comunicação por veterinários e fazendeiros das aspirações, apresentando frequência extremamente baixa. Diante de tal fato definiu-se por estimar a frequência nula como sendo similar à frequência de obtenção de um embrião viável e a partir daí realizar seu ajuste.

A disposição gráfica das diversas distribuições existentes, e o comportamento dos dados observados sugeriu uma aproximação à distribuição exponencial negativa [$EX(\lambda)$] (Benjamin & Cornell, 1970). Sendo assim, uma metodologia numérica foi utilizada com intuito de identificar o melhor valor dos parâmetros e comparar o ajuste destes modelos em relação aos dados observados.

A estimação dos parâmetros da distribuição e seu ajuste, para representar com eficiência a variância e minimizar o erro total, foi realizada através do método da "máxima verossimilhança" e de seu estimador. O método GRG2 como instrumento de otimização foi aplicado usando Microsoft Excel 2003® Solver.

Estatisticamente, após a parametrização do modelo, procedeu-se o teste F e calculou-se o coeficiente de determinação. Assim, foi determinado o quanto da variância obtida na parametrização era explicada pelo modelo e a significância dos dados obtidos pela nova distribuição.

Como critérios de escolha da melhor função de distribuição que se ajusta aos dados observados foram avaliados em fator de importância respectivamente: a) Soma do quadrado do erro (SQerro); b) erro de predição

Resultados e Discussão

Para FIV, a media de embriões viáveis revelados pela frequência observada foi de 6,43. O parâmetro de ajuste do modelo para FIV foi $k = 0,148$ para a distribuição exponencial negativa. Considerou-se o ajuste altamente significativo ($P < 0,0001$; tabela 1 e figura 1).

O coeficiente de determinação também pode ser considerado alto ($R^2 = 0,98$), indicando que a distribuição explica a maior parte da variância nos dados observados. O erro padrão da regressão foi de 0,040.

Tabela 1. Caracteres da análise de variância para a distribuição exponencial ajustada.

FV	GL	SQ	QM	F	P>
Regressão	1	0,04023	0,0402	2510,9	0.0001**
Erro	34	0,00062	1,60E-05	-	-
Total	35	0,04085	-	-	-
R2	0,98471		-	-	-

FV=Fonte de variação; GL= Grau de liberdade; SQ= Soma do quadrado do erro; QM= Quadrado médio; F= Teste de Significância; ** = probabilidade $P < (0,01)$ – altamente significativa

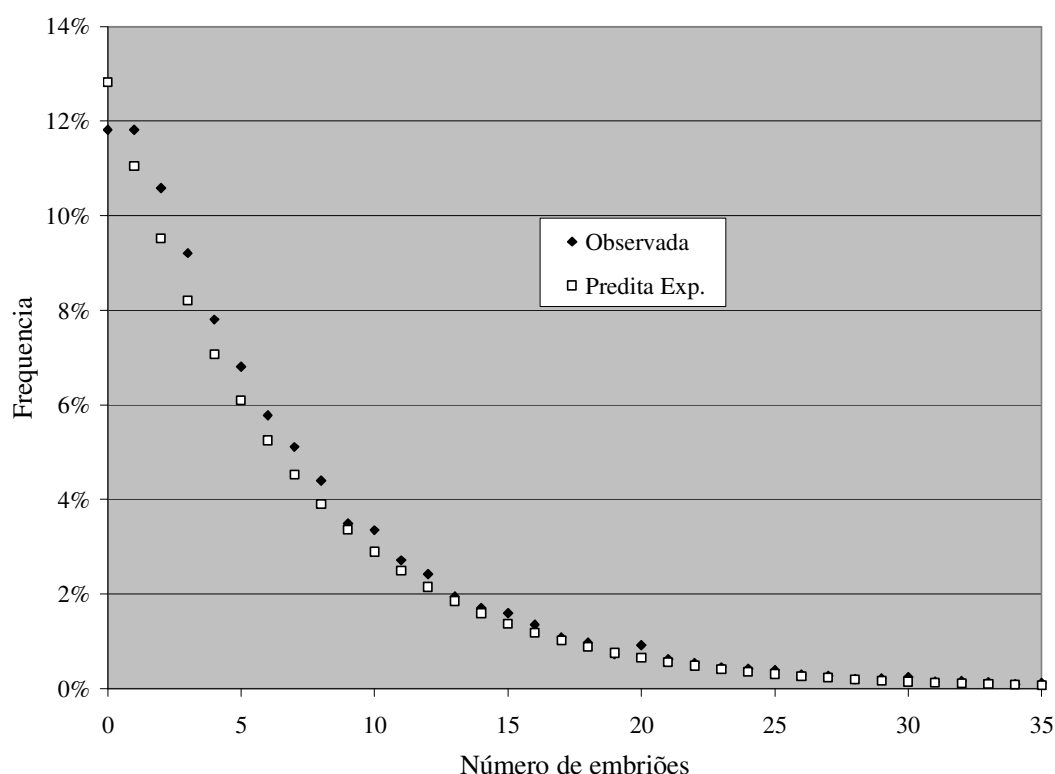


Figura 1 Comparação entre a frequência observada e a frequência estimada obtida pela distribuição exponencial.

Tenta-se prever a eficiência dos programas de FIV por medida em relação ao número de blastocistos obtidos a partir do número de ovócitos postos em cultivo e fertilizados com um sêmen determinado. Entretanto o comportamento destas variáveis não é conhecido na técnica de FIV.

A média de embriões viáveis obtidos por aspiração neste trabalho encontra-se próxima ao relatado na literatura. Nonato JR et al (2006), compararam quatro protocolos de OPU em vacas Nelore. O número de embriões produzidos variou de $6,1 \pm 1$ à $12 \pm 2,6$, este último com utilização de progestágeno. O grupo de Machado et al (2006) intencionando estudar a variabilidade na Produção *in vitro* analisou a hipótese de que uma menor variabilidade ocorreria entre gêmeos idênticos do que quando indivíduos não relacionados eram trabalhados. Diferença estatística ($P < 0,05$) foi encontrada no número de blastocistos produzidos entre os grupos comparados. Neste caso, o número de blastocistos transferíveis produzidos (0-14) foram altamente uniforme e variaram muito entre os pares.

É importante destacar que embora haja proximidade entre a média de embriões produzidos nos trabalhos em literatura e nos experimentos de campo, assim como na TE, a variabilidade na produção de embriões é persistente. Desta forma, sugere-se ser esta decorrente de fatores biológicos inerentes às técnicas de TE e FIV.

Fica claro a importância do conhecimento do comportamento da variável e suas projeções dentro de sistemas de simulação. Através da figura 1, demonstra-se que existe um comportamento característico da variável analisada independente do sistema em estudo. Este comportamento é decrescente e proporcional ao aumento no número de embriões produzidos sendo ajustável a situações específicas. Ainda, os resultados deste trabalho indicam que o número de embriões viáveis produzidos por aspiração de doadoras da raça Nelore pode ser estimado através da distribuição exponencial.

Conclusões

Os resultados expostos permitem concluir que a distribuição de densidade de probabilidade exponencial apresenta um bom ajuste aos dados observados para a finalidade proposta podendo ser utilizada em estudos de simulação.

Agradecimentos

A Superintendência Técnica-Adjunta de Melhoramento Genético da Associação Brasileira dos Criadores de Zebu em nome do Sr. Carlos Henrique Cavallari Machado pela concessão e permissão de uso dos dados.

Literatura citada

Beltrame, R.T. **Simulação Bioeconômica da Transferência de Embriões em Bovinos**. 2006. p. 86. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) - Programa de Pós Graduação em Produção Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense.

Beltrame, R.T., Barioni, LG., Maestri, B.D., Quirino, C.R., Economic optimization of the number of recipients in bovine embryo transfer programs. **Scientia Agricola**, 2007. 64(3): p. 221-226.

Benjamin, J.R.; Cornell, C.A. Probability, statistics and decision for engineers. San Francisco, USA, McGraw-Hill book, 1970.

Machado, S.A., Reichenbach, H.D., Weppert, M., Wolf, E., Gonçalves, P.B.D. The variability of ovum pick-up response and in vitro embryo production from monozygotic twin cows. **Theriogenology** 2006;65: 573-583.

Nonato Jr, I., Ereno Jr, J.H.F., Gimenes, J.C., Torres-Junior, J.R.S., Baruselli, P.S. Utilização de progesterona exógena em protocolos de OPU de vacas nelore - Resultados preliminares. **Acta Scientiae Veterinariae**. 34 (suplemento 1) 2006. p 452.

Silva, E.M., Azevedo, J.A, Influência do período de centrifugação na curva de retenção de água em solos de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2002. 37(10): p. 1487-1494.