

Influência da Pentoxifilina na concentração espermática de garanhões: relato de caso

Misael das Virgens Santana^{1*}, Klerysson de Oliveira Martins², Francisca Gisele de Sousa Santos³, Vanessa Balan Julio³, Karine Kulik³, José Adalmir Torres de Souza⁴

¹Programa de Pós-graduação em Zootecnia Tropical, UFPI, Teresina, PI, Brasil

²Central de Reprodução Equina Quality, Altos, PI, Brasil

³Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Reprodução Animal, UFPI, Teresina, PI, Brasil

⁴Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, UFPI, Teresina, PI, Brasil

*e-mail: misaelsantana2100@gmail.com

A seleção dos garanhões, em grande maioria, preconiza fatores como aptidão esportiva, características fenotípicas ou provenientes de animais campeões, sem o devido enfoque a características reprodutivas, deste modo, o congelamento de sêmen de equinos se torna um desafio. Esse trabalho buscou relatar a influência da Pentoxifilina na concentração espermática de um garanhão da raça Quarto de Milha, de 6 anos de idade, tratado para hemospermia e laminite. Na primeira colheita de sêmen o animal apresentou ejaculado com coloração vermelha e aspecto sanguinolento. Foram colhidas amostras de material (sêmen e *swab*) para cultivo e antibiograma e enviadas ao laboratório. Os resultados acusaram presença de *Streptococcus* spp. (grupo beta-hemolítico), *Staphylococcus* spp. coagulase-negativa, *Klebsiella* spp., que se mostraram sensíveis ao tratamento com Benzilpenicilina Potássica e Sulfato de Gentamicina, de acordo com o antibiograma. Após o tratamento, realizou-se colheita de sêmen, que apresentou coloração normal e com concentração espermática de 148×10^3 espermatozoides/mL. Dias depois o animal foi diagnosticado com laminite, portanto, foi instituído tratamento com DMSO injetável (0,06 mL/L de Ringer com Lactato; IV), firocoxibe (0,1 mg/kg; VO), crioterapia (SID; por 5 dias), Crema 6A (BID; tópico), pentoxifilina pasta (4,4 mg /Kg; TID por 15 dias; VO), acepromazina injetável 0,5mL/100 kg de peso vivo; BID, por 7 dias; IM). O tratamento com Pentoxifilina foi prolongado por mais 10 dias. Após remissão dos sinais clínicos de laminite, foi colhido sêmen novamente e a concentração apresentou-se superior a 200×10^3 espermatozoides/mL, o que se era esperado, visto que o animal passou mais de 7 dias sem ser submetido a colheita. A partir de então, as colheitas de sêmen passaram a ser executadas a cada três dias, totalizando 16 colheitas com um volume médio de 36,7 mL de ejaculado. No decorrer do tratamento com Pentoxifilina, a concentração se manteve acima de 200 milhões de espermatozoides/mL e a motilidade progressiva, de 80%. Assim que a medicação foi interrompida, o animal apresentou queda na concentração (53 milhões/mL) e motilidade espermática. O animal permaneceu em repouso durante 7 dias subsequentes, porém não houve melhora nos parâmetros de concentração e motilidade. Diante disso, a administração de Pentoxifilina foi retomada e, assim, notou-se uma elevação na concentração para 109×10^6 spz/mL. Dentro das quatro coletas posteriores, a concentração permaneceu acima de 100×10^6 spz/mL, até que se completassem as doses demandadas pelo proprietário. A pentoxifilina é um medicamento vasodilatador convencionalmente indicado para alterações vasculares periféricas, doença navicular e alterações autoimunes em equinos e não apresenta indicação para aprimorar índices espermáticos, entretanto, no presente relato, o animal apresentou um melhor desempenho na concentração espermática e motilidade progressiva.

Palavras-chave: Pentoxifilina, laminite, fertilidade equina.

Influence of Pentoxifyllin on spermatic concentration in stallion: case report

Misael das Virgens Santana^{1*}, Klerysson de Oliveira Martins², Francisca Gisele de Sousa Santos³, Vanessa Balan Julio³, Karine Kulik³, José Adalmir Torres de Souza⁴

¹Programa de Pós-graduação em Zootecnia Tropical, UFPI, Teresina, PI, Brasil

²Central de Reprodução Equina Quality, Altos, PI, Brasil

³Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Reprodução Animal, UFPI, Teresina, PI, Brasil

⁴Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal, UFPI, Teresina, PI, Brasil

*e-mail: misaelsantana2100@gmail.com

Genetical enhancement of horses considers different factors, such as athletical performance, phenotypic features or attributes of race horses, with poor focus on reproductive qualities, thus, equine sperm cryopreservation becomes a challenge. This study aimed to report the influence of Pentoxifyllin on spermatic concentration in a 6-year old quarter horse, treated to hemospermia and laminitis. On the first semen collection, the animal presented red-colored sperm, with bloody appearance. Samples of semen and swab were collected and sent to microbial culture and antibiogram on a lab. The results showed the presence of *Streptococcus* spp. (beta-haemoliticus group), coagulasis-negative *Staphylococci* spp., *Klebsiella* spp., which were sensitive to Benzylpenicillin Potassium and Gentamicin Sulfate, according to the antibiogram. After treatment, the sperm collection was repeated and obtained a spermatic concentration of 148 million sperms/mL. A few days later, the stallion was diagnosed with laminitis, then, it was established a treatment with intravenous DMSO (0,06 mL/L on Ringer's lactate; EV), firocoxibe (0,1 mg/kg; VO), cryotherapy (SID; for 5 days), Crema 6A (BID; topic use), Pentoxifyllin (4,4 mg/kg; TID, for 15 days; VO), acepromazina (0,5 mL/100 kg of body weight; BID; for 7 days; IM). Pentoxifyllin treatment was extended to 10 more days. After the remission of clinical signs of laminitis, the animal was submitted to semen collection again and the spermogram indicated a concentration higher than 200×10^3 sperms/mL, which were expected due to the 7 days interval that the stallion spent without having semen collected. From that day on, the sperm collections were executed every 3 days, totalizing 16 collections with a average volume of 36,7mL. During the pentoxifyllin treatment the concentration kept above 200 million sperm/mL and progressive motility, above 80%. As soon as the medication was interrupted, the stallion presented a decrease on sperm concentration (53 million/mL) and spermatic motility. The animal took rest during the 7 following days, although it did not show improvement on concentration and motility parameters. Therefore, pentoxifyllin administration was resumed and it was noticed, this way, that the concentration was elevated to 109×10^6 spz/mL. On the four posterior collections, the concentration regarded above 100×10^6 spz/mL, until the doses were reached for the owner demands. Pentoxifyllin is a hemorrheologic agent conventionally indicated to peripheral vascular alterations, navicular disease, and autoimmune alterations in equines and doesn't have indication to improve sperm indexes, but in this case report the stallion showed a better performance on both concentration and progressive motility of the sperm.

Palavras-chave: Pentoxifyllin, laminitis, stallion fertility.

Uretrostomia perineal e penectomia total em razão de carcinoma de células escamosas em equino: relato de caso

Rodrigo Ribeiro Machado Mendes^{1*}, Adriano de Oliveira Gordilho Filho², Carmo Emanuel Almeida Biscarde², Carolina Hori Venturim da Frota¹, Sara Maria Nascimento de Jesus¹, Gabriela Santana dos Anjos¹, Carlos Alberto Cardoso Neto¹, Natália Borges Miranda¹, Marcos Santos Pereira³, Taires dos Santos Rodrigues³, Rodrigo Freitas Bittencourt⁴, Marcos Vinicius Galvão Loiola⁴, Eduardo Luiz Trindade Moreira⁴, Adamas Tassinari Bonfada²

¹Graduando do curso de Medicina Veterinária - UFBA, Salvador, BA, Brasil; ²Médico Veterinário do Hospital Veterinário Prof. Renato Rodenburg de Medeiros Neto - UFBA, Salvador, BA, Brasil; ³Residentes do Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - UFBA, Salvador, BA, Brasil; ⁴Professores do curso de Medicina Veterinária - UFBA, Salvador, BA, Brasil

*e-mail: rodrigo.mendes@ufba.br

O carcinoma de células escamosas (CCE) é um tumor maligno cutâneo, invasivo, que pode ocorrer em diferentes áreas da pele, em locais com pouco pelo e menor pigmentação, entre elas, a glândula. Os principais problemas causados, além da dor, estão relacionados ao comprometimento da função reprodutiva. Objetivou-se com este trabalho, relatar o caso de um equino, acometido de CCE em pênis. Foi atendido no Hospital de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (Salvador, Bahia), um equino, sem raça definida, de aproximadamente 340kg e 4 anos, com uma lesão ulcerada no pênis, a qual o proprietário não soube informar o tempo de evolução. Ao exame físico, observou-se lesão multilobulada, irregular, firme, com áreas friáveis, medindo 38,8cm x 23,5cm x 21cm, presença de miíase e odor fétido. O animal apresentava dificuldade de retração do pênis, sensibilidade ao toque e poliúria, além de edema na região ventral, que se estendia da cartilagem xifoide ao prepúcio. Após exame físico foram realizados hemograma total, bioquímico e enviada amostra para histopatologia. Foi observado tecido de granulação jovem, mas predominantemente fibrovascular, com discreto infiltrado inflamatório de mononucleares em arranjo multifocal, o qual envolvia pequenas ilhas, trabéculas e cordões infiltrantes formados por células epiteliais moderadamente pleomórficas, redondas e ovoides com citoplasma escasso a moderado e bordas indistintas, portando núcleos vacuolizados e nucléolos únicos ou duplos e evidentes, mas também de aspecto fusiforme com núcleos hipercromáticos dispostas em paliçada e perpendicularmente à membrana basal; com 6 a 7 mitoses por campo e atípicas. Ao lado, havia intenso infiltrado neutrofílico focal. Adicionalmente, havia ulceração, acantose e edema de células espinhosas, além de exsudato sero-celular. Foi realizada higienização do local com clorexidina degermante e associado à duchas frias e dexametasona (5mg IM dose única). No tratamento da miíase previamente à correção cirúrgica, foi utilizado Tanidil® (Coumafós 3g + Propoxur 2g; SID, 6 dias). O tratamento definitivo consistiu em penectomia total com uretrostomia perineal. Com o animal anestesiado e em decúbito dorsal, foi feita a sondagem da uretra com cateter nº 14. A cirurgia de uretrostomia foi realizada primeiro, por meio de uma incisão na pele distal ao escroto com dissecação dos tecidos subcutâneos. A seguir, seccionou-se os músculos retratores do pênis, expondo a uretra. Foi utilizado fio absorvível sintético monofilamentar para a sutura de ponto simples isolado. Logo após, procedeu-se a penectomia, através de uma incisão em forma de elipse na base do prepúcio até a bolsa testicular, envolvendo pele e tecido subcutâneo. Após dissecação e identificação do pênis, prosseguiu-se para amputação por meio de secção transversa completa. A reaproximação dos tecidos com pontos padrão Sultan e a ligadura para a hemostasia foram realizados utilizando fio ácido poliglicólico 2-0. Foi feita adaptação de dreno ativo com duas saídas. O acompanhamento pós-cirúrgico consistiu em 7 dias de curativos e lavagem com clorexidina degermante. Como medicação pós-cirúrgica foi feita antibioticoterapia com penicilina benzatina (40.000 UI Kg/ IM SID, por cinco dias) e meloxicam (0,6 mg/kg IM SID, por dois dias). Aos dois dias de pós-operatório identificou-se sinais de dor, então, optou-se por suspender o meloxicam e substituí-lo por flunixin meglumine (2,2mg/kg IM SID, por três dias) e dipirona (25 mg/kg IV BID, por oito dias). Após 120 dias não houve sinais de recidiva tumoral, com total adaptação da micção pela uretrostomia perineal. A penectomia total com uretrostomia perineal foi efetiva para tratamento do carcinoma de células escamosas com sobrevida de 120 dias até o momento.

Palavras-chaves: amputação peniana total, uretrostomia, carcinoma de células escamosas, equino

Perineal urethrostomy and total penectomy due to squamous cell carcinoma in an equine: case report

Rodrigo Ribeiro Machado Mendes^{1*}, Adriano de Oliveira Gordilho Filho², Carmo Emanuel Almeida Biscarde², Carolina Hori Venturim da Frota¹, Sara Maria Nascimento de Jesus¹, Gabriela Santana dos Anjos¹, Carlos Alberto Cardoso Neto¹, Natália Borges Miranda¹, Marcos Santos Pereira³, Taires dos Santos Rodrigues³, Rodrigo Freitas Bittencourt⁴, Marcos Vinicius Galvão Loiola⁴, Eduardo Luiz Trindade Moreira⁴, Adamas Tassinari Bonfada²

¹Graduating from the Veterinary Medicine course - UFBA, Salvador, BA, Brazil; ²Veterinarian at Hospital Veterinário Prof. Renato Rodenburg de Medeiros Neto - UFBA, Salvador, BA, Brazil; ³Residents of the Residency Program in the Professional Area of Health - UFBA, Salvador, BA, Brazil; ⁴Professors of the Veterinary Medicine course - UFBA, Salvador, BA, Brazil

*e-mail: rodrigo.mendes@ufba.br

Squamous cell carcinoma (SCC) is an invasive, malignant cutaneous tumor that can occur in different areas of the skin, in places with little hair and less pigmentation, including the glans. The main problems caused, in addition to pain, are related to impaired reproductive function. The objective of this work was to report the case of an equine, affected by SCC in the penis. An equine, mixed breed, approximately 340 kg and 4 years old, with an ulcerated lesion on the penis, which the owner was unable to inform the evolution time, was treated at the Veterinary Medicine Hospital of the Federal University of Bahia (Salvador, Bahia). . On physical examination, a multilobulated, irregular, firm lesion was observed, with friable areas, measuring 38.8cm x 23.5cm x 21cm, presence of myiasis and fetid odor. The animal had difficulty retracting the penis, sensitivity to touch and polyuria, in addition to edema in the ventral region, which extended from the xiphoid cartilage to the prepuce. After physical examination, a total blood count and biochemistry were performed, and a sample was sent for histopathology. Young granulation tissue was observed, but predominantly fibrovascular, with a discreet inflammatory infiltrate of mononuclear cells in a multifocal arrangement, which involved small islands, trabeculae and infiltrating cords formed by moderately pleomorphic epithelial cells, round and ovoid with scarce to moderate cytoplasm and indistinct borders, bearing vacuolated nuclei and evident single or double nucleoli, but also fusiform in appearance with hyperchromatic nuclei arranged in a palisade and perpendicular to the basement membrane; with 6 to 7 mitoses per field and atypical. Beside it, there was an intense focal neutrophilic infiltrate. Additionally, there was ulceration, acanthosis and edema of spinous cells, in addition to serocellular exudate. The site was cleaned with 2% chlorhexidine and combined with cold showers and dexamethasone (5mg IM single dose). In the treatment of myiasis prior to surgical correction, Tanidil® (Coumafós 3g + Propoxur 2g; SID, 6 days) was used. Definitive treatment consisted of total penectomy with perineal urethrostomy. With the animal anesthetized and in dorsal decubitus, the urethra was probed with a number 14 catheter. The urethrostomy surgery was performed first, through an incision in the skin distal to the scrotum with dissection of the subcutaneous tissues. Next, the retractor muscles of the penis were sectioned, exposing the urethra. Monofilament synthetic absorbable suture was used for isolated single stitch suture. Soon after, penectomy was performed, through an incision in the shape of an ellipse at the base of the foreskin to the testicular bursa, involving skin and subcutaneous tissue. After dissection and identification of the penis, it proceeded to amputation through a complete transverse section. Tissue rapprochement with standard Sultan stitches and ligation for hemostasis were performed using 2-0 polyglycolic acid thread. Adaptation of active drain with two outputs was made. Post-surgical follow-up consisted of 7 days of dressing and washing with chlorhexidine. Antibiotic therapy with benzathine penicillin (40,000 IU Kg/ IM SID, for five days) and meloxicam (0.6 mg/kg IM SID, for two days) were administered as post-surgical medication. Two days after the operation, signs of pain were identified, so it was decided to suspend meloxicam and replace it with flunixin meglumine (2.2mg/kg IM SID, for three days) and dipyrone (25 mg/kg IV BID, for eight days). After 120 days, there were no signs of tumor recurrence, with complete adaptation of urination through the perineal urethrostomy. Total penectomy with perineal urethrostomy was effective for the treatment of squamous cell carcinoma with a survival of 120 days so far.

Keywords: total penile amputation, urethrostomy, squamous cell carcinoma, equine

Uso do meio BWW na congelação de sêmen equino: resultados das características de motilidade

Larissa Rodrigues Santana^{1*}, William Morais Machado², Thayná Almeida Santos¹, Larissa Pires Barbosa³, Rodrigo Freitas Bittencourt⁴, Ivan Bezerra Allaman¹, Paola Pereira das Neves Snoeck¹

¹Laboratório de Reprodução Animal (LARA), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-Bahia, Brasil. ²Faculdade de Irecê, Irecê – Bahia, Brasil. ³Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), Cruz das Almas-Bahia, Brasil. ⁴Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador-Bahia, Brasil

*e-mail: larirodriguesvet@gmail.com

O movimento dos espermatozoides permite o deslocamento dessas células até o sítio de fertilização do ovócito, sendo considerado um importante atributo de viabilidade celular. Objetivou-se neste estudo avaliar se o meio quimicamente definido BWW, com algumas modificações, como a inclusão de: a) ácido docosahexaenoico (DHA), um ácido graxo poliinsaturado que promove aumento da fluidez da membrana plasmática; b) rosiglitazona (ROSI), substância com função de restaurar a flexibilidade metabólica; e c) lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que evita o efluxo de colesterol e fosfolípidios da membrana celular pode ser utilizado para congelar o sêmen de garanhões e preservar os parâmetros cinemáticos dos espermatozoides. Para a realização deste experimento, foram coletados cinco ejaculados de cinco garanhões Mangalarga Marchador por meio de vagina artificial. Posteriormente, o sêmen foi diluído 1:2 em meio à base de leite desnatado (BotuSêmen®, Biotech, Botucatu, SP, Brasil) e transferido para tubos Falcon de 15 mL para centrifugação a 2000 rpm por 10 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e a concentração do pellet determinada em câmara de Neubauer. O pellet resultante foi então homogeneizado com o diluidor de congelação nos respectivos tratamentos: D1) BotuCrio®; D2) BWW(I) + 10% de LDL + 2% de glicerol + 3 de dimetilformamida; D3) BWW(II) + 10% de LDL + 30ng/mL⁻¹ de DHA + 50 µM de ROSI + 2% de glicerol + 3% de dimetilformamida; D4) BWW(II) + 30ng/mL⁻¹ de DHA + 50 µM de ROSI + 2% de glicerol + 3% de dimetilformamida (BWWII-vegano), para obtenção de 100 x 10⁶ espermatozoides/mL. O sêmen diluído foi envasado em palhetas de 0,5 mL, devidamente identificadas e submetidas ao resfriamento e congelação em sistema automatizado Neovet Cryogen HSE® portátil (Uberaba, Brasil). A curva de resfriamento utilizada foi de -0,8 °C por minuto de 20,5 °C até 5 °C, seguido de tempo de equilíbrio na temperatura de 5 °C por 10 minutos. Em seguida, as palhetas foram congeladas com taxa de -20 °C/min na rampa 1 e -40 °C/min na rampa 2 até atingir -100°C, com posterior imersão das palhetas em nitrogênio líquido (-196 °C) para finalizar o processo de congelação. A descongelação foi realizada com imersão das palhetas em banho-maria a 46 °C por 20 segundos. Os parâmetros cinemáticos foram avaliados pelo SCA Evolution® (Veterinary edition, Barcelona, Espanha), depois de rediluir as amostras com o diluidor testado para ajuste da concentração de leitura do sistema para 50 x 10⁶ espermatozoides/mL. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, foi utilizado ANOVA para testar as diferenças entre os diluidores e para comparações múltiplas de médias foi utilizada a função “Tukey C” do pacote “Tukey C”, versão 1.3-4. Quando os pressupostos não foram atendidos, mesmo com a transformação de dados, foi empregado um método estatístico não-paramétrico. Todas as análises foram feitas utilizando o software R Core Team (2021) considerando um nível de significância de 5%. O BotuCrio® preservou melhor o parâmetro de motilidade comparado aos demais diluidores testados (P < 0,05). Embora, não tenha sido observado diferença entre os diluidores testados quando analisados os parâmetros cinemáticos de velocidade curvilínea (VCL), retilinearidade (STR) e amplitude do deslocamento lateral de cabeça dos espermatozoides (ALH; P > 0,05). Os diluidores BWWII, com e sem LDL, foram inferiores ao BotuCrio® para preservar os parâmetros de velocidade média do trajeto (VAP), velocidade linear progressiva (VSL) e linearidade (LIN; P < 0,05). Além disso, os espermatozoides congelados em diluidor BWWII, sem LDL, apresentaram a menor frequência de batimento flagelar cruzado (BCF; P < 0,05). A inclusão de crioprotetores intracelulares (glicerol e dimetilformamida) e extracelulares (DHA, rosiglitazona, LDL, dentre outros) permitiu que os espermatozoides fossem criopreservados no diluidor BWW. No entanto, ainda se faz necessário o estudo de outras formulações diluidoras, curvas de resfriamento, tempo de equilíbrio e curvas de congelação para melhorar a qualidade do meio e garantir que a maioria dos atributos celulares de viabilidade (morfologia espermática, integridade funcional e estrutural das membranas celulares, integridade do DNA, atividade mitocondrial, dentre outras) possam ser preservadas durante o processo de criopreservação e garantam capacidade de fertilizar o gameta feminino por técnicas de inseminação artificial.

Palavras-chave: Ômega. Lipoproteína de baixa densidade. Rosiglitazona. Criopreservação. Garanhão.

Use of BWW medium in equine freezing semen: motility sperm results

Larissa Rodrigues Santana^{1*}, William Morais Machado², Thayná Almeida Santos¹, Larissa Pires Barbosa³, Rodrigo Freitas Bittencourt⁴, Ivan Bezerra Allaman¹, Paola Pereira das Neves Snoeck¹

¹Laboratório de Reprodução Animal (LARA), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-Bahia, Brasil. ²Faculdade de Recê, Irecê – Bahia, Brasil. ³Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), Cruz das Almas-Bahia, Brasil. ⁴Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador-Bahia, Brasil
*e-mail: larirodriguesvet@gmail.com

The sperm kinematics allows the displacement of these cells to the oocyte fertilization site, being considered an essential attribute of cell viability. The objective of this study was to evaluate the chemically defined BWW medium, with some modifications, such as the inclusion of a) docosahexaenoic acid (DHA), a polyunsaturated fatty acid that promotes increased fluidity of the plasmatic membrane; b) rosiglitazone (ROSI), a substance with the function of restoring metabolic flexibility; and c) low-density lipoproteins (LDL), which prevents the efflux of cholesterol and phospholipids from the cell membrane, can be used to freeze stallion semen and preserve sperm kinematic parameters. Five ejaculates from five Mangalarga Marchador stallions were collected through an artificial vagina to experiment. Subsequently, the semen was diluted 1:2 in skimmed milk-based medium (BotuSêmen®, Biotech, Botucatu, SP, Brazil) and transferred to 15 mL Falcon tubes for centrifugation at 600xg for 10 min. After centrifugation, the supernatant was discarded, and the pellet concentration was determined in a Neubauer chamber. The resulting pellet was then homogenized with the freezing extender in the respective treatments: D1) BotuCrio®; D2) BWW(I) + 10% LDL + 2% glycerol + 3% dimethylformamide; D3) BWW(II) + 10% LDL + 30ng/mL⁻¹ DHA + 50 µM ROSI + 2% glycerol + 3% dimethylformamide; D4) BWW(II) + 30ng/mL⁻¹ DHA + 50 µM ROSI + 2% glycerol + 3% dimethylformamide (BWWII-vegan), to obtain 100 x 10⁶ spermatozoa/mL. The diluted semen was packaged in 0.5 mL straws, duly identified, and submitted to cooling and freezing in a portable Neovet Cryogen HSE® automated system (Uberaba, Brazil). The cooling curve used was -0.8 °C per minute from 20.5 °C to 5 °C, followed by an equilibration time at a temperature of 5 °C for 10 minutes. Then, the straws were frozen at a rate of -20 °C/min on ramp 1 and -40 °C/min on ramp 2 until reaching -100 °C, with the subsequent immersion of the straws in liquid nitrogen (-196 °C) to complete the freezing process. Thawing was performed by immersing the straws in a water bath at 46°C for 20 seconds. The kinematic parameters were evaluated by the SCA Evolution® (Veterinary edition, Barcelona, Spain) after diluting the samples with the tested extender to adjust the system reading concentration to 50 x 10⁶ spermatozoa/mL. The experimental design was randomized blocks, ANOVA was used to test the differences between extenders, and the “Tukey C” function from the “Tukey C” package, version 1.3-4, was used for multiple comparisons of means. Even with data transformation, a non-parametric statistical method was employed when assumptions were not met. All analyzes were performed using the R Core Team (2021) software, considering a significance level of 5%. BotuCrio® better preserved the motility parameter than the other extenders tested (P < 0.05). However, no difference was observed between the extenders tested when analyzing the kinematic parameters of curvilinear velocity (VCL), rectilinearity (STR), and amplitude of lateral head displacement of the sperm (ALH; P > 0.05). The BWWII extenders, with and without LDL, were inferior to BotuCrio® in terms of preserving mean path velocity (VAP), progressive linear velocity (VSL), and linearity (LIN; P < 0.05). In addition, sperm frozen in a BWWII extender, without LDL, had the lowest flagellar cross-beat frequency (BCF; P < 0.05). Including intracellular (glycerol and dimethylformamide) and extracellular (DHA, rosiglitazone, LDL) cryoprotectants allowed the sperm to be cryopreserved in the BWW extender. However, it is still necessary to study other extender formulations, cooling curves, equilibration time, and freezing curves to improve the quality of the medium and ensure that cell viability attributes (sperm morphology, functional and structural integrity of the cell membranes, DNA integrity, mitochondrial activity, among others) can be preserved during the cryopreservation process and ensure the ability to fertilize the female gamete by artificial insemination techniques.

Keywords: Omega. Low-density lipoprotein. Rosiglitazone. Cryopreservation. Stallion.