

ASPECTOS TÉCNICOS DA OBTENÇÃO DE OÓCITOS

Homero Luiz Martins Silva¹

Hellen Lopes Silva²

Rafaela Ferreira de Jesus²

Laura Fernandes Santos²

Érica Firmino Fidélis²

Priscila Chediek Dall'Acqua³

Resumo: Biotecnologias da reprodução como a aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) e a fertilização *in vitro* (FIV) são técnicas importantes para atender à crescente demanda por produtos de origem animal de qualidade, permitindo aumento da eficiência reprodutiva, distribuição de material genético desejado na população, participação de animais que seriam descartados da reprodução, dentre outros. A recuperação de oócitos está diretamente relacionada com a quantidade de embriões produzidos, assim, a utilização de métodos de sincronização e aplicação de protocolos de superestimulação ovariana podem contribuir positivamente para os resultados.

Palavras-chave: Aspiração folicular. Embrião. Superestimulação.

INTRODUÇÃO

A aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) permite a disseminação de material genético de alto valor, além de otimizar o tempo e ser uma importante ferramenta para a produção de embriões *in vitro* (PIV), a qual só ocorre após a extração do oócito da doadora (LEIVAS, 2006). A PIV é uma biotecnologia que aumenta a eficiência reprodutiva, seguindo o princípio de reproduzir animais de grande valor genético e alta produtividade em um curto período de tempo. Enquanto uma vaca doadora poderia ter somente uma cria por ano, a aplicação destas biotécnicas aumenta esta taxa, pois os embriões produzidos poderão ser gerados por outras (VIEIRA, 2012).

¹ Acadêmico de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Mineiros (UNIFIMES), homero_faculdade@hotmail.com.

² Acadêmicos de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Mineiros (UNIFIMES).

³ Docente do Centro Universitário de Mineiros (UNIFIMES).

A associação da OPU com a PIV permite a reprodução de animais saudáveis ou de animais que adquiriram problemas reprodutivos (DAYAN, 2001). A obtenção de oócitos através da OPU é uma etapa muito importante para a PIV, pois consiste na aspiração de folículos ovarianos das vacas doadoras (tanto de corte como de leite), por penetração do ovário e remoção do fluido folicular com os oócitos. Após a obtenção, os oócitos irão passar pelos processos de rastreamento, seleção e maturação *in vitro* (MIV) para depois serem fertilizados (FORELL, 2004).

Enfim, para a fertilização *in vitro* (FIV), serão utilizados os oócitos da doadora após o processo de MIV, os quais serão cultivados com os espermatozoides de um touro previamente selecionado para realizar a fecundação. Porém, os espermatozoides ainda não capacitados, deverão passar pelo processo de capacitação *in vitro*, para que ocorra a remoção da camada glicoproteica que circunda o espermatozoide e a reação acrossômica, capacitando-o para a entrada na zona pelúcida (LEIVAS, 2004).

METODOLOGIA

Este trabalho buscou realizar uma revisão bibliográfica sobre os aspectos técnicos da aspiração folicular, reunindo informações obtidas em diferentes publicações encontradas na base de dados do Google Acadêmico (www.scholar.google.com.br), SciELO (www.scielo.org). O levantamento bibliográfico foi realizado durante o período de 24 de fevereiro a 20 de março de 2019.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sucesso da OPU, assim como da PIV depende de diversos fatores, como: diferenças entre a quantidade (NIBART *et al.*, 1995) e qualidade (WATANABE *et al.*, 1998) de oócitos aspirados de diferentes doadoras; a quantidade de oócitos coletados de vacas de corte pode ser pouco maior que as de vacas de leite (LOONEY *et al.* 1994); vacas europeias têm maior quantidade de folículos grandes, que possuem oócitos com menor qualidade (DOMINGUEZ, 1995); há variação na fertilidade de touros à campo quando comparada à fertilidade *in vitro* (WATANABE *et al.*, 1995); a repetição de coletas aumenta a taxa de recuperação de oócitos

(KRUIP *et al.*, 1994) quando semanais ou quinzenais (FERRAZ *et al.*, 2000), mas após 50 sessões a tendência é que a taxa de recuperação diminua (HASLER *et al.*, 1995). Segundo BROGLIATTI & ADAMS (1996), a recuperação pode ser variável dependendo da espessura da agulha, fio de corte, forma do bisel e pressão de vácuo; o número de folículos aspirados e o número de oócitos recuperados pode variar quando ocorre a mudança de operador entre as sessões ou com o mesmo operador em diferentes sessões (NIBART *et al.*, 1995).

A OPU pode ser aplicada nas mais diferentes categorias animais (bezerras a partir de 8 meses, vacas com idade avançada e vacas em diferentes períodos gestacionais). Ainda, é possível obter oócitos de um animal que morreu recentemente ou obtê-los *ante mortem*. Portanto, a aplicação de OPU permite a participação de mais animais para reprodução e/ou o uso de animais de alto valor que estão impedidos de se reproduzir (SAUVÉ, 1998; BROGLIATTI & ADAMS, 1996).

Segundo Leivas (2006), a OPU se inicia pelo esvaziamento do reto do animal, que deverá ser com o uso das luvas de palpação para o retirar o máximo de fezes que conseguir, evitando entrada de ar, seguida de uma anestesia epidural baixa para que o animal não sinta dor durante o processo e, uma boa higienização da vulva e períneo para que não ocorra contaminação durante o processo. A guia de aspiração que acondiciona o ultrassom transvaginal e a agulha deve ser introduzido até encostar no fundo de saco da vagina, então, a palpação dos ovários é feita para posicionar os folículos para aspirar com auxílio de uma bomba de vácuo que leva o fluido folicular com os oócitos para tubos com meio de aspiração. A recuperação em vacas holandesas é de 6,8 oócitos por OPU, enquanto a de vacas zebuínas é de 5,1 (DE ARMAS *et al.*, 1994),.

Para aumentar a eficiência ou a taxa de recuperação, resultando em mais embriões transferíveis, podem ser empregados protocolos hormonais de superestimulação ovariana (DAYAN, 2001). Esses protocolos se baseiam no fornecimento de FSH antes que ocorra a dominância, impedindo que o folículo dominante provoque a atresia dos demais (CARVALHO *et al.*, 2008). Animais refratários aos hormônios também podem ser aspirados, porém a recuperação de oócitos é menor (DAYAN, 2001).

A resposta aos protocolos de superestimulação é diferente entre as doadoras e, é determinada pela quantidade de folículos antrais presentes no ovário antes do tratamento, demonstrando a importância de realizar a seleção destes animais (TANEJA *et al.*, 2000). Vacas

Bos taurus taurus apresentam maior taxa de recuperação por OPU quando tratadas com FSH (BLONDIN et al., 2002). Comparando a taxa de recuperação em vacas e em bezerras (95% vs. 88%), Malard et al. (2001) apresentaram a possibilidade de obtenção de produtos de animais pré-púberes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, a OPU para a FIV tem se mostrado eficiente e viável economicamente, visto que, oferece uma alternativa aos produtores de animais geneticamente superiores que é a possibilidade de produção de maior número de embriões em um período de tempo mais curto, acelerando o ganho genético. Além disso, os resultados são otimizados quando avaliada a linhagem e a categoria animal para a adoção de protocolos superestimulatórios específicos.

REFERÊNCIAS

BLONDIN, P.; BOUSQUET, D.; TWAGIRAMUNGU, H.; BARNES, F.; SIRARD, M. A. Manipulation of follicular development to produce developmentally competent bovine oocytes. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 38-43, 2002.

BROGLIATTI, G.M., ADAMS, G.P. Ultrasound guided transvaginal oocyte collection in prepubertal calves. **Theriogenology**, v.45, p. 1163-1176, 1996.

BUENO, A; P; BELTRAN, M.P. Produção *in vitro* de embriões bovinos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v.VI, n. 11, 2008.

CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167-175, 2008.

DAYAN, A. **Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação *in vitro***. Botucatu, 2001. 55p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

DE ARMAS, R.; SOLANO, R.; PUPO, C.A.; AGUILAR, A.; AGUIRRE, A. RIEGO, E.; CASTRO, F.O. Effect of the donor oocyte breed on *in vitro* fertilization results in cattle. **Theriogenology**, v.41, p.186-188, 1994.

DOMINGUEZ, M.M. Effect of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. **Theriogenology**, v.43, p. 1405-1408, 1995.

FERRAZ, M.L.; DAYAN, A.; WATANABE, M.R.; WATANABE, Y.F. Influência da frequência de OPU-FIV em bovinos. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 28, n. 1, p.251-262, 2000.

FORELL, F. et al. Produção *in vitro* de embriões bovinos em meio SOF e com SVE ou BSA. **Braz. j. vet. res. anim. sci**, v. 41, n. 6, p. 396-403, 2004.

GONÇALVES et al. Produção *in vitro* de embriões bovinos: o estado da arte. **Revista Brasileira Reprodução Animal**. Belo Horizonte, v.31, n.2, p. 212-217, 2007.

HASLER, J.F.; HENDERSON, W.B.; HURTTGEN, P.J.; JIN, Z.Q.; McCAULY, A.D.; MOWER, S.A.; NEELY, B.; SHUEY, L.S.; STOKES, J.E.; TRIMMER, S.A.. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. **Theriogenology**, v.43, p.151-152, 1995.

KATSKA, L.; SMORAG, Z. Number and quality of oocytes in relation to age of cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 7, p.451-460, 1984.

KONISHI, M., AOYAGI, Y. TAKEDOMI, T., ET AL., Presence of granulosa cells during oocyte maturation improved *in vitro* development of IVM-IVF bovine oocytes that were collected by ultrasound-guided transvaginal aspiration. **Theriogenology**, v.45 p.573, 1996.

KRUIP TH, A.M.; BONI, R.; WURTH, Y.A.; ROELOFSEN, M.W.M.; PIETERSE, M.C. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. **Theriogenology**, v.42, p.675-684, 1994.

LEIVAS, F. G; *et al.* Transporte de oócitos bovinos em meio de maturação sem controle de atmosfera gasosa. **Ciência rural**. Santa Maria. Vol. 34, n. 1, p. 219-224, 2004.

LEIVAS, F. G Influencia da Atmosfera Gasosa e da Fonte Proteica sobre o desenvolvimento embrionário *in vitro* e taxa de prenhez em bovinos. Tese (Doutorado). p. 40-42. **Arquivo Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria**, 2006.

LOONEY, C.R., LINDSEY, B.R., GONSETH, C.L., JOHNSON, D.L., Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows, **Theriogenology** v.41, p.72-73, 1994.

MALARD, P. F.; PEIXER, M. A. S.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; RUMPF, R. Índice de recuperação e qualidade de ovócitos de bezerras Nelore, superovuladas e não superovuladas, de dois a três meses de idade. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.53, n.6, p. 677-682, 2001

NEVES, J. P.; MIRANDA, K. L.; TORTORELLA, R. D. Progresso científico em Reprodução na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**. V.39., p. 418-421. Brasília –DF, 2010.

NIBART, M.; SILVA PEIXER, M.; THUARD, J.M.; DURANT, M.; GUYADER-JOLY, C.; PONCHON, S.; MARQUANT-LE GUIENNE, B.; HUMBLLOT, P. Embryo production by OPU and IVF in dairy cattle. In: **Réunion A.E.T.E., XI, Hannover, Proceedings**, p. 215-216, 1995.

RENESTO, A.; COELHO, L. A Associação das biotécnicas: Aspiração folicular guiada por ultrassonografia e superovulação na produção *in vitro* e *in vivo* de embriões bovinos. Tese (Mestrado). **Arquivos da Faculdade de Ciências Agrárias UNESP**. p. 17-31. , 2004.

SAUVÉ, R. Ultrasound guided follicular aspiration and *in vitro* fertilization. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.141-155, 1998.

TANEJA, M., BOLS, P.E.J., van der VELDE, A. et al. Developmental competence of juvenile calf oocytes *in vitro* and *in vivo*: influence of donor animal variation and repeated gonadotropin stimulation. **Biol. Reprod.** v.62, p.206-213, 2000.

VIEIRA, R; Biotécnicas aplicadas à reprodução bovina: generalidades. **Ciência Animal**, Fortaleza, v. 22, n. 1, p. 55-65, 2012.

WATANABE, Y.F.; WATANABE, M.R.; DAYAN, A.; VILA, R.A.; LÔBO, R.B. Competência de oócitos, oriundos de diferentes fêmeas bovinas, na produção *in vitro* de blastocistos. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, v.26, n.1, p.384-385, 1998.

WATANABE, Y.F.; WATANABE, M.R.; PERIPATO, A.C.; GALERANI, M.A.V.; VILA, R.A.; LÔBO, R.B. A fecundação *in vitro* como critério de seleção para fertilidade em tourinhos da raça Nelore. **Rev. Bras. Gen.**, v.18, p.236-239. 1995.