

VARIÁVEIS BIOLÓGICAS ASSOCIADAS A RECUPERAÇÃO DE COMPLEXOS CUMULUS-OÓCITO POR ASPIRAÇÃO FOLICULAR

Viana, J.H.M.¹; Bols, P.E.J.²

¹Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, 36038-330 Brasil

²University of Antwerp, Universiteitsplein 1, Gebouw U, 2610 Wilrijk, Belgium
jhmviana@cnpagl.embrapa.br

Introdução

A técnica de aspiração folicular orientada por ultra-sonografia (OPU) foi desenvolvida, na década de 80, para atender à demanda por um procedimento para coleta de complexos *cumulus*-oócito (COCs) que fosse menos traumática que as abordagens cirúrgica ou por laparoscopia até então utilizadas. A aspiração folicular orientada por ultra-som foi posteriormente adaptada para uso veterinário, sendo rapidamente reconhecida como a técnica de eleição para a recuperação de COCs (Galli et al., 2001). Dentre as reconhecidas vantagens da técnica, estão o fato de ser pouco invasiva, não depender de pré-estimulação hormonal, poder ser utilizada em qualquer fase do ciclo estral, em animais pré-púberes ou em gestação inicial. Também contornou o principal obstáculo ao uso comercial da fertilização *in vitro* (FIV), que era a recuperação de COCs em doadora vivas, sendo considerada a melhor alternativa aos programas clássicos de produção de embriões por superovulação (Bousquet et al., 1999).

A baixa eficiência dos sistemas inicialmente utilizados limitaram, nas décadas de 80 e 90, a expansão do uso comercial da aspiração folicular, que se concentrou em animais de alto valor genético mas com problemas de fertilidade adquiridos ou histórico de insucesso na superovulação (Bols et al., 1996). Nos últimos anos, contudo, este cenário vem mudando, com o uso intensivo de doadoras em reprodução e um conseqüente aumento na produção *in vitro* de embriões bovinos em todo o mundo, particularmente na América do Sul e Ásia (Thibier, 2004). Esta evolução foi surpreendente, considerando-se que as taxas de produção de blastocistos obtidas por diferentes grupos de pesquisa se mantiveram na faixa de 25 a 40%. O aumento no número e/ou qualidade dos COCs destinados à fertilização *in vitro*, entretanto, pode compensar parcialmente a baixa eficiência dos sistemas de cultivo atualmente disponíveis.

Historicamente, duas abordagens principais têm sido utilizadas para otimizar a recuperação de COCs: (1) estudo dos fatores físico/mecânicos envolvidos e conseqüentes aprimoramentos nos equipamentos utilizados para aspiração; (2) estudo e controle dos fatores relacionados ao desenvolvimento e maturação intra-ovarianos de folículos e oócitos (Bols et al., 1997). A primeira abordagem foi a mais explorada e levou ao desenvolvimento ou adaptação de uma gama de opções em sistemas de aspiração folicular. Entretanto, considerando-se os índices atualmente obtidos nas etapas de laboratório, o sucesso produção *in vitro* de embriões está diretamente relacionado ao número e qualidade dos COCs que são destinados ao cultivo.

Disponibilidade de folículos para aspiração

As características físicas dos equipamentos de ultra-sonografia (formação de imagem e resolução)

determinam que apenas folículos em fase antral, e apresentando diâmetros superiores à dois a três milímetros, possam ser identificados e, conseqüentemente, puncionados. Estes folículos representam apenas uma pequena fração do total de folículos presentes nos ovários e seu número, em um determinado momento, depende da mobilização da reserva ovariana (I), do desenvolvimento folicular nas fases iniciais e sua associação com o *status* metabólico e endócrino da doadora (II), e da dinâmica do crescimento na fase antral (III). Maximizar o número e qualidade de folículos em fase antral e, conseqüentemente, disponíveis para aspiração, é uma das principais estratégias para melhoras a recuperação de COCs destinados à FIV.

I. Reserva ovariana

Em todas as fêmeas de mamíferos, a reserva de oócitos é estabelecida durante a vida fetal, sendo gradualmente mobilizada durante a vida reprodutiva (Van der Hurk, 2005). Apesar de ser uma das características mais importantes para determinar o potencial de uma determinada fêmea como doadora, quer seja de oócitos ou embriões, não existe um procedimento prático para sua avaliação *in vivo*. Na medicina humana, são adotados testes indiretos de reserva ovariana, baseados na relação inibina/FSH circulantes, mas com precisão limitada e objetivos diferentes. Contudo, parece haver uma relação entre tamanho da reserva de folículos primordiais e a proporção de folículos que iniciam seu desenvolvimento (Hirshfield, 1994). Desta forma, o número de folículos em fase antral observado durante o ciclo estral pode refletir, pelo menos em parte, a reserva de folículos primordiais presente (Gülekli et al., 1999). Variações significativas no número de folículos em desenvolvimento nos ovários são relatadas entre indivíduos e entre raças (Boni et al., 1997), e a reserva ovariana poderia ser a chave para explicar diferenças nos resultados de TE/FIV obtidos em determinados grupamentos genéticos. Entretanto, em animais em produção esta relação pode ser obscurecida por diferentes fatores que interferem no processo de recrutamento folicular, como balanço metabólico, condição corporal, condições ambientais, etc.

II. Recrutamento folicular

Infelizmente, os fatores responsáveis pelos estádios iniciais de desenvolvimento folicular são os menos conhecidos (Fortune, 2003). As fases iniciais do crescimento folicular não dependem da estimulação pelos hormônios hipofisários, e são controladas por fatores intraovarianos. Diversos fatores com ação positiva (IGF-I, EGF, TGF α , bFGF, GDF9, BMP15, ativina, IL 1 β , NO) ou atretogênica (TNF α , folistatina, andrógenos, radicais livres, IL6) sobre o desenvolvimento e sobrevivência folicular vem sendo caracterizados (Erickson & Shimasaki, 2001). A complexidade das interações entre estes fatores, e a natureza autócrina e parácrina de sua ação torna a manipulação das fases iniciais do crescimento folicular extremamente complexa. Uma abordagem relativamente bem sucedida, neste contexto, foi o uso do BST em bovinos, objetivando o aumento do número de folículos em crescimento, efeito atribuído ao aumento na concentração intra-ovariana de IGF-1. Seu uso foi proposto como uma alternativa para maximizar os resultados da punção folicular (Buratini Jr., 2000). Entretanto, os resultados desta e de outras estratégias de manipulação indireta das fases iniciais do crescimento folicular, como a indução de balanço energético positivo, são limitadas pela reserva ovariana das doadoras, sendo freqüentemente inconsistentes.

EFICIÊNCIA DO CIDR® NOVO E REUTILIZADO EM PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO DE CURTA DURAÇÃO EM CABRAS DA RAÇA TOGGENBURG

Maffili, V.V.¹; Torres, C.A.A.²; Fonseca, J.F.³; Bruschi, J.H.⁴; Viana, J.H.M.⁴; Prospero, C.P.⁵; Moraes, E.A.²; Pontes, R.A.M.²

¹ Departamento de Zootecnia – UFV – vmaffili@cpqgm.fiocruz.br; ² Departamento de Zootecnia – UFV; ³ Centro Nacional Pesquisa em Caprinos – EMBRAPA; ⁴ Centro Nacional de Pesquisa Gado de Leite – EMBRAPA; ⁵ Departamento de Veterinária – UFLA

O objetivo deste experimento foi determinar a eficiência da reutilização de um dispositivo vaginal (CIDR-G®) por até três vezes. Dezoito fêmeas da raça Toggenburg foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos. As cabras do T1 (n = 6) foram tratadas com CIDR-G® novo, as do T2 (n = 6) com CIDR-G® utilizado uma vez e as do T3 (n = 6) com CIDR-G® utilizado por duas vezes. Os dispositivos vaginais foram inseridos no dia zero em associação com a aplicação, por via intramuscular, de 50 µg de d-cloprostenol (PGF) e retirados no quinto dia da inserção. Todas as fêmeas foram observadas quanto à manifestação de estro quatro vezes ao dia e uma vez detectado foram submetidas à monta natural. As porcentagens de estro e fertilidade foram, respectivamente, de 83,3/60% (T1), 83,3/60% (T2), e 100/83,3% (T3). O intervalo entre a retirada do dispositivo até o início do estro foi menor ($P < 0,05$) nas cabras do T3 ($20,0 \pm 3,10$ horas) quando comparado com as do T1 ($37,2 \pm 2,70$ horas) e do T2 ($33,6 \pm 5,40$ horas). As fêmeas do T3 tiveram maior ($P < 0,05$) duração do estro ($43,0 \pm 8,83$ horas) do que as do T1 ($30,0 \pm 4,24$ horas), mas não diferiram ($P > 0,05$) das do T2 ($37,2 \pm 6,57$ horas). Houve correlação negativa ($P < 0,05$) entre a duração do estro e o intervalo da retirada do CIDR-G® com o início do estro. O intervalo ($P > 0,05$) entre a retirada do CIDR-G® e o final do estro foi de $67,2 \pm 2,7$ (T1), $70,8 \pm 2,7$ (T2) e $63,0 \pm 8,3$ horas (T3). O número de ovulações, os intervalos desde o início do estro e da retirada do CIDR-G® até a ovulação não foram afetados pelos tratamentos ($P > 0,05$). O diâmetro médio dos folículos ovulatórios ($9,4 \pm 0,96$ mm) das fêmeas do T3 foi maior ($P < 0,05$) do que o das fêmeas do T1 ($7,6 \pm 1,4$ mm) e do que aquele das do T2 ($8,1 \pm 0,56$ mm). No entanto, a taxa de crescimento do folículo ovulatório foi semelhante nos três tratamentos ($P > 0,05$). Os resultados permitem concluir que a utilização do CIDR-G®, por até três vezes, foi efetiva e repercutiu em boas taxas de sincronização do estro e de gestação.