

Produção In Vitro de Embriões Bovinos

Revisão Bibliográfica

A produção in vitro de embriões é uma biotecnologia reprodutiva que se iniciou para fins de produção comercial de embriões bovinos no ano 1998, sendo o Brasil líder mundial a produção in vitro de embriões, tornando-se assim referência na técnica. Houve aumento de 300% na produção de embriões por fecundação in vitro em um período de 15 anos, atingindo total de 666.215 em 2016, ano que a técnica superou pela primeira vez o volume de embriões produzidos in vivo.

Essa técnica possibilita a reposição de animais geneticamente superiores ao plantel, maximizando a quantidade de descendentes, acelerando o progresso genético dos rebanhos bovinos e diminuindo os intervalos de gerações entre os animais. Deste modo, a produção in vitro de embriões permite o contato com oócito da fêmea fora do trato reprodutivo com o espermatozoide do macho que leva a formação de um indivíduo.

Esse processo envolve etapas que incluem a coleta de oócitos, maturação in vitro, fecundação in vitro e o cultivo in vitro. A coleta pode ocorrer de duas maneiras, sendo que a primeira forma, a partir de oócitos recuperados de folículos de ovários de vacas abatidas ou de animais que sofreram morte súbita, e a outra forma é através da aspiração folicular guiado por ultrassonografia transvaginal em animais in vivo.

A primeira etapa da produção in vitro(PIV) de embriões bovinos depende da obtenção dos oócitos, em seguida a técnica é desenvolvida em três etapas: a maturação in vitro, a fertilização e o cultivo até o estágio de mórula e blastocisto que normalmente é alcançado no sétimo dia pós fecundação, sendo o momento em que os embriões estão prontos para serem transferidos ou criopreservados, todas interligadas e realizadas dentro de uma infraestrutura adequada em laboratório de reprodução animal.

Existem diversas técnicas que podem ser usadas para a coleta de oócitos para PIV. Os primeiros procedimentos realizados eram feitos através de laparotomia.

Com o passar dos anos, no entanto, avanços consideráveis foram obtidos que facilitaram os meios de obtenção de oócitos em animais in vivo, popularmente conhecida como a técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassonografia – Ovum pick up (OPU), que favorece os programas de melhoramento genético.

Esta técnica possui vários benefícios e por ser pouca invasiva, pode ser usada em qualquer fase do ciclo estral. Obtendo-se também oócitos de fêmeas a partir de 6 meses de idade, fêmeas idosas, de animais pré-púberes ou de animais que apresentam gestação inicial até o terceiro mês e é possível fazer coleta em animais que estejam entre segunda e terceira semanas após parto. Outro benefício da técnica é a não interferência

no estado fisiológico do animal, não exige estimulação hormonal exógena e as sessões de aspiração folicular podem ser realizadas a cada 15 dias ou mensalmente.

Além disso a técnica de OPU possibilita a coleta em animais de alto valor genético que por algum motivo possuem infertilidade, tornando-se possível a obtenção de oócitos gerando produtos descendentes.

A coleta de oócitos em fêmeas bovinas é realizada pela punção folicular com uma agulha acoplada a uma sonda transvaginal, de forma que os folículos a serem puncionados são observados na tela do ultrassom.

Nesse procedimento, um sistema de bomba a vácuo acoplado à agulha que pode ser hipodérmica descartável, libera a recuperação dos oócitos e do líquido folicular para dentro de um tubo coleta. Após essa etapa é realizado a seleção desses baseada em características das células e do aspecto do citoplasma do oócito, que são classificados de acordo com sua morfologia pelo número de camadas, Grau I (ótimo), Grau II (bom), Grau III (regular) e citoplasma irregular e degenerado (desnudo) em função da sua morfologia e qualidade. Em seguida os oócitos selecionados são transportados até o laboratório, para iniciar a próxima etapa de maturação oocitária in vitro.

Os oócitos são mantidos em um meio de maturação, sendo comumente utilizado um meio coberto por óleo mineral que auxilia a não ocorrer a evaporação do meio de maturação e facilita a rápida absorção de hormônios esteroides adicionados ao meio. O período necessário para a maturação dos oócitos para a espécie bovina ocorre de 18 a 24 horas em atmosfera controlada contendo 5% de CO₂ em ar e umidade saturada. Esse processo permite e envolve uma série de transformações nucleares, citoplasmáticas e moleculares que tornam o gameta feminino apto a ser fecundado. Assim, para que as etapas da maturação oocitária ocorram in vitro, é importante que os meios usados durante este período mimetizem as condições encontradas durante o processo de maturação in vivo.

Logo após o tempo de incubação, os oócitos completam a maturação com a extrusão do primeiro corpúsculo polar e estão prontos para a fecundação. Para isto, são utilizados espermatozoides de palhetas de sêmen congelado sendo convencional ou sexado.

Após 24 horas da fecundação in vitro, os oócitos são desnudados com auxílio de uma pipeta e transferidos para o meio de cultivo in vitro. O cultivo embrionário in vitro requer um ambiente adequado, com tempo de variação de todo o processo de desenvolvimento de 7 a 9 dias dependendo de cada forma, técnica e meios utilizados pelos laboratórios em suas rotinas.

Os desafios que esta técnica enfrenta estão relacionados ao alto custo, dependência de uma infraestrutura laboratorial e pela variabilidade dos resultados referentes às taxas de mórulas e blastócistos, incluindo o tempo gasto em todo o procedimento para a produção in vitro de embriões, que se inicia desde o momento da sincronização das receptoras, seleção de doadoras, aspiração folicular dos oócitos,

evolução in vitro de embriões e o processo da transferência dos embriões.

Os métodos e meios utilizados sofrem pequenas variações nos laboratórios influenciando nos resultados que cada um destes alcança, como a qualidade dos embriões, a produção, bem como a capacidade de produção dos mesmos, mostrando que a dedicação e comprometimento aliados ao constante crescimento biotecnológico são o marco fundamental para o sucesso da produção in vitro de embriões bovinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

https://www. abspecplan.com.br/absnews/ABSNews_2017_08.pdf

www. abspecplan.com.br/absnews/ABSNews_2016_12.pdf

Revista Ciência Veterinária UniFil, v. 1, n. 3, jul./set. 2018