

TIPOS DE OVÓCITOS OBTIDOS DE FOLÍCULOS EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO PROVIENTES DE OVÁRIOS DE BOVINOS ABATIDOS EM MATADOUROS

Fabrizia Portes Cury Lima

Professora do curso de Medicina Veterinária do UNIFOR-MG

e-mail: fabrizialima@gmail.com

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a incidência de diferentes tipos morfológicos de ovócitos bovinos, foram colhidos ovários (n=200) de animais em matadouro. Os folículos foram aspirados e os ovócitos classificados segundo a camada de células do *cumulus*. A aspiração dos folículos foi feita manualmente, com agulha 25x7 e seringa de 5mL, e os ovócitos obtidos foram classificados com o auxílio de um estereomicroscópio. O diâmetro dos folículos e dos corpos lúteos também foi medido. A técnica de aspiração utilizada se mostrou satisfatória, no entanto, houve diminuição nas taxas de recuperação dos ovócitos. Na análise das estruturas, do total de 3428 folículos, foram recuperados 1884 ovócitos, os quais foram classificados da seguinte forma: *cumulus* compacto e denso, com mais de três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida (48,41%); até três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida (23,03%); ovócitos possuindo áreas da zona pelúcida totalmente desprovidas de células (14,33%); e desnudos ou totalmente desprovidos de células do *cumulus* (14,23%).

Palavras-chave: Bovinos. Ovócitos. Aspiração folicular.

OOCYTE TYPES HARVESTED FROM FOLLICLES IN DIFFERENT STAGES OF DEVELOPMENT, OBTAINED FROM BOVINE OVARIES COLLECTED IN SLAUGHTERHOUSES

ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the incidence of different types of bovine oocytes harvested from 200 ovaries obtained in slaughterhouses. The follicles were aspirated and the oocytes harvested were classified according to their *cumulus* cell layers. The follicle aspiration was done manually with a 5mL disposable syringe coupled to a 25x7 needle, and the oocytes classified through a stereomicroscope. The diameter of the follicles and corpus luteum were also measured. The technique used proved to be efficient, however it may allow decrease in the index of oocyte recover. From a total of 3428 follicles aspirated were recovered 1884 oocytes, wich were classified as following: compact *cumulus*, with more than three cell layers completely surrounding the pelucida zone (48,41%); up to three *cumulus* cell layers completely surrounding the pelucida zone (23,03%); pelucida zone with areas without *cumulus* cells (14,33%) and denude or completely lacking *cumulus* cells (14,23%).

Keywords: Bovine. Oocytes. Follicular aspiration.

1 INTRODUÇÃO

Diversas biotecnologias têm sido desenvolvidas com o objetivo de aumentar a eficiência reprodutiva e produtiva de espécies, tanto de interesse econômico quanto daquelas em extinção, visando maximizar o potencial genético das mesmas, tendo em vista o limitado número de descendentes produzidos pelas fêmeas. (BOLS *et al*, 1995; GUERRA, 1998).

Tentativas de se utilizar ovócitos obtidos *in vivo* ou de ovários colhidos em abatedouros como fonte de ovócitos para pesquisas ou em programas comerciais de transferência de embriões convencionais, tem-se produzido resultados variados. (BLUME, 1999).

A punção folicular com aspiração é utilizada na recuperação repetitiva de ovócitos imaturos em animais vivos, proporcionando fonte eficiente de ovócitos para produção de embriões *in vitro*, com fins de pesquisa e aplicação comercial. (BOLS, 1997). Contudo, existem vários fatores que influem na coleta de ovócitos, os quais são fundamentais para a maximização da taxa de recuperação dos mesmos (Horne *et al*, 1996). A maioria dos estudos utiliza ovócitos bovinos obtidos de ovários de animais provenientes de abatedouros, apresentando a camada de células do *cumulus* compacta (COSTA, 1994; MALARD, 2000), e relaciona o tipo de revestimento celular à sua habilidade de maturação *in vitro*. A combinação entre pressão de aspiração e diâmetro da agulha é essencial para a coleta de ovócitos, o que pode ser otimizado por condições de aspiração possíveis em ovários obtidos em abatedouro, mas não aplicado com a mesma segurança em animais *in vivo*. (HASHIMOTO *et al*, 1999).

Objetivou-se, com esse trabalho, identificar tipos morfológicos de ovócitos provenientes de ovários de novilhas e vacas abatidas em matadouro, em função do diâmetro dos folículos puncionados e da presença de corpo lúteo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidos 200 ovários de vacas e novilhas recém-abatidas em abatedouros localizados na região metropolitana de Belo Horizonte, MG. Os ovários foram mantidos em solução fisiológica entre 22-28°C, por um período máximo de duas horas, da hora do abate à colheita e classificação dos ovócitos. O diâmetro dos folículos e dos corpos lúteos foram mensurados com o auxílio de um paquímetro e em seguida foi feita a aspiração folicular, segundo técnica descrita por Bols *et al* (1996), com agulhas 25x7 e seringas descartáveis estéreis de 5 mL, depositando-se os líquidos colhidos em tubos cônicos (Tubos do tipo Falcon) para decantação.

Após a aspiração, os ovócitos foram colocados numa placa de Petri, avaliados morfológicamente com o auxílio de um microscópio estereoscópico, e classificados de acordo com as células do *cumulus* em: Tipo 1- *cumulus* compacto, sem alterações microscópicas visíveis e com mais de três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Tipo 2 – constituído de até três camadas de células do *cumulus* envolvendo totalmente a zona pelúcida; Tipo 3 - ovócitos possuindo áreas da zona pelúcida totalmente desprovidas de células; e Tipo 4 - ovócitos desnudos, ou seja, desprovidos de células do *cumulus*. (GUERRA, 1998).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação morfológica são mostrados na Tab. 1, onde pode ser observada a média de diâmetro dos folículos, dos corpos lúteos e a incidência dos tipos de ovócitos encontrados.

Tabela 1 - Média (X) do diâmetro (Ø), em centímetros (cm), dos folículos, dos corpos lúteos e tipos e porcentagem (%) de ovócitos bovinos de ovários colhidos em abatedouros da região metropolitana de Belo Horizonte, MG.

Ø folículo (n=3428)		Ø corpo lúteo (n=87)		Tipos de ovócitos: % (n=1884)			
Tipo	X (cm)	Direito (cm)	Esquerdo (cm)	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Tipo 4
1º Maior	0,72 (n=200)	1,85 (n=51)	2,08 (n=36)	48,41 (n=912)	23,03 (n=434)	14,33 (n=270)	14,23 (n=268)
2º Maior	0,53 (n=200)						
3º Maior	0,41 (n=200)						
Demais puncionados	<0,41 (n=2828)						

A técnica de aspiração folicular usada foi de fácil manipulação e de baixo custo, conforme também relatam Bols *et al* (1995 e 1996), Bols (1997) e Hashimoto *et al* (1999). No entanto, a aspiração folicular é uma técnica que pode resultar em diminuição significativa na taxa de recuperação dos ovócitos (HORNE *et al*, 1996), em decorrência de vários fatores, como o posicionamento e a rotação da agulha em relação à superfície do ovário, a orientação do bisel da agulha em relação à posição do ovócito dentro do folículo, o vácuo ideal no interior dos folículos provocado pela movimentação do êmbolo durante o processo de aspiração, o diâmetro da agulha e o tempo gasto em todo o processo.

Os resultados do presente experimento mostram para ovócitos do tipo 1 frequência inferior à encontrada por Costa (1994) e Blume (1999), enquanto para os ovócitos dos tipos 2 e 3 a frequência foi superior à encontrada por Costa (1994). Para os ovócitos do tipo 4, a frequência foi semelhante à encontrada por Blume (1996) e superior à observada por Costa (1994). Salienta-se, porém, que as diferenças entre os resultados encontrados pelos autores podem ser atribuídas à diferença no método de colheita utilizado por eles (MALARD, 2000), ao tempo e condições de acondicionamento dos ovários até a punção e também ao desconhecimento do histórico reprodutivo do animal.

Ao contrário do comentado por Bols (1996), de que vácuo inadequado acarretaria em maior desnudamento dos ovócitos, por remover a camada de células do *cumulus*, é relevante considerar, pelos resultados encontrados com a aspiração manual, que a porcentagem de ovócitos do tipo 1 obtida foi satisfatória, sugerindo que a técnica utilizada é relativamente eficiente na preservação das células do *cumulus*, portanto, da qualidade dos ovócitos.

CONCLUSÃO

Nas condições deste trabalho, os resultados permitem concluir que a técnica utilizada é eficiente na coleta e preservação da qualidade dos ovócitos. Contudo, sua eficiência depende da perícia do técnico para minimizar dificuldades discutidas inerentes à mesma.

REFERÊNCIAS

- BLUME, H.; VALE FILHO, V. R.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; SATURNINO, H. M. Incidência dos diferentes tipos morfológicos de ovócitos bovinos obtidos de ovários colhidos em matadouro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, p. 258-259, 1999.
- BOLS, P. E. J.; VAN-SOOM, A.; VANDENHEEDE, J. M.; KRUIF, A. Transvaginal ovum pick-up (OPU) in the cow: a new disposable needle guidance system. **Theriogenology**, USA, v. 43, p. 677-687, 1995.
- BOLS, P. E. J.; VAN-SOOM, A.; YSEBAERT, M. T.; VANDENHEEDE, J. M.; KRUIF, A. Effects of aspiration vacuum and needle diameter on *cumulus* oocyte complex morphology and developmental capacity of bovine oocytes. **Theriogenology**, USA, v. 45, p. 1001-1014, 1996.
- BOLS, P. E. J. **Transvaginal ovum pick-up in the cow: technical and biological modifications**. Thesis (PhD) - University of Gent, Belgica, 1997.
- COSTA, E. P. **Aspectos morfológicos (citológicos e ultraestruturais) e desenvolvimento de ovócitos de bovinos *in vitro***. Belo Horizonte: UFMG, 1994.
- GUERRA, M. M. P. **Maturação *in vitro* de ovócitos caprinos**. 127 p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.
- HASHIMOTO, S.; TAKAKURA, R.; KISHI, M.; SUDO, T.; MINAMI, N.; YAMADA, M. Ultrasound-guided follicle aspiration: the collection of bovine cumulus-oocyte complexes from ovaries of slaughtered or live cows. **Theriogenology**, USA, v. 51, p. 757-765, 1999.
- HORNE, R.; BISHOP, C. J.; REEVES, G.; WOOD, C.; KOVACS, T. Aspiration of oocytes for *in vitro* fertilization. **Human Reproduction Update**, Oxford, v. 2, p. 77-85, 1996.

MALARD, P. F. Coleta, maturação, fecundação e cultivo *in vitro* de ovócitos de bezerras da raça Nelore de 2 a 3 meses de idade. 47 p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2000.