



## INFLUÊNCIA DE DIFERENTES NÍVEIS DE PROGESTERONA NA QUALIDADE DE OVÓCITOS OBTIDOS POR PUNÇÃO FOLICULAR EM VACAS DE CORTE

Pfeifer, L. M.<sup>(1)</sup>, Pivato, I.<sup>(2)</sup>, Rumpf, R.<sup>(3)</sup>, Sartori, R.<sup>(3)</sup>, Nascimento, T. A. S.<sup>(4)</sup>, Damato, J. A.<sup>(4)</sup>, Dionello, N. L.<sup>(5)</sup>, Rabassa, V. R.<sup>(6)</sup>, Corrêa, M. N.<sup>(7)</sup>.

(1) Médico Veterinário, Mestrando em Reprodução Animal – Fac. Veterinária - UFPEL

(2) CIDASC, Indaial – SC,

(3) Pesquisador III, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF

(4) Médico Veterinário, estagiário, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF

(5) Eng. Agrônomo, M.C., Dr., Professor Adjunto – Departamento de Zootecnia - FAEM- UFPEL

(6) Bolsista de iniciação científica do Grupo NUPEEC- Estudante de Graduação em Veterinária

(7) Médico Veterinário, M.C., Dr., Professor Adjunto - Departamento de Clínicas Veterinária

**NUPEEC – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária**

**Departamento de Clínicas Veterinária – Faculdade de Veterinária**

**UFPEL – Campus Universitário – CEP 96010-900 – F: (53) 275 7506**

\* [lpfeifer@ufpel.edu.br](mailto:lpfeifer@ufpel.edu.br) – [www.ufpel.edu.br/hcv](http://www.ufpel.edu.br/hcv)

### INTRODUÇÃO

O grande avanço obtido na área de biotecnologia da reprodução tem permitido o desenvolvimento de biotécnicas que aumentam a eficiência reprodutiva e o ganho genético em rebanhos bovinos, bem como permitem o estudo e aperfeiçoamento de técnicas de reprodução assistida. Entretanto, os protocolos e métodos utilizados ainda requerem aperfeiçoamentos [1].

É neste âmbito que a técnica de punção folicular guiada por ultra-som (OPU) possibilita maximizar o aproveitamento de ovócitos que fisiologicamente sofreriam atresia, mas possuem potencial de produção de embriões *in vitro* [2].

Apesar dos progressos obtidos nesta área, a eficiência da produção de embriões transferíveis, oriundos de fertilização *in vitro* (FIV) ainda é baixa [3]. Existem fortes indicações de que este fato esteja mais relacionado com a qualidade dos ovócitos do que com as condições de fertilização e cultivo *in vitro* [4] e/ou ao método de maturação *in vitro* dos ovócitos coletados [5].

Alguns estudos indicam que ovócitos oriundos de folículos que tiveram seu desenvolvimento na fase de diestro do ciclo estral são de melhor qualidade, sugerindo que ovócitos desenvolvidos em um ambiente com maior concentração de progesterona (P4) seriam de melhor qualidade [6]. Alguns trabalhos sugerem que a progesterona tem importante função na qualidade embrionária [7, 8]. Nasser et al. (2002) [8] em um trabalho usando a primeira onda folicular para superovular vacas, ou seja, utilizando o tratamento superestimulatório em baixas concentrações de progesterona, observaram que o número de embriões transferíveis foi menor do que os tratamentos superestimulatórios tradicionais com início no D8 ou D9, no meio do ciclo. Isto indica que folículos desenvolvidos em ambiente com maior concentração de progesterona tendem a produzir ovócitos de melhor qualidade.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de ovócitos oriundos de folículos que tiveram seu desenvolvimento em diferentes concentrações plasmáticas de progesterona.



## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado nas dependências da EMBRAPA – CENARGEN, localizada na região de cerrado, em Brasília – Distrito Federal.

Para a realização deste experimento foram utilizadas 15 vacas mestiças (*bos taurus x bos indicus*), com condição corporal (CC) entre 3 e 3,5, em regime de pastagem (*Brachiaria brizanta*) recebendo suplementação mineral (sal proteinado – EMBRAPA Cerrados). Antes do início do experimento, todas as vacas receberam um CIDR (dispositivo intravaginal liberador de progesterona em forma de T) por 8 dias. Dois dias antes da retirada dos dispositivos, todas as vacas receberam 0,150 mg de D-cloprostenol. No dia da retirada dos CIDRs todas as vacas foram submetidas à OPU, para haver a padronização do crescimento folicular. Após esta 1ª OPU as vacas foram divididas aleatoriamente em 3 grupos distintos e todas submetidas à OPU a cada 4 dias totalizando 6 sessões. Os três grupos receberam a cada 8 dias, prostaglandina e 0,150 mg de D-cloprostenol.

(G1) recebeu 1 CIDR usado, para obtenção de baixos níveis de progesterona sérica. Como este grupo já estava a 8 dias com um dispositivo, permaneceu com o mesmo CIDR por mais 8 dias. O CIDR foi trocado no intervalo entre 2 OPU de forma que foram utilizados 3 CIDRs por vaca durante as 6 OPU. As outras 2 trocas de CIDR foram feitas utilizando os dispositivos que haviam sido usados pelas vacas dos outros grupos no início dos tratamentos.

(G2) os animais deste grupo, após a retirada do CIDR, receberam 2 dispositivos, para obtenção de níveis mais altos de progesterona. Os CIDRs foram trocados a cada 8 dias juntamente com as aplicações de prostaglandina.

(G3) os animais deste grupo não foram submetidos à tratamentos com progesterona e somente receberam prostaglandina, a cada 8 dias.

### *Punção Folicular e avaliação ovocitária:*

O método de aspiração folicular denominado “ovum pick up” (OPU) utilizado no experimento foi o descrito [9]. Os ovócitos coletados foram classificados em 4 categorias de acordo com seu aspecto morfológico, segundo a classificação proposta [9].

Os resultados foram analisados no programa estatístico SAS® [10], e comparados através do teste de Duncan.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de recuperação ovocitária, ou seja, número de ovócitos coletados/número de folículos disponíveis, foi de 60,51 %, 68,77 % e 47,19 %, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente (Tabela 1). Houve diferença ( $p < 0,05$ ) na taxa de recuperação apenas entre os grupos 2 e 3.

Estes resultados demonstram que o grupo tratado com dois CIDRs (G2) apresentou maior taxa de recuperação do que o grupo que não sofreu influência da progesterona (G3). Isto provavelmente deve estar ligado ao fato de que os ovários dos animais do G2 apresentavam maior população folicular, facilitando assim a obtenção dos ovócitos. Estes resultados concordam com o trabalho de Petyim et al., (2003) [9] que trabalhou com 2 esquemas de OPU diferentes, um contínuo, 2



sessões por semana, e outro descontínuo, com sessões restritas aos dias 0 a 12 do ciclo estral. Apesar de haver detectado um maior n° de folículos no esquema descontínuo, a taxa de recuperação foi de 58,5 % enquanto no esquema contínuo, onde a disposição folicular foi menor, a taxa foi de 45,6%.

Os resultados das OPU's demonstram que a média de ovócitos coletados/vaca/punção foi de 6,56, 6,96 e 3,36, respectivamente, para os grupos 1, 2 e 3, sendo que houve diferença dos grupos 1 e 2 para o grupo 3 ( $p < 0,01$ ) (Tabela 1).

Em relação à qualidade dos CCO's (complexo cúmulus-ovócito), houve diferença na média de ovócitos de qualidade I e II entre os grupos: 2,6, 1,12 e 0,28 para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente ( $p > 0,0001$ ) (Tabela 2). Estes resultados indicam que a progesterona tem influência na média de ovócitos de qualidade I e II. A partir destes resultados é possível inferir sobre a existência de um nível de P4 limite, capaz de influir na qualidade ovocitária mesmo que de forma indireta. Este fato pode estar relacionado com a frequência dos pulsos de LH de cada tratamento, os quais no grupo 1 possivelmente seja maior do que no grupo 2, indicando que é necessário algum nível de pulsos de LH para que os ovócitos atinjam sua competência. A progesterona permite que o folículo seja exposto por um maior período a pequenos pulsos de LH, formando um ovócito de melhor qualidade [11].

Em relação à recuperação de ovócitos de qualidade III e IV, foi registrado diferença entre o grupo 2 e os demais grupos ( $p < 0,01$ ) (Tabela 2). A média de ovócitos de qualidade III e IV foi de 3,96, 5,84 e 3,08, para os grupos 1, 2 e 3, respectivamente. A maior média de ovócitos de má qualidade registrada no grupo 2, possivelmente, está mais relacionada às características inerentes de cada animal doador (4) do que propriamente com algum efeito direto da progesterona na qualidade destes ovócitos.

Estes resultados não concordam com os registros de Campos et al. (2004) [12], que utilizando GnRH e bST no tratamento de vacas submetidas à OPU, em animais que haviam sido SOV (o qual chamou de grupo com alta P4) não obtiveram diferença na qualidade dos CCO's do grupo controle (com baixa P4) para as qualidades I e II, ambos com 33 %. O tratamento usado por Campos et al. [12] no grupo controle foi o mesmo utilizado em nosso experimento.

Tabela 1: Resultados das OPU's / sessão / vaca de acordo com o grupo.

Grupo	Folículos puncionados	Taxa de Recuperação (%)	Média ovócitos/punção/vaca
1	271	0,605166 <sup>AB</sup>	6,56 <sup>a</sup>
2	253	0,687747 <sup>A</sup>	6,96 <sup>a</sup>
3	178	0,47191 <sup>B</sup>	3,36 <sup>b</sup>
Total	702	0,601139601	12,88

Valores seguidos de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem entre si ( $p < 0,05$ ).

Valores seguidos de letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem entre si ( $p < 0,01$ ).

Tabela 2: média de ovócitos recuperados de acordo com a qualidade.

Grupo	Qualidade dos CCO's (ovócitos/punção/vaca)	
	I – II	III – IV



1	2,6 <sup>A</sup>	3,96 <sup>b</sup>
2	1,12 <sup>B</sup>	5,84 <sup>a</sup>
3	0,28 <sup>C</sup>	3,08 <sup>b</sup>
total	4	12,88

Valores seguidos de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, diferem entre si ( $p < 0,0001$ ).

Valores seguidos de letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem entre si ( $p < 0,01$ ).

## CONCLUSÕES

A partir destes resultados foi possível verificar que animais submetidos a OPU com fonte exógena de P4 aumentam a qualidade e quantidade de ovócitos recuperados. Desta forma, o uso regular de progesterona em vacas doadoras de ovócitos pode tornar-se uma ferramenta eficaz para maximizar o aproveitamento de gametas de fêmeas de alto valor zootécnico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADAMS, G.P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implications for synchronization and superovulation. *Theriogenology*, 42: 19-24, 1994.
- [2] BOUSQUET, D.; TWAGIRAMUNGU, H.; MORIN, N.; BRISSON, C.; CARBONEAU, G.; DUROCHER, J. In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach. *Theriogenology*, 51: 59-70, 1999.
- [3] GORDON I. Developments in *in vitro* fertilization (IVF) technology. *Laboratory Production of Cattle Embryo*. Wallingford, Cab International, 1994. p. 1-29.
- [4] BEVERS M.M., DILEMAN S.J., VAN DEN HURK R., IZADYAR F. Regulation and modulation of oocyte maturation in bovine. *Theriogenology*, 47: 13-22, 1997.
- [5] LEIBFRIED-RUTLEDGE, M. L.; CRITSER, W.H.; EYESTONE, D.L.; FIRST, N.L. Development potential of bovine oocytes matured in vitro or in vivo. *Biol. Reprod.* 36: 376-383. 1987.
- [6] BLONDIN, P.; SIRARD, A. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol Reprod Dev* 41,54-62, 1995.
- [7] BÓ, G.A.; TRÍBULO, H.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. *Theriogenology*. v. 55, p. 357 (abstr), 2001.
- [8] NASSER, L.F.; BO, G.A.; MARQUES, M.O.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P.S. Superovulatory response during the first follicular wave in nelore (*Bos Indicus*) Donors Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS. Porto Alegre, Brasil, v. 29 (Supl.), p. 337 (abstr.), 2002.
- [9] PETYIM, S., BAGE, R., HALLAP, T., BERGQVIST, A. -S., LARSSON, B. Two different schemes of twice-weekly ovum pick-up in dairy heifers: effects on oocyte recovery and ovarian function. *Theriogenology*. 60. 175-188.2003.
- [10] SAS®. SAS/STAT User's Guide (Rel. 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC. 1991.
- [11] GREVE T, HYTTEL P., ASSEY R. The effects of exogenous gonadotropins on oocyte and embryo quality in cattle. *Theriogenology*, 43: 41-50, 1995.

[12] CAMPOS, H. Efeito residual da SOV sobre a PIV de embriões em sessões de OPU subsequentes. Tese. Reprodução animal. Universidade de Brasília, 62 p. Brasília, 2001.



XIII  
CIC  
CONGRESSO  
DE INICIAÇÃO  
CIENTÍFICA

VI ENPOS  
ENCONTRO DE  
PÓS-GRADUAÇÃO

outubro | 2004