

INTRODUÇÃO

- Uma das biotécnicas mais utilizadas, aplicada à reprodução animal, é a PIVE (Produção *in vitro* de embriões), biotecnologia que tem desempenhado papel de destaque na evolução da eficiência da bovinocultura. Porém seu custo é alto e o aproveitamento de ovócitos é pouco eficiente.
- Sabe-se que a proteína Beta-NGF, quando administrada para fêmeas durante a inseminação, melhora a função do corpo lúteo. Além disso, foi verificada uma correlação positiva entre a quantidade de Beta-NGF nos espermatozoides e as taxas de clivagem e blastocisto na produção *in vitro* de embriões, indicando possível atuação durante o desenvolvimento embrionário inicial.
- O objetivo do estudo, portanto, foi avaliar o efeito da suplementação de NGF no meio de maturação utilizado em rotinas de PIVE, a fim de aprimorar a eficiência da técnica.

MATERIAIS E MÉTODOS

- Rotinas de PIVE foram realizadas semanalmente, nas quais aproximadamente 1500 ovócitos foram obtidos a partir da aspiração folicular, feita em laboratório, de ovários coletados em abatedouro comercial de Araguari- MG.
- Foi utilizado sêmen congelado de um único touro de central especializada e com fertilidade comprovada para produção *in vitro*.
- Em todas as rotinas foram utilizadas gotas de meio de maturação sem e com suplementação com NGF na concentração de 100 ng/mL.
- A taxa de clivagem foi determinada 48 horas após a fertilização *in vitro* por meio de contagem dos embriões que apresentavam duas ou mais células (taxa de clivagem = nº de embriões/ nº de ovócitos iniciais). A taxa de blastocisto foi determinada no sétimo dia após a fecundação. A taxa de blastocisto foi calculada em relação ao número de ovócitos que iniciaram a clivagem e chegaram a este estágio de desenvolvimento (taxa de blastocisto = nº de blastocisto/ nº de embriões utilizados para cálculo da taxa de clivagem).
- Para verificar a existência de diferença entre o grupo suplementado e o não suplementado aplicou-se o teste T pareado.

RESULTADOS

- Os resultados das PIVEs estão demonstrados na tabela 1.

| Rotinas | Taxa de clivagem | | Taxa de blastocistos | |
|------------|------------------|----------|----------------------|----------|
| | Suplementado | Controle | Suplementado | Controle |
| 1 | 76,74% | 69,57% | 30,30% | 18,75% |
| 2 | 63,27% | 50,00% | 51,61% | 34,78% |
| 3 | 71,43% | 58,14% | 34,29% | 24,00% |
| 4 | 61,70% | 53,33% | 44,83% | 33,33% |
| 5 | 63,68% | 65,38% | 43,80% | 52,94% |
| 6 | 65,97% | 52,94% | 21,43% | 5,56% |
| Médias | 67,13% | 56,56% | 37,71% | 11,07% |
| Valor de P | 0,02 | | 0,05 | |

Tabela 1: Taxas de clivagem e de blastocistos obtidas em cada rotina de PIVE com meio suplementado com Beta-NGF e não suplementado e valor de p obtido na comparação dos grupos utilizando-se o teste T pareado.

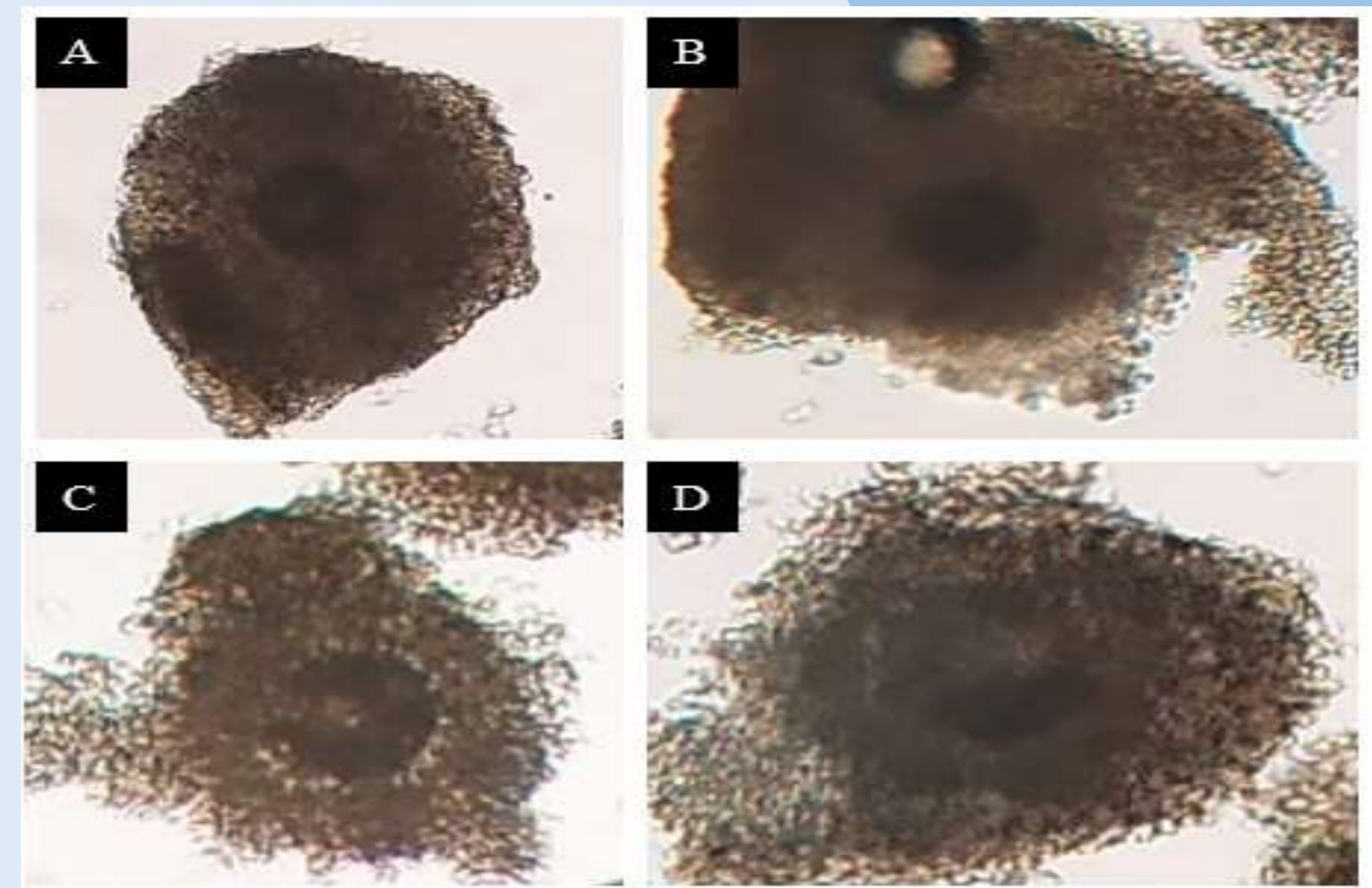


Figura 1: Ovócitos utilizados nas PIVEs, classificados como grau I (A e B) e grau II (C e D), segundo Stojkovic (2001).

DISCUSSÃO

- Atualmente já se utilizam substâncias nutricionais e hormonais suplementares para melhorar o processo de maturação, como as gonadotrofinas (FHS, LH), líquido folicular ou sérico, hormônios tireoidianos, bem como estudos também já comprovaram a atuação positiva do fator de crescimento (EGF), fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), ativina A e inibina A (SILVA et al, 2005). Os resultados do presente trabalho demonstram que a suplementação com Beta-NGF em meio de maturação ovocitária também tem atuação positiva neste processo. As mudanças nucleares e citoplasmáticas que ocorrem no complexo cúmulo ovócito (CCO), durante sua maturação, são de extrema importância para o momento da fecundação, assim como para o desenvolvimento inicial do embrião. Dessa forma, as condições de maturação *in vitro*, como a composição do meio, temperatura, e atmosfera gasosa podem influenciar diretamente no sucesso da produção *in vitro* de embriões (PIVE). Isso pode ser comprovado mediante comparação entre ovócitos maturados em meios e condições distintas, e suas taxas de formação de blastocistos subsequentes (SILVA et al, 2005), assim como feito no presente trabalho. As melhores taxas de clivagem obtidas no grupo suplementado com Beta-NGF, mostram que um maior número de ovócitos finalizou sua maturação. Já as melhores taxas de blastocistos obtidas neste mesmo grupo, demonstram que os efeitos benéficos da suplementação sobre a maturação ovocitária, permanecem durante o desenvolvimento embrionário inicial. Podemos assim especular que de forma geral, mesmo que a maturação ovocitária permita a fecundação e o início da clivagem, ela pode não ser suficiente para que o desenvolvimento embrionário inicial ocorra satisfatoriamente. Ou seja, especificamente em relação aos resultados deste trabalho, a suplementação do meio de maturação ovocitária com Beta-NGF não só aumentou o número de ovócitos maturados, como melhorou a qualidade destes ovócitos, já que a taxa de blastocisto foi melhor no grupo suplementado.

CONCLUSÃO

- Diante dos resultados, verificou-se que a suplementação do meio de maturação ovocitária, na produção *in vitro* de embriões bovinos, leva a melhores taxas de clivagem e formação de blastocistos.
- Conclui-se, então, que a suplementação do meio de maturação ovocitária com Beta-NGF seria uma alternativa para melhorar os resultados de PIVEs bovinas.

- **Agradecimentos:** Os autores agradecem Capes, FAPEMIG e CNPq