



Efeito da suplementação de “Beta-nerve growth factor” (Beta-NGF) no meio de fertilização na produção in vitro de embriões bovinos

Effect of “beta nerve growth factor” (Beta-NGF) supplementation in the fertilization medium on the in vitro production of bovine embryos.

M.C. Martins¹, H.P. Marquez², M.J.A. Lopes¹, L. Miglio³, A.L.G. Carvalho³, K.O.E. Blandon³, M.V. Silva¹, V.C. Bernadelli³, L.M. Gonçalves², M.E. Beletti¹

*¹Programa de Pós-Graduação em Ciência veterinárias – UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

*²Faculdade de medicina veterinária– UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

*³Instituto de ciências Biológicas– UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

INTRODUÇÃO

- Dentre as biotécnicas, a produção in vitro de embriões (PIVE) tem tido um papel importante no processo de aceleração do melhoramento genético, ao possibilitar a produção de um número maior de bezerros por vaca de alto potencial genético em um menor período
- Entretanto, o processo de PIVE é extremamente custoso e possui baixa eficiência no aproveitamento de ovócitos.
- O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da suplementação do meio de fertilização com proteínas espermiáticas recentemente identificadas, como a Beta-NGF, que atua no desenvolvimento embrionário inicial.

MATERIAIS E MÉTODOS

- foram realizadas seis rotinas de produção in vitro de embriões, avaliando o desenvolvimento embrionário inicial.
- Os ovócitos de grau I e II foram rastreados e selecionados. Na sequência foram feitas gotas com meio de maturação, com 15 a 20 ovócitos, e mantidos por cerca de 22h em estufa.
- Os ovócitos maturados foram lavados e transferidos para gotas de 100 µL de meio TALP-Fert. De forma aleatória foram escolhidas algumas gotas para posterior comparação entre as taxas de clivagem e formação de blastocistos entre os ovócitos mantidos nas 3 gotas controle e nas 3 gotas suplementadas.
- As amostras foram mantidas por 18 horas no meio de fertilização e na sequência transferidas foram desnudados mecanicamente por pipetações sucessivas, e após foram lavados 3 vezes em gotas de 100 µL de meio de cultivo SOF.
- A taxa de clivagem foi avaliada 48h após a fecundação in vitro por meio da avaliação das estruturas que apresentavam duas ou mais células. Sete dias após a fecundação, a taxa de blastocistos foi avaliada a partir da contagem de estruturas que alcançaram esse estágio de desenvolvimento, sem diferenciação entre blastocistos iniciais, expandidos ou eclodidos
- 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	55,22%	50,97%	18,66%	22,64%
2	61,78%	73,33%	16,56%	20,00%
3	79,39%	85,71%	30,30%	30,16%
4	60,84%	52,94%	10,84%	5,88%
5	83,92%	59,42%	38,69%	28,99%
6	63,51%	60,00%	21,17%	23,53%
Médias	67,45%	63,73%	22,70%	21,87%
Valor de p	0,49		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.

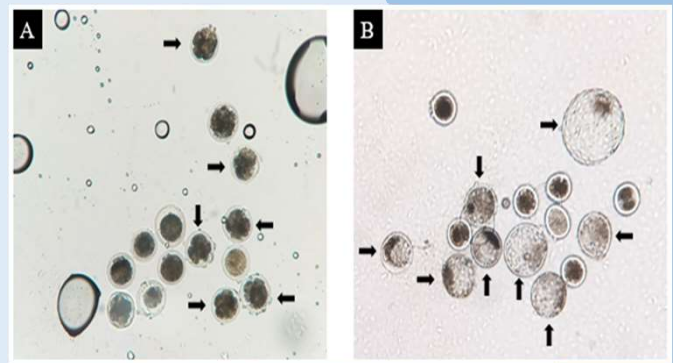


Figura 1: A: embriões clivados no dia 2 (seta); B: blastocistos expandidos e eclodidos no dia 7 (seta).

DISCUSSÃO

- Sabe-se que o plasma seminal, produzido nas glândulas sexuais acessórias masculinas, contém proteínas, fatores de crescimento, citocinas e hormônios
- A importância deste estudo se baseia na expectativa de descobrir se esta proteína está relacionada com o melhoramento da maturação ovocitária e do desenvolvimento embrionário inicial de bovinos
- 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
- Acreditava-se que suplementação do meio de fertilização com Beta-NGF não só aumentaria o número de ovócitos maturados, como melhoraria a qualidade destes ovócitos.
- Estudos já comprovaram a expressão da NGF e sua atuação durante a maturação meiótica, em ovócitos bovinos
- Trabalhos anteriores comprovaram a presença em bovinos de receptores de Beta-NGF (Trk e p75) em ovócitos imaturos e em células do cúmulo do complexo cúmulo ovócito (CCO).
- Também pode-se verificar 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.
- Porém no nosso trabalho não houve diferença quando suplementamos o meio de fertilização com 100 ng/ml da proteína Beta-NGF.

CONCLUSÃO

- A Beta-NGF não influenciou na produção de embriões bovinos quando adicionada no meio de fertilização.
- Conclui-se, então, que a suplementação do meio de fertilização com 100 ng Beta-NGF não é uma alternativa para melhorar os resultados de PIVEs bovinas.

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