

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

CULTIVO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS EM DIFERENTES TENSÕES DE OXIGÊNIO

Mariana SANTOS*¹, Daniela Moraes PEREIRA¹, Giovanna de Lima ORTIZ¹, Silvio Silva de OLIVEIRA¹, Aldair Félix da SILVA¹, Mirela Brochado SOUZA-CÁCERES², Christopher Junior Tavares CARDOSO³, Fabiana de Andrade MELO-STERZA^{1,3}

*autor para correspondência: melriana1@hotmail.com

¹Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil

²Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

³Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effects of different oxygen tension on the *in vitro* culture of bovine embryos. Follicles of 3-8 mm were aspirated from ovaries collected from local slaughterhouse. Oocytes were *in vitro* matured and fertilized with conventional semen. After that, the possible zygotes were divided into two groups: ALTAO₂ (high oxygen tension - 20% O₂) and BAIXAO₂ (low tension of O₂ - 5%) and transferred to culture drops and maintained for 8 days in their respective incubators according to the treatments. There was no difference (P > 0.05) in the rate of cleavage and blastocyst in D7, D8, D9 when IVM, IVF and IVC were performed at high O₂ tension or only the culture in low tension O₂. It is concluded that the embryo cultured in low oxygen tension does not alter the *in vitro* production of bovine embryos.

Palavras-chave: blastocisto, estresse oxidativo, reprodução

Introdução

É sabido que a concentração de O₂ no útero e oviduto é menor que no ar (FISCHER & BAVISTER et al., 1993) e a tensão padrão de O₂ atmosférico, que é de aproximadamente 20%, tem sido comumente usada para cultivo de embriões mamíferos.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Acredita-se que a sobrecarga oxidativa seja a responsável pela queda na taxa de blastocistos e do elevado número de células em apoptose (YOON et al., 2014). A redução da concentração de oxigênio durante o cultivo *in vitro* de embriões melhorou a taxa de blastocistos de camundongos (UMAOKA et al., 1992), ovinos e bovinos (WU et al., 2011).

Objetivou-se, com este estudo, avaliar o efeito de diferentes tensões de oxigênio durante o cultivo *in vitro* de embriões bovinos.

Material e Métodos

Os ovários foram coletados de abatedouro local e transportados até o laboratório em solução de NaCl 0,9% acrescida de antibióticos, à temperatura de 35 a 37°C. Foram puncionados folículos de 3-8 mm de diâmetro e os complexos cumulus-oophorus (CCOs) recuperados foram classificados de acordo com o aspecto e distribuição das células do cumulus e uniformidade do citoplasma. Somente os oócitos classificados como Grau 1 e Grau 2 foram utilizados. Após a seleção, um total de 1135 oócitos foram maturados *in vitro* (MIV) por um período de 24h, a 38,5°C em 5% CO₂ e posteriormente foram destinados à fecundação com sêmen convencional, testado para a FIV. Após a FIV, os possíveis zigotos foram co-cultivados e divididos em dois grupos: ALTAO₂ (alta tensão de oxigênio – 20% O₂) e BAIXAO₂ (baixa tensão de O₂ – 5%) e transferidos para gotas de cultivo, onde permaneceram por 8 dias em suas respectivas incubadoras. Esse experimento foi repetido 11 vezes. Em cada replicata foi utilizado um poço da placa de cultivo celular contendo 25 oócitos para cada grupo experimental, sendo esta considerada a unidade experimental. A taxa de blastocistos foi calculada no D7 do CIV, a partir do número de oócitos inseminados. Os dados foram analisados pela fração de oócitos ou embriões cultivados atingindo os estágios determinados, reportada em porcentagem. Para análise estatística a avaliação da normalidade dos dados foi realizada pelo teste Shapiro Wilk. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Wallis, à 5% de nível de significância, utilizando o programa estatístico R (versão 3.4.4). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de ética no uso de animais pelo protocolo nº 004/2018 UEMS.

Resultados e Discussão

Não houve diferença ($P > 0,05$) na taxa de clivagem e blastocisto em D7, D8, D9 quando a MIV, FIV e CIV foram realizadas em alta tensão de O_2 ou somente o cultivo em baixa tensão de O_2 .

Tabela 1: Taxas de clivagem, blastocisto (D7, D8 e D9) de embriões bovinos produzidos in vitro em alta e baixa tensão de O_2 durante a CIV.

%	Alta Tensão	Baixa Tensão
Taxa de clivagem	81,3 (447/550) a	80,5 (511/635) a
Taxa de blastocisto D7	34,6 (66/191) a	37,0 (81/219) a
Taxa de blastocisto D8	41,4 (79/191) a	41,6 (91/219) a
Taxa de blastocisto D9	42,9 (82/191) a	42,5 (93/219) a

*Letras minúsculas diferem na linha

Resultados semelhantes foram encontrados Booth et al. (2005), que também não encontraram diferença na taxa de blastocistos quando o cultivo foi realizado nas diferentes tensões de oxigênio (5 e 20%). No entanto a maioria dos estudos relatam um efeito deletério em altas tensões de O_2 , mostrando um aumento no desenvolvimento embrionário quando cultivados em 5% O_2 (Takahashi et al., 2000) sugerindo que a menor tensão de O_2 diminui a formação de espécies reativas de oxigênio e conseqüentemente o estresse oxidativo levando a um maior desenvolvimento embrionário.

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

Conclusão

Baseado nos resultados deste experimento, conclui-se que o cultivo embrionário em baixa tensão de oxigênio pode ser utilizado sem alterar a produção in vitro de embriões bovinos.

Agradecimentos (Opcional)

À Fundect, CNPq, CAPES e Frigorífico Buriti.

Referências

- Booth, P.J., Holm, P., Callesen, H., 2005. The effect of oxygen tension on porcine embryonic development is dependent on embryo type. *Theriogenology* 63, 2040–2052.
- Fischer, B.; Bavister, B. 1993. Oxygen tension in the oviduct and uterus of rhesus monkeys, hamsters and rabbits. *J. Reprod.Fertil.* 99:673–679.
- Takahashi, M.; Keicho, K.; Takahashi, H.; Ogawa, H.; Schultz, R.M.; Okano, A. 2000. Effect of oxidative stress on development and DNA damage in in-vitro cultured bovine embryos by comet assay. *Theriogenology* 54, 137–145.
- Umaoka, Y.; Noda, Y.; Narimoto, K.; Mori, T. 1992. Effects of oxygen toxicity on early development of mouse embryos. *Mol Reprod Dev.* 31:28–33.
- Yoon, S.; Choi, S.A.; Sim, B.W.; Kim, J.S.; Mun, S.E.; Jeong, P.S.; Yang, H.J.; Lee, Y.; Park, Y.H.; Song, B.S.; Kim, Y.H.; Jeong, K.J.; Huh, J.W.; Lee, S.R.; Kim, S.U.; Chang, K.T. 2014. Developmental competence of bovine early embryos depends on the coupled. *Biol Reprod.* 90:1–10.
- Wu, G.Q.; Jia, B.Y.; Li, J.J.; Fu, X.W.; Zhou, G.B.; Hou, Y.P.; Zhu, S.E. 2011. L-carnitine enhances oocyte maturation and development of parthenogenetic embryos in pig. *Theriogenology.* 76:785–793.

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:

