



XIII Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente

TIFOI (TRANSFERÊNCIA INTRAFOLICULAR DE OVÓCITOS IMATUROS)

Marcella Lorrany Oliveira Amaral^{1*}, Isabel Regina Nunes Ribeiro² e Juliano José de Oliveira Coutinho³

¹Discente no Curso de Medicina Veterinária – Faculdade UNA de Divinópolis – UNA – Divinópolis/MG – Brasil – *Contato: marcellalorrany51@gmail.com

²Discente no Curso de Medicina Veterinária – Faculdade UNA de Divinópolis – UNA – Divinópolis/MG – Brasil

⁴Docente do Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário UNA de Contagem – UNA – Contagem/MG – Brasil

INTRODUÇÃO

A TIFOI (Transferência intrafolicular de ovócitos imaturos) surgiu com o avanço da área biotecnologia da reprodução bovina nos últimos anos. É uma técnica que em que se utiliza os benefícios da produção *in vitro* e *in vivo*, objetivando a produção de embriões. Ela se faz importante pelo aumento da produtividade através melhoramento genético, desenvolvimento das técnicas de biotecnologia na reprodução bovina, diminuição do tempo entre crias e gerações, aumento de produtos e valorização do médico veterinário^{1,6}.

Sabendo da importância do gado bovino no Brasil, o texto aborda o que é a TIFOI, bem como a explicação da técnica e o que a envolve. Diante das atualizações ainda se percebe que, com pesquisas, é uma técnica que promete um bom resultado aliado a um baixo custo. Sendo assim, com as pesquisas de melhoramento, pode ser uma alternativa e uma nova prática na reprodução bovina.

O objetivo do presente resumo é abordar as atualizações da prática da TIFOI e avaliar a utilização da técnica no futuro.

MATERIAL E MÉTODOS

Para revisão de literatura sobre o tema foram utilizadas as plataformas: *Google Acadêmico*, *Science Direct* e *Pubvet*, e, palavras chaves como: reprodução bovina, TIFOI, biotécnicas reprodutivas, avanços. Assim, foram utilizadas 10 referências totais dos anos de 2016 à 2024.

RESUMO DE TEMA

Atualmente, na reprodução bovina é comum o uso das técnicas de superestimulação ovariana (SOV) e fertilização *in vitro* (FIV). Pensando em uma nova técnica, surgiu então a transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI). Essa baseia-se na junção da SOV e FIV, principalmente quando se utiliza uma fase *in vivo* e outra *in vitro*. Também, se faz possível a isenção de grande infraestrutura de manejo e manipulação pelo médico veterinário, porque não é necessário uso de laboratório nem de materiais de cultivo e transporte de embriões, uma vez que tudo é feito na própria fazenda, bem como o desenvolvimento embrionário vai ocorrer dentro da ovuladora, sendo, portanto, mais prática. Contudo, o que faz a técnica não ser empregada em larga escala são as problemáticas que surgem com a manipulação da guia transvaginal pelo foliculo da ovuladora no momento da inserção dos oócitos no foliculo e do processo de desenvolvimento oocitário, por isso, pesquisas estão sendo realizadas para analisar cada fase e a metodologia utilizada na técnica, a fim de descobrir as melhores práticas, visto que a eficiência foi muito inferior à das técnicas atualmente utilizadas^{2,4}.

Para a realização da TIFOI, inicialmente, os animais em protocolo reprodutivo são definidos. As doadoras são vacas com alto valor zootécnico em que se retiram os oócitos. As receptoras são os animais que vão gerar o filhote, apenas irão receber o embrião e gestá-lo, geralmente animais de baixo valor zootécnico. As ovuladoras são as vacas que vão passar pelo momento da ovulação.

Sabendo disso, as doadoras são selecionadas. As ovuladoras são escolhidas, podendo ou não utilizar o método de sincronização de estro com os hormônios progesterona e estradiol, para, assim, haver o desenvolvimento de um foliculo dominante que receberá os oócitos. Então, faz-se a aspiração dos oócitos imaturos das doadoras em que eles são retirados. Após isso, os oócitos aspirados serão inseridos no foliculo da ovuladora onde ocorrerá o desenvolvimento deles. A vaca será inseminada posteriormente para que se fertilizem os oócitos e seja possível fazer o lavado de embriões. Dessa forma, oito dias depois da ovulação, o lavado uterino é feito retirando os blastocistos. Eles serão separados em grupos de 10 e analisados de acordo com o estágio de desenvolvimento para avaliar sua qualidade, quando será avaliado o aspecto morfológico e integridade da zona pelúcida. Dessa forma, os embriões podem ser transferidos para as receptoras, as quais cada uma gestará um embrião, ou serão congelados, para que em um momento oportuno sejam transferidos. As receptoras serão sincronizadas para dias 06, 07 ou 08 de ovulação, para que recebam o embrião. (Fig. 1).^{2,10}

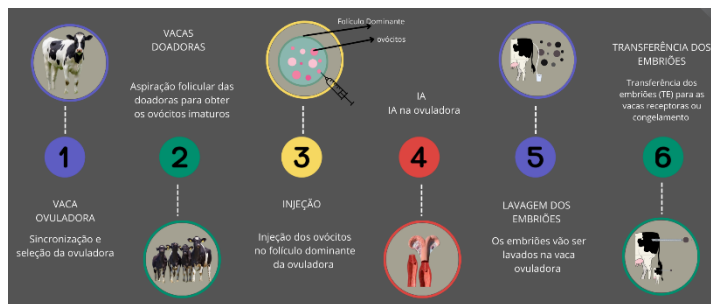


Figura 1: Etapas da TIFOI (Fonte: Arquivo pessoal).

Na SOV é preciso de um intervalo de tempo de descanso para o animal, uma vez que a superestimulação hormonal por FSH (hormônio foliculo estimulante) pode afetar sua produção e bem-estar. Já na FIV, os ovócitos coletados devem ser cultivados *in vitro*, o que reduz sua qualidade, uma vez que altera seu desenvolvimento. Os embriões *in vitro* possuem células enegrecidas, as quais apresentam mais gorduras, sendo mais lipofílicas, atrapalhando a criopreservação, sendo que os produzidos *in vivo* têm maior probabilidade de nascimento². Em um estudo recente, foi demonstrado que os embriões produzidos *in vitro* têm baixa qualidade em suas estruturas, maior conteúdo lipídico influenciando na baixa criotolerância, morfologia alterada e menor expressão gênica que se traduz na capacidade que a informação hereditária tem de formar produtos gênicos funcionais como o RNA e proteínas, essenciais para o desenvolvimento do animal, uma vez que a boa expressão gênica forma os componentes para haver a replicação e formação celular. Assim, a técnica *in vitro* acaba gerando mais perdas embrionárias e mortes fetais. Ainda se tratando da técnica *in vitro* foi demonstrado também que a maturação do oócito no fluido folicular atrasa a maturação nuclear, sendo que a maturação *in vitro* ocorre em menos tempo que a *in vivo*, sendo, portanto, atrasada.³

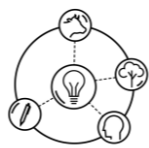
Em relação a maturação dos oócitos dentro do foliculo é concluído que ele cresce mesmo com a exposição ao LH (hormônio luteinizante), quando ocorre o pico de LH que é quando ocorre a ovulação. No entanto, o tempo de exposição ao hormônio pode acabar sendo responsável pela taxa de oócitos degenerados, sendo que pode ocorrer o desenvolvimento precoce ou alteração da viabilidade oocitária.

A fim de avaliar melhor a morfologia embrionária, o Departamento de Veterinária e Zootecnia da Faculdade de Brasília avaliou alguns parâmetros. Os oócitos maduros e imaturos foram desnudados por pipetagem repetida e fixados em solução de 2:1 de etanol e ácido acético por 48 horas, com solução de Lacmoid em 45% de ácido acético glacial, sendo que o desenvolvimento é acompanhado por microscópio.⁵ Foi constatado, então que processo *in vitro* evita o estresse da vaca, assemelha-se ao padrão fisiológico do desenvolvimento natural e permite a manipulação com as substâncias corretas e necessárias para o desenvolvimento folicular, promovendo a inibição da PDE (fosfatidilsterase) e inativação da PKA (proteína quinase A), que evita a retomada da meiose.^{3,5,6} No entanto, o resultado do desenvolvimento de oócitos *in vivo* maturados *in vitro* foi melhor, elucidando que a maturação de oócitos dentro de um foliculo não é apenas viável, como não altera a sua capacidade de fertilização e aumentam a capacidade de fertilização *in vitro*. Com isso, os pesquisadores concluíram que a baixa taxa de rendimento embrionário não é devido à maturação da TIFOI.³

Em se tratando da quantidade de camadas de células do cumulus e sua relação com a recuperação embrionária, independentemente se foram poucas camadas⁸ ou muitas camadas⁹ o resultado se manteve variável, sendo necessário maiores descobertas sobre a realização da prática.^{8,9}

Em relação à técnica de injeção dos ovócitos e o tempo de ovulação, foi realizado um estudo com grupo controle, um grupo injeção e outro injeção+oócitos considerando o mesmo protocolo para todos. Não houve diferença no tempo de ovulação em nenhum dos grupos, o que se distinguiu foi o diâmetro e volume, que se dá pela quantidade de substância

XIII Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente



de reserva, diminuídos dos ovócitos injetados, seja antes da ovulação ou 22 horas após a TIFOI², uma vez que também se insere o líquido folicular, o que pode causar um aumento da pressão interna e extravasamento de líquido pelo orifício formado através da injeção folicular⁷. Não se tem bem estabelecido a quantidade de ovócitos a ser injetada. Contudo, sabe-se que um volume muito grande e também a qualidade da injeção interfere no tamanho folicular, mas ainda não se têm dados suficientes para definir parâmetros. Em relação ao protocolo utilizado não houve diferenças, concluindo ser válido.² O que já se sabe é que a guia transvaginal para injeção dos ovócitos é adaptada da *ovum pick up* (OPU) ou aspiração folicular. Dito isso, a guia interfere no desenvolvimento folicular, uma vez que afeta a estrutura do folículo por causar uma lesão na parede folicular. Até então, a indicada é uma agulha de injeção de 18 – 20 G (gauge) com pressão de aspiração de 13 a 15 mL/min. Já a injeção dos ovócitos é feita com uma agulha de 27G. Ela passará pelo fórnix da vagina e perfurará a parede folicular.⁴

O protocolo de sincronização de estro constatado em pesquisa da Embrapa foi: no dia 10 (D10) aplicar 2mg de benzoato de estradiol e inserir o implante de progesterona (P4). No dia -2 aplicar 2ml de prostaglandina F2 α juntamente com a retirada do implante. No D-1 administrar novamente 1mg de benzoato de estradiol. E, por fim, no D0 aplicar 1mg de um análogo de GnRH para estimular a ovulação, após 54 horas da retirada do implante de P4^{2,4}. A contagem é feita ao inverso, porque a contagem para o lavado de embrião deve ser D0 (dia da ovulação) até D8, quando se faz o lavado. (Fig. 2)

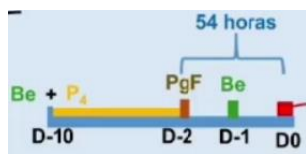


Figura 2: protocolo utilizado na TIFOI (Fonte: EMBRAPA).

Portanto, a técnica torna-se positiva por, também, diminuir os custos na produção de embriões. E, por ser um procedimento que exige conhecimento e estudos aprofundados, o médico veterinário é crescentemente valorizado.⁶

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, a metodologia da TIFOI é uma alternativa em relação à produção de embriões, onde se seguem interesses acerca dos métodos comumente utilizados, uma vez que permite a segurança na produção e bem-estar, é mais prática a campo e promove a valorização do médico veterinário. Todavia, essa tecnologia necessita de aprimoramentos relacionados à execução da técnica, tanto na manipulação dos oócitos, quanto no seu desenvolvimento. Sendo assim, são necessárias mais pesquisas para a evolução da técnica, permitindo sua viabilidade e aplicabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DE CASTRO, F. C. et al. Sistemas de manejo para maximização da eficiência reprodutiva em bovinos de corte nos trópicos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 25, n. 1, p. 41-61, 2018.
2. ANDRADE, J. M. C. et al. **Injeção intra-folicular de ovócitos imaturos em bovinos: influência da injeção intra-folicular no momento da ovulação**. Programa de Iniciação Científica-PIC/UnICEUB-Relatórios de Pesquisa, 2019.
3. SIMÕES, L. M. S. et al. Nuclear maturation kinetics and in vitro fertilization of immature bovine oocytes injected into pre-ovulatory follicles. **Theriogenology**, v.166, p. 90-96 2021.
4. SPRICIGO, J. F. W.; DODE, M. A. N. Transferência Intrafolicular de Ovócitos Imaturos (TIFOI): uma alternativa para produção de embriões bovinos. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília/DF, v.1, p. 102-110, nov., 2016.
5. FARIA, O. A. C. de et al. Factors Affecting Intra-Follicular Transfer of Immature Oocytes: Does the Injection Matter? **Social Science Research Network**, abr., 2024.

6. SPRÍCIGO, J. F. W.; DODE, M. A. N. Intrafollicular transfer of bovine immature oocytes (TIFOI). **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.25-32, jan./mar. 2017.
7. ANDRADE, J. M. C. et al. Injeção intra-folicular de ovócitos imaturos em bovinos: influência da injeção intra-folicular no momento da ovulação. **Programa de Iniciação Científica-PIC/UnICEUB-Relatórios de Pesquisa**, Brasília/DF, 2019.
8. COVRE, A. B. et al. **Poucas camadas do cumulus e sua influência na taxa de recuperação de estruturas na TIFOI**. 2023. 6. Tese. Universidade Federal do Espírito Santo. ALEGRES. 2023.
9. COVRE, A. B. et al. **Muitas camadas do cumulus e sua influência na taxa de recuperação das estruturas na TIFOI**. 2023. 5. Tese. Universidade Federal do Espírito Santo, ALEGRES. 2023.
10. SILVA, D. A. et al. Transferência intrafolicular de ovócitos imaturos (TIFOI): revisão de literatura. **Zootecnia: pesquisa e práticas contemporâneas**, v. 2, p. 254 – 266, 2021.