

Breve histórico sobre a técnica de fertilização *in vitro* para uso em reprodução animal

Andrea Giannotti Galuppo

Pós-graduanda

Artigo extraído da dissertação de Mestrado, sob orientação de Magali D'Angelo

Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal

Número 24 - 25/10/2005

Há mais de um século, foi observada pela primeira vez, a fecundação de um óvulo de estrela do mar com a posterior formação da primeira célula do futuro embrião. Os invertebrados marinhos foram objeto das primeiras pesquisas porque, ao contrário dos mamíferos, a fecundação ocorre externamente ao sistema reprodutor da fêmea. Nos mamíferos, ainda no final do século XIX, surgiu o primeiro relato sobre a possibilidade de se cultivar embriões *in vitro*. Cientistas interessados no estudo de aspectos relacionados à reprodução e ao desenvolvimento de organismos superiores iniciaram os primeiros ensaios com a finalidade de estabelecer metodologias que permitissem a manipulação de embriões.

Os primeiros trabalhos experimentais em embriologia de mamíferos foram realizados com coelhos, tendo em vista suas características biológicas favoráveis, como o tamanho relativamente grande do óvulo, o que facilita a manipulação, e a ovulação induzida pelo acasalamento, fato de elevada conveniência para determinação precisa da idade dos embriões. Alguns desses trabalhos iniciais incluem uma descrição acurada dos estágios embrionários pré-implantacionais, que foram descritos em 1875 por Van Beneden, transferência de embriões para o oviduto, descritos em 1890 por Heape, realização de um filme das sucessivas clivagens de uma mórula em cultura realizado por Lewis e Gregory em 1929, entre outras observações. Porém, as dificuldades relativas à compreensão das necessidades nutricionais e, as limitações impostas pelas características físico-químicas dos meios utilizados consistiam em barreiras técnicas a serem rompidas.

Somente no início do século XX, juntamente com o desenvolvimento da química, que permitiu a produção de meios de melhor qualidade, a embriologia passou por progressos significativos, com profundos reflexos no sucesso de coleta e cultivo de embriões. Finalmente, na década de 50, Wesley Whitten propôs uma nova formulação para os meios de cultura, que passaria a ser utilizada tanto na coleta quanto no cultivo dos embriões, ampliando significativamente o número de embriões implantados com sucesso. Whitten desenvolveu um meio utilizando uma solução de Krebs-Ringer bicarbonato, suplementada com albumina sérica bovina, o qual foi capaz de promover as clivagens de um embrião de camundongo com uma célula até o estágio de blastocisto. Juntamente com Whitten, Ralph Brinster iniciou uma linha de pesquisa para determinar quais as necessidades nutricionais de um embrião em cultura e, durante o processo, desenvolveu a técnica da cultura de embriões em microgotas utilizada atualmente em vários laboratórios no mundo, tanto na área animal, quanto humana.

Essas novas condições de cultura, apesar de muito simples, permitiram a expansão do desenvolvimento das técnicas de produção de embriões *in vitro*. Marco na história da FIV, Chang (1959) relatou o nascimento do primeiro mamífero (coelho) gerado a partir dessa técnica. A partir daí, até o final dos anos 70, vários outros relatos da obtenção de FIV seguida de nascimentos de filhotes saudáveis foram registrados. Após o relato de Chang (1959), Whittingham, em 1968, obteve sucesso trabalhando com camundongos e, alguns anos mais tarde Toyoda e Chang estabeleceram a FIV para ratos. Steptoe e Edwards (1978) estabeleceram um novo marco na história da FIV no mundo, com o sucesso do nascimento do primeiro bebê humano.

No que concerne aos animais de produção, apenas na década de 70 é que surgiram os primeiros relatos de sucesso no nascimento de filhotes após maturação *in vitro*, seguida de transferência para fertilização dos embriões *in vivo*. Em 1971, Crosby e sua equipe produziram filhotes saudáveis de ovelhas, no mesmo ano Leman e Dziuk obtiveram sucesso trabalhando com porcos, resultado que foi comprovado em 1974 por Motlik e Fulka. O primeiro relato da produção de um bezerro utilizando a técnica descrita acima ocorreu em 1970, e foi realizado por Sreenan e sua equipe.

Até esse momento, aparentemente, não havia nenhum relato da produção de filhotes bovinos nascidos após FIV. Apesar das técnicas de transferência de embriões produzidos *in vivo* em bovinos estarem sendo amplamente utilizadas nos anos 70, os esforços para a produção de embriões *in vitro* em bovinos foram considerados por Blandau (1980) como um “total fracasso”. Entretanto, mesmo com as evidências apresentadas por Blandau (1980) no início da década de 80 finalmente foi produzido um bezerro a partir de FIV. Brackett *et al.* (1982) foram os primeiros a publicarem o nascimento de um bezerro sadio, ocorrido no dia 9 de junho de 1981, produzido por FIV. Em seu trabalho foram utilizadas 22 doadoras e 7 receptoras, para a fertilização foi utilizado tanto sêmen a fresco quanto amostras congeladas. As amostras de sêmen eram de animais pré-selecionados para inseminação artificial, o que indicava uma boa qualidade seminal. A coleta dos oócitos foi realizada via cirúrgica, e foram recuperados 177 oócitos, dos quais 52% fertilizaram. Apesar da grande quantidade de embriões produzidos para transferência, a gestação só foi obtida em uma doadora, a qual recebeu apenas um embrião no estágio de 4 células. O primeiro bezerro de FIV nasceu pesando 45kg e, após alguns meses de observações, não foram visualizadas alterações no desenvolvimento e no comportamento do animal.

A partir de então, a PIV de bovinos recebeu grande impulso por ter sido verificado que poderia ser integralmente viabilizada sob condições artificiais. Por todo o potencial de aplicação que a PIV representa para as espécies humana e animal, como pela sua expressividade tanto para a ciência básica quanto para a aplicada, tem sido muito difundida e utilizada em diversos países, inclusive de forma destacada no Brasil, a partir da década de 90. Atualmente o Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, com cerca de 196 milhões de animais, e apresenta-se em posição de destaque na produção mundial de embriões, particularmente pela expansão no uso da fertilização *in vitro* em bovinos.

Bibliografia consultada:

Alvarenga, M.A. Editorial. *O embrião*: Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Jaboticabal, . Editorial, n. 22, p. 1, 2005.

Blandau, R.J. In vitro fertilization and embryo transfer. *Fertility and Sterility*, v.33, p.3-11, 1980.

Brackett, B.G.; Bousquet, D.; Boice, M.L.; Donawick, W.J.; Evans, J.F.; Dressel, M.A. Normal development following in vitro fertilization in the cow. *Biology of Reproduction*, v.27, p.147-158, 1982.

Chang, M.C. Fertilization of rabbit ova in vitro. *Nature*, v.184, p.466-467, 1959.

Gonçalves, P.B.D.; Visitin, J.A.; Oliveira, M.A.L.; Montagner, M.M.; Costa, L.F.S. Produção in vitro de embriões. In: Gonçalves, P.B.D.; Figueiredo, J.R.; Feritas, V.J.F. (Eds.). *Biotécnicas aplicadas à reprodução animal*. São Paulo: Varela, 2002. p.195-196.

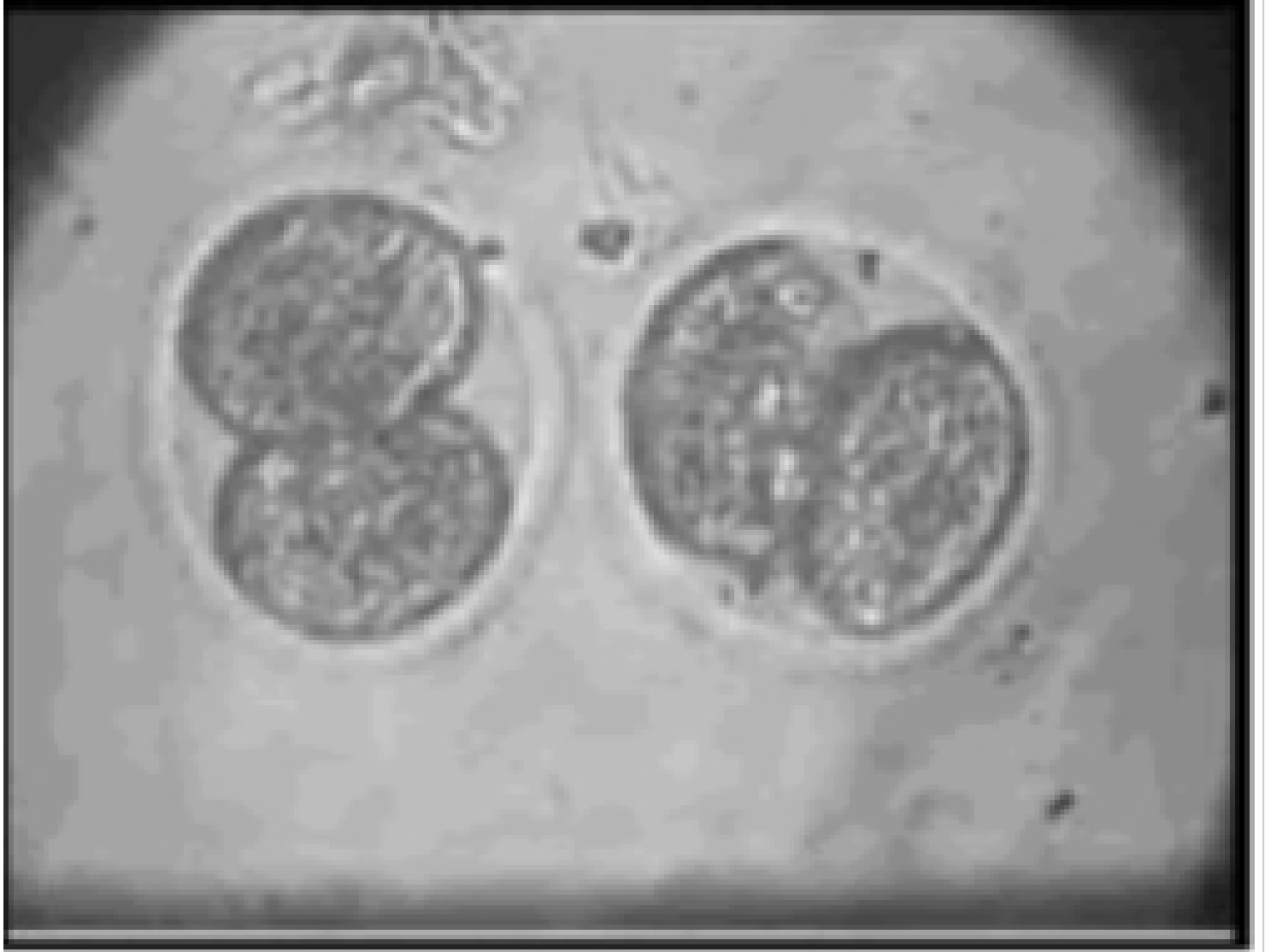
Graziano, X. Olho no boi. *O Estado de São Paulo*, São Paulo, 10 mai. 2005. Espaço Aberto, v.126, n.40747, p.A2, 2005.

Hogan, B.; Constantini, F.; Lacy, E. Developmental genetics and embryology of the mouse: past, present, and future. In: Hogan, B.; Constantini, F.; Lacy, E. (Eds.). *Manipulating the mouse embryo: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 1986. p.12-14.

Iritani, A.; Niwa, K. Capacitation of bull spermatozoa and fertilization in vitro of cattle follicular oocytes matured in culture. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.50, p.119-121, 1977.

Passos, L.A.C.; Guaraldo, A.M.A.; Alves, D.P.; Pires, L.A.; Santana, T.M.; Dini, T.H.C. Criopreservação de embriões murinos em biotérios. In: Andrade, A.; Pinto, S.C.; Oliveira, R.S. (Eds.). *Animais de Laboratório criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. p.225- 245.

Steptoe, P.C.; Edwards, R.G. Birth after the preimplantation of a human embryo. *Lancet*, v.2, p.366, 1978.



Embriões de camundongo no estágio de 2 células

(uploads/artigos/24/1.jpg)