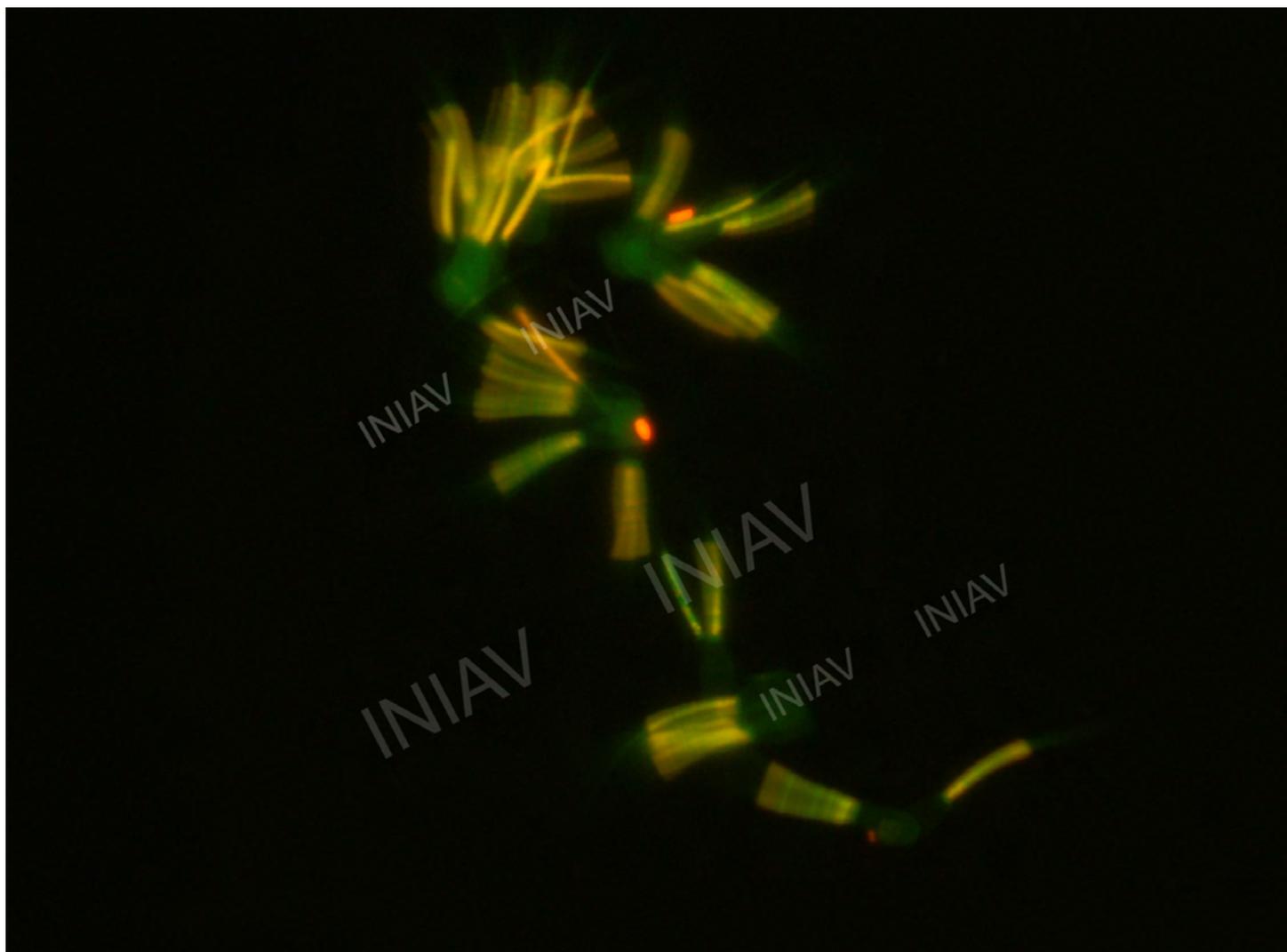




Nº 7 ABRIL 2024

EZN - NEWSLETTER



A preservação da fertilidade utilizando a criopreservação de gâmetas ou embriões é considerada o processo de conservação a longo prazo, robusto e seguro. Envolve protocolos específicos de preparação celular e de tecidos (tecido ovárico; oócitos; espermatozoides; células somáticas e embriões) para congelação ultrarrápida (vitrificação) ou por etapas/rampas até -196°C e posterior descongelação e hidratação celular, processo essencial para manter a viabilidade e capacidade de desenvolvimento.

A criopreservação de gametas é utilizada em humanos para fazer face a várias patologias entre as quais o cancro ou em tratamentos de infertilidade e, em animais, para a

conservação de indivíduos de elevado valor comercial ou mérito genético bem como na salvaguarda da biodiversidade e prevenção da erosão genética.

Nos animais, as diferenças fisiológicas entre espécies fazem com que seja necessário maximizar a eficácia de protocolos, estudando e compreendendo os mecanismos biológicos, fisiológicos, genéticos, entre outros, subjacentes a cada etapa da preparação para a criopreservação e posterior descongelação. É o caso dos oócitos e embriões em bovinos, porcos e equínos, com as suas elevadas crio sensibilidades e baixas taxas de desenvolvimento, sobretudo do gâmeta feminino ([Pereira et al., 2008](#)).

O Polo de Inovação da Fonte Boa e o estudo da Inseminação Artificial em animais de produção em Portugal

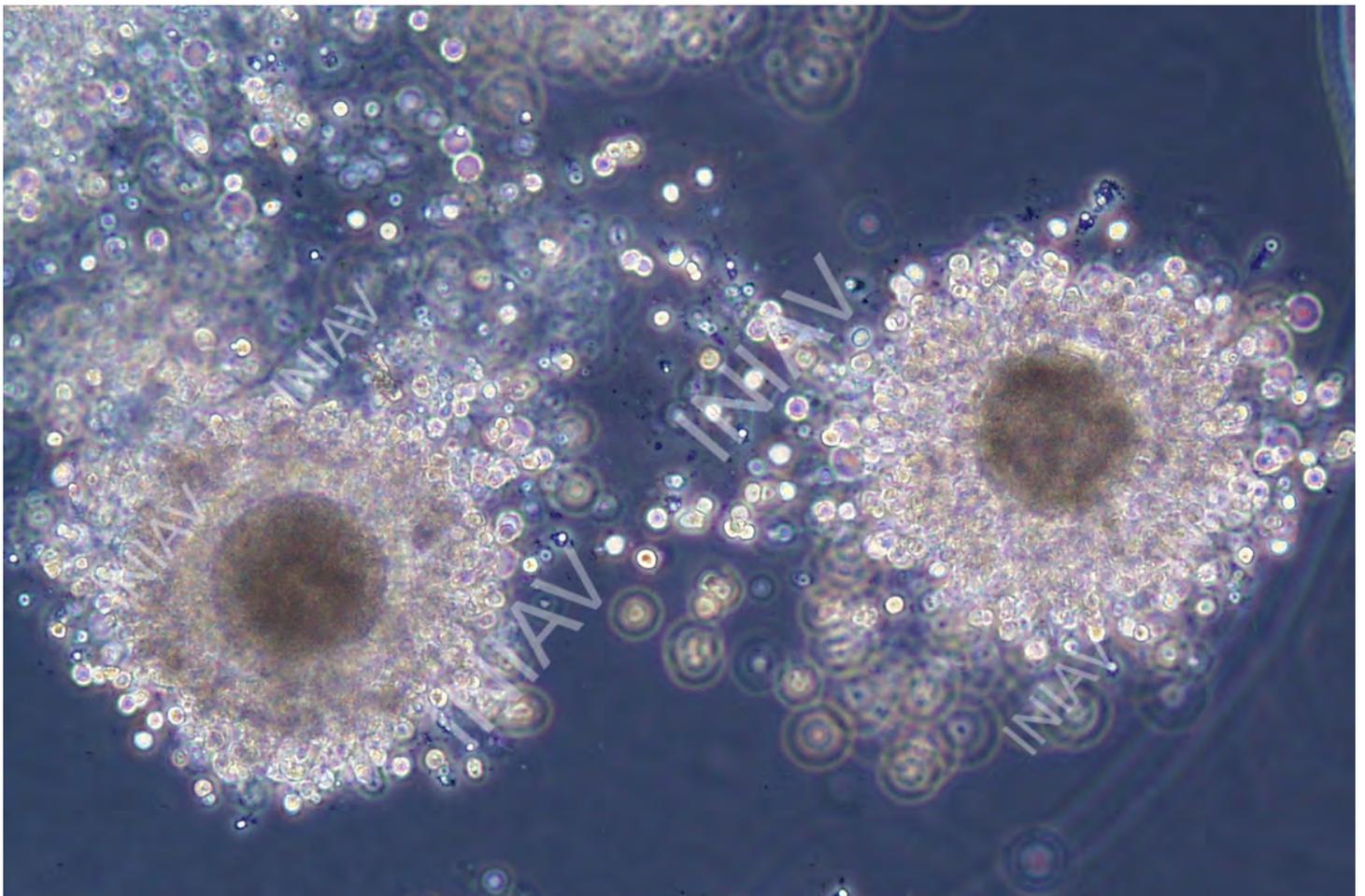


Remontam a **1982** os estudos de sincronização deaios e inseminação artificial realizados pela antiga Estação de Zootécnica Nacional (EZN), com os trabalhos em bovinos e pequenos ruminantes e a publicação de um artigo com estudos de sincronização do ciclo reprodutivo em vacas, por Horta e colaboradores (*Horta e Costa, 1982 – ‘Sincronização do ciclo reprodutivo num rebanho de vacas holandoportuguesas com PGF 2 alfa.’ Rev. Port. Cienc. Veter., 77 (464): 215-230*).

Desde **1992** que projetos de I&D sobre Fertilização e desenvolvimento embrionário *in vitro* realizados no Polo de Inovação da Fonte Boa (ex-EZN) são externa e financeiramente apoiados, nomeadamente com o projeto 'Técnicas de cultura *in vitro* de embriões de ovinos e bovinos', financiado à data pela Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica (JNICT) ou o projeto Europeu EEC-ECLAIR (contract nr. AGRE 0018), pioneiro na transferência de embriões produzidos *in vitro* na EUROPA.

Hoje, no Polo de Inovação da Fonte Boa em Santarém, nos Laboratório de Embriologia e Culturas Celulares e no Laboratório de Andrologia, desenvolvem-se trabalhos sobre os mecanismos e fatores que controlam a (in)fertilidade, com utilização nas áreas biomédicas e veterinárias; procede-se à investigação dos múltiplos fatores envolvidos no sucesso da criopreservação e reprodução assistida em várias espécies, contribuindo também para implementação de protocolos de criopreservação da gâmetas e embriões a utilizar no Banco Português de Germoplasma Animal.

Gâmetas utilizados em processos de reprodução assistida



As técnicas de reprodução assistida podem utilizar gametas masculinos e/ou femininos.

A inseminação artificial com sémen refrigerado ou criopreservado é amplamente utilizada nos animais de produção. Num estudo efetuado em 10 raças nacionais de ovinos, verificou-se que a qualidade do sémen é semelhante entre as raças e que a época

de colheita, na nossa região, não afeta a qualidade dos espermatozoides. O processamento do sêmen é o fator mais importante na variação e decréscimo dos parâmetros seminais ([Barbas et al., 2023](#)).

Os desafios e benefícios da utilização de **tecido ovárico e oócitos** em programas de reprodução assistida varia consoante a espécie. Tanto em humanos como animais, a utilização e criopreservação de **tecido ovárico**, preserva milhares de folículos em simultâneo, permitindo potencial e simultaneamente o restauro da fertilidade e da função endócrina após transplante. A preservação da **viabilidade folicular** após transplante constitui o maior desafio na utilização desta técnica, observando-se uma redução da competência para o desenvolvimento em oócitos obtidos de tecido ovárico criopreservado, causa maior do insucesso desta técnica em diferentes espécies. Estudos na **vascularização de tecido ovárico bovino descongelado e** transplantado utilizando L-Mesitran Soft®, crioprotetor à base de mel com propriedades antioxidantes e cicatrizantes, demonstram o seu potencial de incremento da revascularização dos transplantes, aspeto crítico na manutenção da viabilidade dos gametas femininos, conjuntamente com a sua baixa toxicidade ([Azevedo et al., 2022](#)).

No caso da utilização de **oócitos** na reprodução assistida, os potenciais benefícios e desafios também divergem consoante as espécies, nomeadamente ao nível dos danos da criopreservação, a qual pode causar desorganização do citoesqueleto, anomalias do fuso e dos cromossomas durante a meiose, alteração na distribuição dos grânulos corticais e elevadas taxas de polispermia ou fertilização reduzida e expressão genica alterada ([Marques et al., 2018](#)). A sua criopreservação ainda apresenta desafios, sobretudo no controlo da toxicidade dos crioprotetores e alterações no equilíbrio do cálcio, mensageiro intracelular que controla os mecanismos de maturação e fertilização dos oócitos, assim como o seu potencial para o desenvolvimento ([Fonseca et al., 2020](#)). A concentração de cálcio intracelular, bem como, os momentos de libertação de picos de cálcio, em oócitos criopreservados, impactam posteriores desenvolvimentos devido ao endurecimento precoce da zona pelúcida que impede a entrada dos espermatozoides. Foi efetuado por esta equipa o estudo dos efeitos dos crioprotetores nos aumentos transitórios do cálcio, implicando a exocitose precoce dos grânulos, assim como o bloqueio destes aumentos por drogas como a suramina, melhorando o desenvolvimento de oócitos em blastócitos ([Fonseca et al., 2020](#)). Igualmente foi demonstrada a vitamina D como essencial quer no metabolismo do cálcio quer no desenvolvimento folicular ([Azevedo et al., 2022](#)).

O envelhecimento dos gametas após a ovulação ou devido à idade dos progenitores, prejudica a fertilidade. [Fonseca et al. \(2021\)](#), testaram pela primeira vez o efeito de um metabolito natural, a urolitina A, em oócitos de bovinos, demonstrando o seu efeito antienvhecimento, ao atuar nas mitocôndrias durante a maturação. Assim, o tratamento com urolitina oferece uma nova abordagem terapêutica para prevenir ou atrasar o envelhecimento dos oócitos, melhorando a formação subsequente de blastocistos e os resultados da reprodução assistida.

Influência da água, dos lípidos e outros compostos na criopreservação de gâmetas e embriões



Processamento de tecido ovário: ovário bovino; corte com remoção zona medular; subdivisão em fragmentos menores (Azevedo *et al.*, 2017)

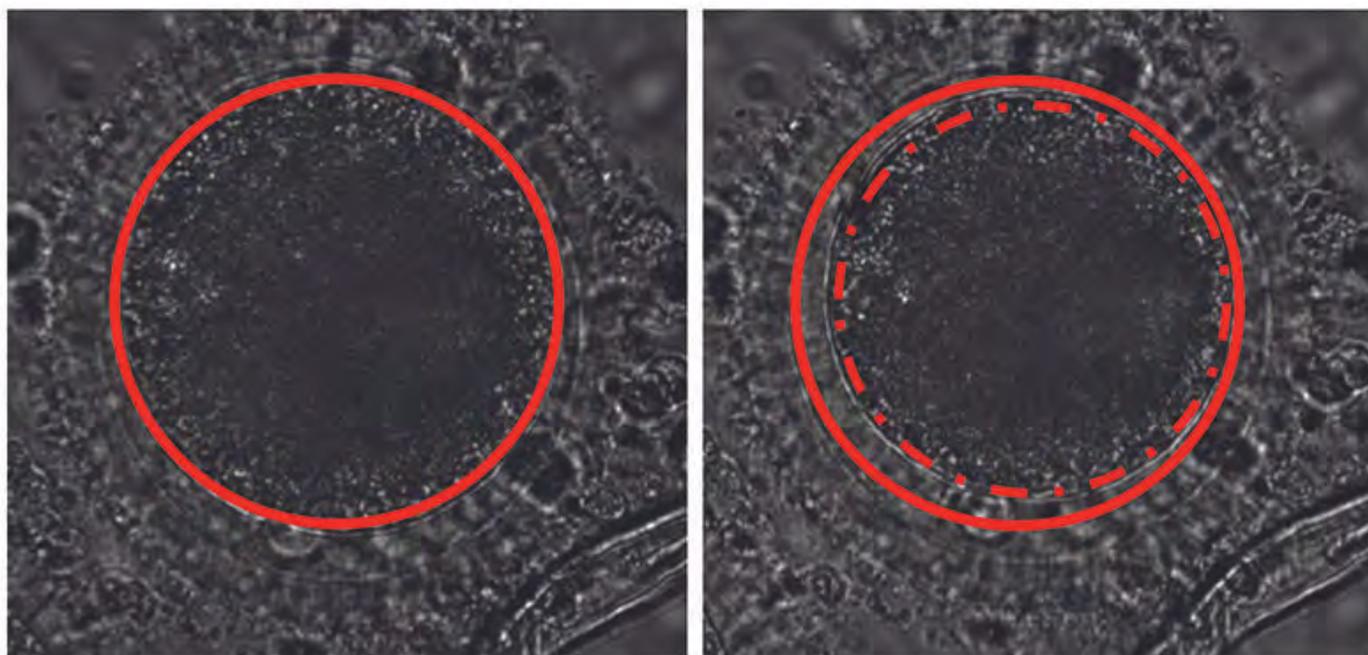
Um dos objetivos de um protocolo de criopreservação é a minimização dos danos morfológicos, funcionais e genéticos decorrentes da **presença de água** na célula e nos espaços intracelulares, a qual possibilita a formação de cristais de gelo, inviabilizando a crioconservação e o posterior desenvolvimento dos gâmetas e embriões.

O fluxo de água e crioprotetores, pré e após a criopreservação, sujeita as células a condições extremas de stress osmótico, com mudanças no volume que podem comprometer a sua viabilidade. Tem sido estudada a redução da velocidade e fluxo induzida por diferentes crioprotetores, de forma a evitar a redução dos oócitos a volumes mínimos mas ainda assim suficientes para retirar a água da células e facilitar a entrada dos crioprotetores ([Matos *et al.*, 2015](#)).

O **conteúdo e teor lipídico** intracelular e das membranas é o maior responsável pelos danos na criopreservação. Estes são armazenados na forma de gotículas no citoplasma e estão ligados a organelos associados ao metabolismo celular, como as mitocôndrias, regulando ainda, dinamicamente, os mecanismos de maturação e a aquisição de competências para o desenvolvimento. Funcionam também como mensageiros intracelulares e foi demonstrada por este grupo a possibilidade de manipulação *in vitro* do conteúdo lipídico do complexo cumulus-oócito durante sua maturação ([Prates *et al.*, 2013](#)) e durante o desenvolvimento embrionário (Pereira *et al.*, 2027 e 2008), melhorando o seu potencial para o desenvolvimento posterior.

Nos suínos, o tipo e a quantidade de conteúdo lipídico no oócito, bem como a assincronia entre as maturações citoplasmática e nuclear, foi considerado como uma das principais razões para a elevada taxa de infertilidade na reprodução assistida nesta espécie ([Prates *et al.*, 2014](#)). Por sua vez, o conteúdo lipídico na membrana e alterações na migração dos grânulos corticais promovem uma elevada taxa de polispermia, com desenvolvimento para zigotos poliploides inviáveis. Nos ovinos, a redução do conteúdo lipídico dos embriões melhorou a sua criosobrevivência e desenvolvimento posterior (Romão *et al.*, 2015).

Estratégias futuras



Outras linhas de trabalho com o objetivo de melhorar a qualidade dos gâmetas e dos embriões e a sua crio-sobrevivência, estão em curso, e contribuirão para a preservação e gestão sustentável dos recursos genéticos animais em Portugal.

CONCURSO FOTOGRÁFICO

Raças Animais Autóctones de Portugal - Conservar a Biodiversidade

REPUBLICA PORTUGUESA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO

IPF

CONCURSO FOTOGRÁFICO

RAÇAS ANIMAIS AUTÓCTONES DE PORTUGAL

Conservar a Biodiversidade

PRÉMIOS
Grande Prémio 750 €
1º Prémio por Modalidade 150 €

EXPOSIÇÃO FOTOGRAFIAS PREMIADAS
Feira Nacional da Agricultura 2024

COMO CONCORRER
Regulamento

PRAZO DE ENTREGA ATÉ 30 DE ABRIL
news.fonteboa@iniav.pt

Informações sobre Raças Autóctones
DGAV
SPREGA

João Maria Ferreira @jmf_work

O Polo de Inovação da Fonte Boa do INIAV, em Santarém, promove o Concurso Fotográfico – ‘Raças Animais Autóctones de Portugal – Conservar a Biodiversidade’.

Estão abrangidas neste Concurso animais das **52 raças de espécies pecuárias** e das **11 raças de canídeos** oficialmente reconhecidas, sensibilizando o grande público para a importância e a necessidade de salvaguarda deste importante Património Genético Nacional.

O Grande Prémio é de 750 €, os nove 1ºs Prémios terão um valor de 150 € e as fotografias premiadas serão expostas na Feira Nacional de Agricultura 2024, a realizar em Santarém. Durante a exposição decorrerão Palestras e Debates sobre o tema, com Programa a anunciar.

O Concurso Fotográfico conta com a participação e apoio do Centro Nacional de Exposições Agrícolas (**CNEMA**), do Instituto Português de Fotografia (**IPF**), da Associação Portuguesa de Engenharia Zootécnica (**APEZ**), da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Santarém (**ESA-IPSantarém**), da Confederação dos Agricultores de Portugal (**CAP**), da Direção Geral de Alimentação e Veterinária (**DGAV**), da Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos (**SPREGA**) e da Junta de Freguesia do Vale de Santarém.

Polo de Investigação da Fonte Boa - Estação Zootécnica Nacional

Fonte Boa, 2005-048 Vale de Santarém

news.fonteboa@iniav.pt Tel: (+351) 243767300