

Viabilidade e Fertilização *in vitro* de Oócitos Bovinos após Vitriificação em Solução 6 M de DMSO

Sérgio Galbinski, Adriana Bos-Mikich, Arnaldo Nicola Ferrari

Fundação Universitária de Endocrinologia e Fertilidade

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

RESUMO

OBJETIVO. Avaliar a técnica de criopreservação por vitriificação em DMSO 6 M para oócitos bovinos maturados *in vitro* e os efeitos do tempo de exposição às soluções de vitriificação em temperatura ambiente.

MÉTODOS. Trata-se de um estudo experimental tipo coorte. Ovários de bovinos foram obtidos em frigorífico e transportados ao laboratório. Os complexos *cumulus*-oócito foram aspirados de folículos de 2 a 8 mm de diâmetro. A partir da solução de vitriificação contendo DMSO 6 M (SV 100%), foram preparadas soluções a 25% e 65%. Oócitos foram maturados *in vitro* por 18-22 horas. Para vitriificação, os oócitos foram colocados em SV 25%, a t.a. por 5 minutos, transferidos à SV 65%, pipetados em SV 100% para palhetas e estocados em nitrogênio líquido. No primeiro grupo experimental, a exposição à SV 65% tomou até 60 segundos, no segundo grupo, não ultrapassou 30 segundos. Para descongelamento, as palhetas foram expostas ao ar por 10 segundos, colocadas banho-maria por 10 segundos e seu conteúdo expelido e mantido em solução de sacarose por 5 minutos. No terceiro grupo, os oócitos passaram por todas SV, foram envasados, mas não vitriificados. Todos os oócitos recuperados foram inseminados. Para controle, oócitos frescos, maturados *in vitro*, foram inseminados.

RESULTADOS. Após vitriificação, 69,1% e 59,8% dos oócitos foram recuperados nos grupos de 30 segundos e 60 segundos, respectivamente e, 24 horas após inseminação,

93% e 89,1% deles pareceram morfológicamente normais, respectivamente. No grupo de oócitos expostos às SV sem vitrificação, 75,6% foram recuperados, sendo 84,6% destes viáveis 24 horas após inseminação. Não ocorreu fertilização nos grupos experimentais. Entre os controles frescos, 65,4% dos oócitos foram fertilizados.

CONCLUSÕES. A técnica de vitrificação utilizando DMSO 6 M não é aplicável para a criopreservação de oócitos bovinos maturados *in vitro*. A redução do tempo de exposição às SV, não superou o efeito deletério sobre a capacidade fertilizadora dos oócitos. Estes resultados sugerem que aprimoramentos da técnica são necessários para proteção da zona pelúcida e do oolema.