

## COMPARAÇÃO MORFOMÉTRICA *IN SITU* ENTRE FOLÍCULOS E OÓCITOS DE FÊMEAS SUÍNAS

**DUVAL, Luzia Hallal<sup>1</sup>; GHELLER, Stela Mari Meneghello<sup>1</sup>; OLIVEIRA, Érica Ferri<sup>1</sup>; LUCIA Jr., Tomaz<sup>1,2</sup>; MOREIRA, Fabiana<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Graduanda de Veterinária; <sup>2</sup>Doutoranda em Veterinária

<sup>1,2</sup>Grupo de Pesquisa Repropel –PigPel – Faculdade de Veterinária – UFPEL

E-mail: [luzia\\_hallal\\_duval@hotmail.com](mailto:luzia_hallal_duval@hotmail.com). Site: <http://www.ufpel.tche.br/fvet/repropel-pigpel>

### 1. INTRODUÇÃO

As estruturas fundamentais e funcionais dos ovários são os folículos ovarianos, que são compostos de um oócito rodeado por células intersticiais ovarianas que suportam seu desenvolvimento (Kagawa, *et al.* 2005). A compreensão do desenvolvimento folicular e sua influência sobre o potencial de desenvolvimento dos oócitos é fundamental para melhoria dos métodos que permitem manipular a reprodução em animais domésticos (Evans, 2003).

De acordo com Lucas, *et al.* (2000), os ovários sofrem modificações em sua morfologia, incluindo o aumento do diâmetro, logo no início da puberdade. Dessa forma oócitos de fêmeas pré-púberes e púberes diferem entre si em diversos aspectos e sua qualidade pode ser avaliada pela determinação do tamanho do oócito (Pawlak *et al.*, 2011). Macroscopicamente foi determinado que ovários e folículos de leitoas pré-púberes apresentam diferença em seu diâmetro e suas dimensões em relação as mesmas estruturas de porcas (Bagg *et al.* 2004).

O tamanho do folículo, morfologia e diâmetro do oócito estão correlacionados com a competência de maturação e capacidade de fecundação do mesmo (Otoi *et al.*, 1997; Jinyoung, *et al.*, 2010), pois a proporção de oócitos competentes é diretamente proporcional ao crescimento folicular (Mermillod, *et al.* 2008). Além disso, o aumento da competência ocorre após as fêmeas alcançarem a puberdade, sendo sugerida exposição a múltiplos estros para que o oócito atinja plena competência em seu desenvolvimento (Bagg, *et al.* 2004).

O objetivo deste estudo foi comparar o diâmetro dos folículos e oócitos de leitoas pré-púberes e porcas descartadas.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os ovários utilizados neste estudo foram coletados de 10 leitoas pré-púberes (sem corpo lúteo) e de 10 porcas púberes (presença de corpos lúteos e folículos), em um frigorífico localizado no município de Pelotas-RS. Imediatamente após a coleta, os ovários foram acondicionados em formol tamponado a 10% e submetidos a histoprocessamento de rotina. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina eosina no laboratório de Patologia Animal da Faculdade de Veterinária.

As estruturas ovarianas analisadas por morfometria foram previamente classificadas em folículos primordiais/primários (oócito rodeado por uma camada de células pavimentosas à cúbicas); folículos secundários (oócito rodeado por várias camadas de células da granulosa, sem formação de antro) e; folículo terciário ou antral (oócito rodeado por várias camadas de células da granulosa com a presença de cavidade antral). Foram mensurados, 50 folículos primordiais/primários, 50 secundários, 50 terciários, 50 oócitos inclusos em folículos primordiais/primários, 20

oócitos inclusos em folículos secundários e 20 oócitos inclusos em folículos terciários de cada categoria de fêmeas estudadas. Todas mensurações foram realizadas no diâmetro menor da estrutura e as medidas expressas em  $\mu\text{m}$ .

As imagens dos cortes histológicos foram digitalizadas com câmera acoplada em microscópio óptico convencional (Olympus BX 51) utilizando-se as objetivas específicas para cada estrutura: folículos terciários, objetiva de 4 X; folículos secundários, objetiva de 10 X e; folículos primários e oócitos, objetiva de 40 X.

A análise morfométrica digital foi realizada com auxílio do programa Image J<sup>®</sup> (Image Processing and Analysis in Java). Os dados paramétricos foram submetidos a ANOVA com comparação de médias pelo teste de Tukey e os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. As análises foram realizadas no software *Statistix*<sup>®</sup> 9.0.

### 3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados demonstraram que o diâmetro dos folículos primordiais/primários (29,74  $\mu\text{m}$ ) e terciários (141,22  $\mu\text{m}$ ) das porcas púberes foi significativamente superior ( $p < 0,05$ ) ao das leitoas pré-púberes, porém não houve diferença estatística no diâmetro dos folículos secundários nas duas categorias de fêmeas estudadas (Tab.1). Os resultados de morfometria do presente experimento são semelhantes aos encontrados por Silva (2010) em folículos primários (33,8  $\mu\text{m}$ ) e secundários (40,4  $\mu\text{m}$ ) de leitoas pré-púberes. O mesmo autor descreve que os folículos terciários desta categoria animal possuem, em média, 84,5  $\mu\text{m}$ , sendo esse valor inferior ao observado no presente trabalho.

Tabela 1 – Morfometria de folículos ovarianos de leitoas pré-púberes e porcas púberes.

Categorias	Folículos		
	*Primordiais/Primários ( $\mu\text{m}$ )	*Secundários ( $\mu\text{m}$ )	*Terciários ( $\mu\text{m}$ )
Leitoas	29,74 $\pm$ 5,3 <sup>A</sup> (20 – 43)	48,28 $\pm$ 21,4 <sup>A</sup> (22 – 114)	141,22 $\pm$ 59,3 <sup>C</sup> (35 – 250)
Porcas	36,44 $\pm$ 7,4 <sup>B</sup> (20 – 62)	54,06 $\pm$ 21,5 <sup>A</sup> (20 – 127)	176,82 $\pm$ 68,5 <sup>D</sup> (58 – 307)

<sup>A,B,C e D</sup> Expoentes distintos indicam significância estatística na coluna ( $P < 0,05$ ).

\*Análise não paramétrica Kruskal-Wallis

A Tabela 2 mostra que os oócitos inclusos nos folículos secundários e terciários das porcas são significativamente maiores que as mesmas estruturas das leitoas ( $p < 0,05$ ). Entretanto não foi encontrada diferença significativa no diâmetro dos oócitos inclusos em folículos primordiais/primários entre as categorias estudadas. De acordo com Bagg, et al., (2004), os oócitos de ovários cíclicos apresentam maior diâmetro que os oócitos de ovários não cíclicos. Geralmente este aumento do tamanho do oócito ocorre devido ao aumento do número de inclusões celulares como lipídeos, vacúolos e vestígios do saco vitelino (Bielańska-Osuchowska, 2006).

A ausência de diferença entre o tamanho dos oócitos inclusos em folículos primários, provavelmente deva-se ao fato da maior parte dos oócitos estarem em estágio de prófase I e permanecerem estagnados na fase de meiose I sendo considerados imaturos. Somente a partir do período de puberdade tornam-se responsivos às ações do hormônio luteinizante (LH), momento em que ocorre um crescimento intenso, reativando a meiose I, que matura o oócito primário em secundário (Figueiredo, et al., 2008).

Tabela 2 – Morfometria de oócitos inclusos em diferentes categorias foliculares de leitoas pré-púberes e porcas púberes.

Categorias	Oócitos		
	*Primordiais/Primários ( $\mu\text{m}$ )	*Secundários ( $\mu\text{m}$ )	**Terciários ( $\mu\text{m}$ )
Leitoas	23,02 $\pm$ 3,8 <sup>A</sup> (15 – 32)	48,15 $\pm$ 16,4 <sup>A</sup> (29 – 93)	60,10 $\pm$ 26,7 <sup>C</sup> (21 – 99)
Porcas	23,32 $\pm$ 6,9 <sup>A</sup> (11 – 41)	64,65 $\pm$ 16,3 <sup>B</sup> (36 – 102)	82,00 $\pm$ 24,5 <sup>D</sup> (50 – 134)

<sup>A,B,C e D</sup> Expoentes distintos indicam significância estatística (  $P < 0,05$  ).

\* Análise não paramétrica Kruskal-Wallis

\*\* Análise paramétrica ANOVA

A diferença observada acima entre os diâmetros dos oócitos inclusos em folículos secundários e terciários, pode ser atribuídas ao fato da maioria dos oócitos de leitoas pré-púberes serem imaturos (Bagg et al., 2004), portanto apresentam estruturas menores que as observadas em porcas púberes. Jinyoung, et al., (2010) confirmou que a competência e maturação do oócito está na dependência do desenvolvimento *in vitro* do tamanho do folículo e subsequente diâmetro do oócito.

#### 4. CONCLUSÃO

Os folículos ovarianos primários e terciários de porcas púberes apresentaram um maior diâmetro que os folículos de leitoas pré-púberes. Os oócitos inclusos em folículos secundários e terciários de porcas são significativamente maiores que os oócitos de leitoas que ainda não ovularam.

#### 5. REFERÊNCIAS

BAGG, M.A.; VASSENAA, R.; PAPASSO-BRAMBILLAA, E.; GRUPENB, C.G.; ARMSTRONGB, D.T.; GANDOLFI, F. Changes in ovarian, follicular, and oocyte morphology immediately after the onset of puberty are not accompanied by an increase in oocyte developmental competence in the pig. **Theriogenology**, v.62 1003–1011. 2004.

BIELAŃSKA-OSUCHOWSKA, Z. Oogenesis in pig ovaries uring the prenatal period: ultrastructure and morphometry. **Reproductive Biology**, v.6, n.2, 161-193. 2006.

EVANS, A.C.O. Characteristics of Ovarian Follicle Development in Domestic animals. **Reproduction Dom Animal**, v. 38, 240–246. 2003.

FIGUEIREDO, J.R.; RODRIGUES, A.P.R.; AMORIM, C.A.; SILVA, J.R.V. Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F.; **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Editora Roca, 2ªed. Pg. 306. 2008.

JINYOUNG, K; JINYOUNG, Y.; SANG-HWAN, H.; GENE, L.; JEONGMOOK, L.; EUNSONG, L. Developmental competence of morphologically poor oocytes in relation to follicular size and oocyte diameter in the Pig. **Molecular Reproduction e Development**, v. 77, 330-339, 2010.

KAGAWA, N.; KUWAYAMA, M.; MIYANO, T.; MANABE, N. Growth and maturation of follicles and oocytes following xenotransplantation of porcine ovarian tissues and *in vitro* maturation. **Journal of Reproduction and Development**, v.51, n.6, 741- 748. 2005.

LUCAS, X.; MATÍNEZ, E.A.; ROCA, J.; VÁZQUEZ, J.M.; GIL, M.A.; PASTOR, L.M.; ALABART, J.L. Relationship between antral follicle size, oocyte diameters and nuclear maturation of immature oocytes in pigs. **Theriogenology**, v.58, 871-885. 2002.

MERMILLOD, P.; BIES -TRAN, R.; UZBEKOVA, S.; THELIE, A.; TRAVERSO, J.M.; PERREAU, C.; PAPILLIER, P.; MONGET, P. Factors affecting oocyte quality: who is driving the follicle? **Reproduction Domestic Animal**. v.43, 393-400. 2008.

OTOI, T.; YAMAMOTO, K.; KOYAMA, N.; TACHIKAWA, S.; SUZUKI, T. Bovine oocyte diameter in relation to developmental competence. **Theriogenology**. v. 48, 769-774. 1997.

PAWLAK, P.; RENSKA, N.; PERS-KAMCZYC, E., WARZYCH, E.; LECHNIAK, D. The quality of porcine oocytes is affected by sexual maturity of the donor gilt. **Reproductive Biology**. v.11, n.1, 1-18. 2011.

SILVA, R.C. (2010) Caracterização Morfométrica e Ultraestrutural e descrição do perfil lipídico de folículos ovarianos de suínos. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em Biologia Animal, UNB, Brasília-DF. 74p.