

## RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 17/02/2017.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPIRAÇÃO FOLICULAR POR VIDEOLAPAROSCOPIA E  
MATURAÇÃO OOCITÁRIA *IN VITRO* EM PACAS (*Cuniculus  
paca* – LINNAEUS, 1766) MANTIDAS EM CATIVEIRO E  
SUBMETIDAS A PROTOCOLOS DE SUPERESTIMULAÇÃO  
OVARIANA**

**Felipe Farias Pereira da Câmara Barros**

Médico Veterinário

2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ASPIRAÇÃO FOLICULAR POR VIDEOLAPAROSCOPIA E  
MATURAÇÃO OOCITÁRIA *IN VITRO* EM PACAS (*Cuniculus paca* –  
LINNAEUS, 1766) MANTIDAS EM CATIVEIRO E SUBMETIDAS A  
PROTOCOLOS DE SUPERESTIMULAÇÃO OVARIANA**

**Felipe Farias Pereira da Câmara Barros**

**Orientador: Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente**

**Coorientadora: Profa. Dra. Marcia Rita Fernandes Machado**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal.

B277a Barros, Felipe Farias Pereira da Câmara  
Aspiração folicular por videolaparoscopia e maturação oocitária *in vitro* em pacas (*Cuniculus paca* – Linnaeus, 1766) mantidas em cativeiro e submetidas a protocolos de superestimulação ovariana / Felipe Farias Pereira da Câmara Barros. – – Jaboticabal, 2016  
ix, 51 p. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientador: Wilter Ricardo Russiano Vicente

Co-orientadora: Márcia Rita Fernandes Machado

Banca examinadora: Fabiana Azevedo Voorwald, Leandro Zuccolotto Crivellenti, Eliandra Antonia Pires Buttler, Maricy Apparício Ferreira

Bibliografia

1. Aspiração ovariana. 2. Gonadotrofinas. 3. Laparoscopia. 4. Oócito. 5. Roedor I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:612.622:599.32

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ASPIRAÇÃO FOLICULAR POR VIDEOLAPAROSCOPIA E MATURAÇÃO OOCITÁRIA *IN VITRO* EM PACAS (*Cuniculus paca* - LINNAEUS, 1766) MANTIDAS EM CATIVEIRO E SUBMETIDAS A PROTOCOLOS DE SUPERESTIMULAÇÃO OVARIANA.

**AUTOR: FELIPE FARIAS PEREIRA DA CÂMARA BARROS**

**ORIENTADOR: WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE**

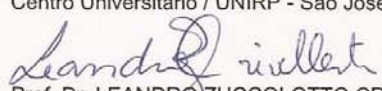
**COORDENADORA: MARCIA RITA FERNANDES MACHADO**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA VETERINÁRIA, área: REPRODUÇÃO ANIMAL, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. WILTER RICARDO RUSSIANO VICENTE  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. FABIANA AZEVEDO VOORWALD  
Centro Universitário / UNIRP - São José do Rio Preto/SP



Prof. Dr. LEANDRO ZUCCOLOTTO CRIVELLENTI  
Departamento de Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais / Universidade de Franca - Franca/SP



Profa. Dra. ELIANDRA ANTONIA PIRES BUTTLER  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. MARICY APPARÍCIO FERREIRA  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 17 de fevereiro de 2016

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**FELIPE FARIAS PEREIRA DA CÂMARA BARROS** – nascido em Natal, Rio Grande do Norte, aos 14 de abril de 1983, filho de Fernando da Câmara Barros e Rita de Cássia Farias Pereira Barros. É Médico Veterinário formado pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró, Rio Grande do Norte, com ingresso em fevereiro de 2005 e término em janeiro de 2010. Em março de 2010 ingressou no Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV – UNESP – Campus de Jaboticabal – SP, finalizando-o em fevereiro de 2012. Em março do mesmo ano, ingressou no doutorado pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Reprodução Animal, da mesma instituição, onde ainda atua no Setor de Obstetrícia e Reprodução Animal, sob a orientação do Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Wilter Ricardo Russiano Vicente. De abril de 2014 a março de 2015, foi bolsista do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior – PDSE, realizado na Louisiana State University – LSU – Baton Rouge – LA – Estados Unidos da América, sob a supervisão do Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Carlos Roberto Fontes Pinto.

“Um homem precisa viajar. Por sua conta, não por meio de histórias, imagens, livros ou TV. Precisa viajar por si, com seus olhos e pés, para entender o que é seu. Para um dia plantar as suas próprias árvores e dar-lhes valor. Conhecer o frio para desfrutar o calor. E o oposto. Sentir a distância e o desabrigo para estar bem sob o próprio teto. Um homem precisa viajar para lugares que não conhece para quebrar essa arrogância que nos faz ver o mundo como o imaginamos, e não simplesmente como é ou pode ser. Que nos faz professores e doutores do que não vimos, quando deveríamos ser alunos, e simplesmente ir ver.”

Amyr Klink

## **Dedico**

Às pesquisas e aos profissionais que tem se preocupado com a preservação das mais variadas espécies animais, na contramão do extermínio global que muitos desses vêm sofrendo, provocado pelo crescimento desenfreado da população humana.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, citarei alguns membros mais adiante, mas tudo que tenho feito foi por causa deles e é para eles. Amo-os incondicionalmente. A vida tem sido muito boa para mim, pois tenho a melhor família do mundo.

Agradeço ao meu pai, que hoje não está mais conosco, mas que viveu em função da sua família. Homem que trabalhou sempre pensando na educação dos seus filhos. Aquela pessoa que soube repreender ou incentivar quando necessário, sempre pensando no futuro dos filhos.

À minha mãe, por ser a melhor do mundo, a minha grande amiga, incentivadora, companheira de todas as horas. Aquela para quem eu ligo nos momentos alegres e tristes, nos momentos de dúvidas, de decisões importantes. Hoje, eu vejo que ela superou a função mãe com a função avó. É aquela avó que qualquer neto gostaria de ter. Então, para essa mulher, vai o meu agradecimento, não somente neste momento, mas por toda a minha vida.

À minha irmã, Andreza, pela parceria, amizade e incentivo. Ao meu cunhado Evilásio, pelas ajudas que muitas vezes precisei principalmente com as caronas de madrugada ao aeroporto rsrs. Mas o que mais agradeço é a união desses dois, pela família que formaram me dando sobrinhos lindos, saudáveis e cheios de vida. Agradeço também pelos cuidados que tem com a nossa mãe, já que por viver distante, acabo não podendo oferecer. Quero acrescentar aqui os meus sobrinhos, inicialmente Heloisa e Heitor, mas ultimamente a sobrinhada que de uma forma incrível vem aumentando. Então gostaria de agradecer aos que já citei e às minhas primas pelos filhos lindos que tiveram e por permitir eu tratá-los como tio, o tio Felipe dessa molecada que tanto amo. Sou muito feliz quando estão todos juntos, apesar da muvuca e estresse que fica a casa. Rsrtrs

Agradeço também, de forma igual, às minhas tias Lucinha, Gisélia e Carmem Lucia. Vocês são muito importantes na minha vida. Muito obrigado por praticamente nos

adotarem, falo por mim, minha irmã e meus primos. Desejo ser pelo menos metade para as crianças do que vocês foram para nós. Muito obrigado por tudo, nem sei se sou tão merecedor de tudo que fizeram e ainda fazem por mim.

Aos meus avós, agradeço pela família que formaram, pelos pais e tios que tenho ou tive. Agradeço pelos cuidados, carinho, mimos. Hoje só uma de vocês está entre nós, e um de vocês se foi antes que eu o conhecesse, mas sou muito grato pelas pessoas que foram, pelos elogios que escuto sobre a vossa personalidade, agradeço demais pelo tempo que tive de convivência com vocês. Foi muito bom mesmo. Posso dizer que tive os melhores avós do mundo. E hoje ainda tenho uma das melhores.

Aos meus outros tios, que não são menos importantes do que as três acima citadas, agradeço também por todo incentivo, direto ou indireto, que me deram. Preciso agradecer também àquela pessoa com quem não convivo mais diariamente, mas que ainda está ao nosso lado, cuidando da minha mãe e da casa dela. Pessoa de grande coração e que tanto me agrada, Chica. Se prepare para ser roubada da minha mãe em breve rsrs.

Ao meu querido orientado, o Profº Wilter Ricardo Russiano Vicente. Faltam-me muitas vezes palavras para te agradecer por tudo que fazes não só por mim, mas a todos os seus orientados e agregados do setor. O senhor ultrapassa a função de orientador, chegando a ser praticamente um pai, às vezes até mimando um pouco todos nós. Meu querido, muito obrigado por todo o incentivo, amizade, parceria, ajuda, conselhos, ensinamentos, enfim, muito obrigado por tudo durante esses seis anos de convivência. A minha pós-graduação, apesar de ter havido alguns momentos de dificuldades, foi muito prazerosa de ser realizada. E posso te garantir que você tornou isso muito mais fácil.

Quero agradecer logo aqui a um grande amigo, aquele que nunca me negou qualquer ajuda, uma das pessoas que mais me incentivam a continuar nessa caminhada. Pedro Paulo Maia Teixeira, eu poderia dizer que você não sabe, mas eu

sei que você sabe o quão importante fostes e estás sendo para mim ultimamente (pelo menos há uns 6 anos rsrs). Você, meu amigo, além de irmão de república, é um colega de profissão, um parceiro de pesquisa e um grande amigo da vida. Você é aquele amigo que não oferece só uma mão quando estamos precisando, você oferece a sua vida. Meu caro, que sorte a minha ter te conhecido naquele caso da vaca com distocia hein?! Rsrtrs. Muito obrigado por tudo que tens feito por mim. Espero, de coração, que essa nossa parceria dure a vida inteira. Que possamos sempre trocar os conhecimentos, e incentivar mais e mais pessoas a embarcarem nessa correria conosco. Você já é um cara de sucesso, porém ainda virão muito mais conquistas na sua vida, tenho certeza disso.

Agradeço novamente aos meus primeiros orientadores, Profº Carlos Eduardo Bezerra de Moura e Profº Alexandre Rodrigues Silva. Aqueles que me ensinaram como fazer pesquisa e como correr atrás dos nossos objetivos. Devido a esses ensinamentos estou hoje aqui, concluindo o doutorado. Muito obrigado mestres, vocês sempre farão parte da minha história.

À minha co-orientadora, Profª Marcia Rita Fernandes Machado, agradeço por ter permitido o desenvolvimento desse projeto. Por sempre me receber tão solícitamente e com uma alegria impar. Muito obrigado.

Ao meu querido orientador na Louisiana State University, Profº Carlos Roberto Fontes Pinto, eu agradeço pela recepção, por todos os ensinamentos que passou, pelas oportunidades que me deu, por ter me tratado como um “filho mais velho” (como sempre dizia), mas na verdade se tornou um grande amigo. Muito obrigado pelas conversas, camaradagem e cuidado. Muito obrigado pelas inúmeras vezes que saímos após um dia cansativo de trabalho para comer aquela ostra crua, crawfish, dollar burger, sempre associado com aquela cerveja gelada ou às doses de vodka. Só tenho elogios e agradecimentos com relação a essa pessoa. Muito obrigado mesmo. Quero aproveitar essa oportunidade e agradecer ao Profº Carlos Augusto Araújo Valadão, pois foi ele quem fez o primeiro contato com o Profº Carlos Pinto, solicitando a orientação do doutorado sanduiche. Mas agradeço também por

ser, apesar de tão ocupado, uma pessoa extremamente solícita e camarada. Considero-o também um grande amigo. Pessoa de muito bom papo e grande companheiro de farras.

À minha equipe oficial, Ricardo Uscategui, Ricardo Nociti, Renata Mariano, Luciana Padilha, Victor Santos, Leandro Coutinho, Pedro Paulo Teixeira, Marina Brito, Marina Lima, Aline Kawanami, Vívian Almeida e aos demais que indiretamente colaboraram nesse projeto, muito obrigado, sem vocês esse trabalho não teria graça e muito menos teria saído do papel. Vocês foram muito importantes para a realização deste, mas saibam que são também muito importantes na minha vida. Tornaram-se, além de colega de departamento, grandes amigos.

Aos amigos-irmãos da República Antro do HV, agradeço pelo apoio, amizade, irmandade, pelos momentos de descontração e risadas. Vocês não imaginam o quanto são importantes na minha vida. Sei que partirei em breve, mas levarei comigo um pouco de cada um de vocês. São muitos os com quem eu convivi, mas quero citá-los. Muito obrigado, mais uma vez aos que passaram por aqui nesses últimos anos, mas que hoje já tomaram o caminho do sucesso: Pedro Paulo (PP), Marco Augusto (Marquinho Avatar), Marcus Antonio (Psico), Evandro (Cardio Black), Luis Guilherme (LG), Marcio (Coelho), Leonardo (Viçosa), André (Andrezão), Diogo (Didi), Marcos Vinícius (Infia), Felipe Mira (Mariano), Igor (Sufrido), e Alexandre (Lumbriga). E muito obrigado aos com quem hoje convivo e que tornam esse fim de período muito mais legal, Murillo, Fernando (Barruan), Otávio (Tatá), Diego (Tofu), Cleber (Dido), Carlos Belo (Naza), Gilmar (Bartira), Alejandro (Alejo), Tiago (Aladim) e Augusto (Buda). Falando dessa república não posso deixar de agradecer aos animais (sobrinhos) que por aqui passaram: Chiquinho, Carla, Vicky, Scar, Tomás e Hoffman. Aos estagiários que também se hospedaram na “rep”, tornando o ambiente mais agradável ou com motivos para rir. E por fim agradeço a Jussara, nossa “governanta”, pela convivência excelente, pelos almoços e pela organização do nosso lar.

Aos amigos da Fraternidade K-zona Rural, meu eterno agradecimento. Foram os primeiros que me acolheram em “Jabuka”, e pelos quais eu faço questão de manter a amizade. Nessa república foi onde a minha história nessa cidade começou. Muito obrigado pela amizade, pelos momentos de descontração e pela união que temos. Espero ter dinheiro e saúde para poder sempre voltar e participar dos churrascos de ex-moradores dessa fraternidade.

Agradeço aos meus queridos roommates, Satya Prakash e Tiago Lelis. Pessoas com quem convivi diariamente nos EUA, e que dividiram comigo a angústia de morar longe do país de origem, porém dividiram também o prazer que isso trás. Muito obrigado irmãozinhos. Saudade de vocês.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, mais precisamente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), *Campus* de Jaboticabal, primeiramente pela aceitação nas duas seleções de pós-graduação das quais participei, segundo por ter sido um dos lugares onde eu mais fui feliz na vida. Foi muito bom fazer parte do corpo discente dessa instituição. O crescimento profissional foi gigante e extremamente prazeroso.

Aos amigos que na UNESP conheci: “Galera”, “Popós”, “Antronianos”, “KZR’s”, “Amiguinhos...”, “Obstetras”, “Cirurgiões”, enfim, são tantos. Não destacarei o nome de nenhum de vocês para não cometer o erro de esquecer alguém. Eu não tenho palavras para agradecê-los. Como foi bom compartilhar de cada momento com vocês. Sempre com muita alegria e diversão, em festas, em experimentos ou em procedimentos clínico-cirúrgicos, tudo foi muito divertido com vocês. Muito obrigado por existirem na minha vida. Amo demais vocês e quero que essa essência de amizade nunca acabe.

Aos meus amigos da minha terra Natal-RN e da minha UFERSA, gostaria de agradecer pela cumplicidade e tantos anos de amizade. Mesmo com a distância os reencontros são excelentes e com a mesma bagunça de sempre. Muito bom saber

que todos vocês estão bem de vida e cada um seguindo o seu caminho da forma que escolheram. Amo demais vocês também.

Aos amigos de Baton Rouge, pessoas com quem eu convivi durante um ano, muito obrigado por tudo. Não citarei nomes também para não cometer o erro de esquecer alguém, mas quem estava lá sabe o quão importante foi para mim. Estou esperando aquele dia para reunir todos novamente. E quem sabe, em alguma viagem bem legal.

Aos colegas e amigos encontrados na “Vetschool” da LSU, muito obrigado pela oportunidade de estar com vocês, pelo profissionalismo, tratamento, ensinamentos e parceria. Agradeço principalmente a (almost doctor) Kelsey DiMiceli, Dr. Chelsey Leisinger, Jair Ferreira, Anderson da Cunha, Dr. Dale Paccamonti, Dr. Jacques Fuseiler, Dr. Sara Lyle, Dr. Reto Fritsche e Patrícia Queiroz. Agradeço também ao pessoal da Reproductive Biology Center em St. Gabriel, LA, USA, por ceder o espaço para os nossos projetos, pela disponibilidade em ajudar e principalmente à Sonija Thomas pela simpatia, paciência e ajuda oferecida.

À Louisiana State University agradeço por ter me aceito como membro temporário dessa instituição tão rica em cultura, educação e lazer. Incluo nos agradecimentos alguns alunos e funcionários da Vetschool. Não posso deixar de incluir, as igrejas: Católica, Batista e Anglicana, onde fomos tão bem recebidos, com almoços e jantares deliciosos.

Ao Setor de Obstetrícia Veterinária e Reprodução Animal da FCAV, onde nele incluo os professores, funcionários, pós-graduandos, residentes e estagiários pela disposição em ajudar, amizade e parceria, pelos momentos de descontração e confraternização. Gostaria de destacar que muitos deles foram importantes, direta ou indiretamente, na concretização desse trabalho. Não citarei nomes também para não ser injusto. Sentirei muito a falta de vocês na minha vida. Que bom que formamos uma equipe de trabalho tão legal. Cada um que passou por aqui e que já

estão nos seus caminhos e os que ainda continuam são muito importantes para mim. Muito obrigado mesmo pela convivência tão agradável.

Agradeço aos membros e suplentes das bancas de defesa e qualificação, pela disposição de ajudar no nosso trabalho, e pela compreensão de qualquer atraso que possa ter havido. Tenham certeza, se vocês estão aqui é por que são importantes para mim. Ainda bem que posso contar com pessoas tão importantes e inteligentes na minha vida.

Ao Hospital Veterinário "Governador Laudo Natel" (HV) da FCAV, pela disponibilidade das suas instalações, onde foi possível a realização desse trabalho. Agradeço aos professores que nele trabalham, aos funcionários, residentes, pós-graduandos e estagiários, por sempre estarem dispostos a ajudar, discutir algum caso, e acreditarem no nosso trabalho. Agradeço também por sempre confiarem a mim a realização de diversos procedimentos clínico-cirúrgicos.

Ao Setor de Animais Selvagens dessa instituição agradeço também, principalmente aos funcionários Toninho e Beterraba, pela disposição em ajudar sempre que precisei.

Aos animais, todo o meu agradecimento, sem eles nada disso seria possível. Agradeço tanto aos que utilizamos nesse trabalho quanto aos de outros projetos. Também agradeço aos que convivemos ou atendemos no dia a dia.

Agradeço às três principais instituições de fomento do país, primeiramente à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida, que tanto me ajudou durante o decorrer do doutorado. Junto com ela veio a reserva técnica, trazendo também a oportunidade de apresentar o nosso trabalho em alguns dos principais eventos científicos do mundo. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão do Auxílio Universal. Por meio deste, conseguimos material suficiente para o desenvolvimento do nosso projeto. Por fim, gostaria de agradecer duplamente à

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), primeiramente pelas bolsas concedidas nos dois primeiros meses de doutorado. Em seguida, por ter sido selecionado a participar do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE), em que foi possível a realização do meu intercambio na LSU. Agradeço ainda por todas essas agencias terem sido profissionais e extremamente solícitas todas as vezes em que precisei.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE ABREVIACÕES.....	vii
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	ix
1. HIPÓTESES.....	1
2. OBJETIVOS.....	1
2.1. Objetivo Geral.....	1
2.2. Objetivos Específicos.....	1
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	2
Características da espécie.....	2
Criação e Reprodução assistida.....	3
Aspiração folicular e produção <i>in vitro</i> .....	5
Estimulação hormonal para aspiração folicular.....	6
Oócitos: morfologia, qualidade da coleta e maturação.....	7
Referências.....	8
CAPÍTULO 2 – ASPIRAÇÃO FOLICULAR POR LAPAROSCOPIA EM PACA ( <i>Cuniculus pacas</i> ).....	16
Resumo.....	16
Abstract.....	17
Introdução.....	17
Material e métodos.....	18
Resultados.....	22
Discussão.....	25
Conclusão.....	27

Agradecimentos.....	27
Referências.....	27
<b>CAPÍTULO 3 – Protocolos de estimulação ovariana em <i>Cuniculus paca</i>: avaliação da recuperação oocitária e maturação <i>in vitro</i>.....</b>	<b>32</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>32</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>33</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>33</b>
<b>Material e métodos.....</b>	<b>35</b>
Animais e tratamentos.....	35
Maturação <i>in vitro</i> .....	36
Avaliação e classificação dos estágios de maturação nuclear.....	36
Análise estatística.....	37
<b>Resultados.....</b>	<b>38</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>39</b>
<b>Conclusão.....</b>	<b>43</b>
<b>Agradecimentos.....</b>	<b>43</b>
<b>Referências.....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>51</b>

**ASPIRAÇÃO FOLICULAR POR VIDEOLAPAROSCOPIA E MATURAÇÃO  
OOCITÁRIA IN VITRO EM PACAS (*Cuniculus paca* – LINNAEUS, 1766)  
MANTIDAS EM CATIVEIRO.**

**RESUMO** – Nos últimos anos, com a escassez de alimentos, o ser humano vem buscando alternativas de possíveis fontes de proteínas para a sua nutrição. A criação de pacas em cativeiro pode ser uma opção viável desde que explorada adequadamente. Fatos como esse favorecem o desenvolvimento de pesquisas científicas relacionadas à biotecnologia da reprodução, onde essas deixam de ser realizadas unicamente devido a uma preocupação com a conservação da espécie, mas também como uma forma de melhorar a sua produção zootécnica. Com a escassez de dados na literatura surgem dúvidas se seria possível obter oócitos viáveis de pacas para maturação *in vitro* (MIV). Dessa forma, objetivou-se com esse estudo estabelecer técnica viável de aspiração folicular em pacas, testando efeitos de protocolos hormonais sobre taxa de recuperação de oócitos e MIV, além de avaliar os procedimentos cirúrgicos e os aspectos reprodutivos. Para isso oito fêmeas adultas foram submetidas a quatro tratamentos cada, para a coleta de oócitos por meio de aspirações foliculares auxiliada por videolaparoscopia, onde em três desses tratamentos, houve estímulos hormonais utilizando eCG e FSH. Oócitos recuperados em cada tratamento foram classificados qualitativamente e em seguida submetidos à MIV. Posteriormente, os mesmos foram avaliados quanto ao estado de maturação nuclear. Após todas as análises, conclui-se que as administrações de gonadotrofinas não foram eficientes para superestimular os grupos tratados ou aumentar a eficiência de recuperação de oócitos, tornando-se necessários mais estudos para isso, principalmente, de novos protocolos, como doses mais elevadas ou a frequência de administração, além da precisão do ciclo reprodutivo nos momentos dos tratamentos.

**Palavras-chave:** aspiração ovariana, gonadotrofinas, laparoscopia, oócito, roedor.

## LAPAROSCOPIC OVUM PICK-UP AND IN VITRO MATURATION IN SPOTTED PACAS (*Cuniculus Paca* - Linnaeus, 1766) KEPT IN CAPTIVITY.

**SUMMARY** – In recent years, with food shortages, the being human has been seeking possible alternative sources of protein for nutrition. Breeding of spotted pacas in captivity would be one of those alternatives, if exploited properly. Facts as that favor the development of scientific research related to biotechnology of reproduction, where these are no longer held solely because of a concern for conservation of this species, but also as a way to improve their zootechnical production. Due to lack of data in the literature doubts arise whether it would be possible to obtain viable oocytes from spotted pacas for in vitro maturation. Thus, the aim of this study was to establish viable technique of ovum pick-up in spotted pacas, testing effects of hormonal protocols on recovery rate of oocyte and IVM, and to evaluate the surgical and reproductive aspects. For this eight adult females were subjected to four treatments each, to collect oocytes by laparocoic ovum pick-up, which in three of these treatments were used hormonal stimulation with eCG and FSH. Retrieved oocytes in each treatment were classified qualitatively and then submitted to IVM. Subsequently, they were evaluated for nuclear maturation. After all analyzes, we conclude that the gonadotropin treatments were not efficient to hyperstimulate the treated groups or increased the oocyte recovery efficiency. Thus, further studies are needed, especially for new protocols, such as higher doses or frequency of administration as well as accuracy in the reproductive cycle times of treatments.

**Keywords:** gonadotropin, laparoscopy, oocyte, ovum pick-up, rodent.

**LISTA DE TABELAS**

	Página
Tabela 1: Resultados comparativos de diferentes protocolos de estímulo hormonal ovariano em <i>Cuniculus paca</i> submetidos à aspiração folicular por videolaparoscopia.....	38
Tabela 2: Resultados de maturação in vitro de oócitos e taxas (%) de cada estágio de maturação nuclear e oócitos perdidos por tratamento em <i>Cuniculus paca</i> submetidos à aspiração folicular por videolaparoscopia.....	39

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Imagem fotográfica de <i>Cuniculus paca</i> . (Fonte: Revista Globo Rural).....	3
Figura 2: Aspiração folicular por videolaparoscopia em <i>Cuniculus paca</i> . Em (A) e (B) posicionamento do paciente e visão externa da disposição dos portais laparoscópicos no sentido caudo-cranial, com animal em decúbito dorsal, primeiro portal com válvula de insuflação (“x” vermelho), segundo portal com ótica rígida inserida (circulo azul), terceiro portal (asterisco verde). Em (B) com a manobra de lateralização e punção (triangulo roxo). Em (C) visão interna da punção folicular, agulha introduzida no folículo (1), pinça de pressão (2) segurando o corno uterino (3) e ovário (4) – FCAV/UNESP, Jaboticabal, 2013. (Fonte: Arquivo pessoal).....	20
Figura 3: Representação do tempo cirúrgico em cada etapa do procedimento de LOPU. 1ºT – Incisão até inserção do primeiro trocáter; Insf – insuflação; 2ºT – do estabelecimento do pneumoperitônio à entrada do segundo trocáter; 3ºT – da entrada do segundo a inserção do terceiro trocáter; 1ºOv – da entrada do terceiro trocáter ao início de manipulação do primeiro ovário; PO – manipulação do primeiro ovário; SO – manipulação do segundo ovário; DR – da desinsuflação à dermorrafia.....	23
Figura 4: Intercorrências na aspiração folicular por videolaparoscopia em <i>Cuniculus paca</i> . Em (A) e (B) visão interna de aderência (1) de trato reprodutor (3) em rim direito (2) e peritônio, e adesiólise usando pinça Babcock (4). Em (C) visão externa de cistorrafia após perfuração acidental de vesícula urinária (5) – FCAV/UNESP, Jaboticabal, 2013. (Fonte: Arquivo pessoal).....	25

## LISTA DE ABREVIATURAS

- °C – Grau Celsius;
- Art. – Artigo;
- CCO – Complexo *cumulus oophorus*;
- cm – centímetro;
- CO<sub>2</sub> – Dióxido de carbono;
- CP – Corpúsculo polar;
- D/ID – Degenerado/Indeterminado;
- DP – Desvio Padrão;
- eCG – Equine Chorionic Gonadotropin (Gonadotrofina Coriônica Equina);
- EP – Erro Padrão;
- FIV – Fertilização *in vitro*;
- FSH – Follicle-Stimulating Hormone (Hormônio Folículo Estimulante);
- g – Grama;
- G – Gauge;
- GC – Grânulos corticais;
- GnRH – Gonadotropin-Releasing Hormone (Hormônio liberador de gonadotrofinas);
- h – hora;
- hCG – Human Chorionic Gonadotropin (Gonadotrofina Coriônica humana);
- hGM – Human Menopausal Gonadotropin (Gonadotrofina da Menopausa Humana);
- IM – Intramuscular;
- Kg – Quilograma;
- L – Litro;
- LH – Hormônio Luteinizante;
- LOPU – Laparoscopic ovum pick-up (Aspiração folicular por videolaparoscopia);
- MI – Metáfase I;
- MII – Metáfase II;
- mg – Miligrama;
- min. – Minuto;
- MIV – Maturação *in vitro*;
- µg – Micrograma;

ml – Mililitro;

mm – milímetro;

mM – milimolar;

mmHG – Milímetro de mercúrio;

MPA – Medicação pré-anestésica;

MOET – Multiple Ovulation and Embryo Transfer (Ovulação múltipla e transferência de embriões);

N – Número;

NaCl – Cloreto de sódio;

O<sub>2</sub> – Oxigênio;

p – Probabilidade;

PBS – Phosphate-buffered saline (Solução salina tamponada com fosfato);

PIA – Pressão Intrabdominal;

PIV – Produção *in vitro*;

PMSG – Pregnant Mare Serum Gonadotropin (Gonadotrofina Sérica da Égua Gestante);

% – Porcentagem;

UI – Unidade Internacional;

VG – Vesícula germinativa.

## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 027420/11 do trabalho de pesquisa intitulado "**Aspiração folicular por videolaparoscopia e maturação oocitária *in vitro* em pacas (*Cuniculus paca* – Linnaeus, 1766) mantidas em cativeiro**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Wilter Ricardo Russiano Vicente está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião extraordinária de 18 de maio de 2012.

Jaboticabal, 21 de maio de 2012.

  
**Prof. Dr. Andrigo Barboza De Nardi**  
Coordenador - CEUA

## 1. HIPÓTESES

Podemos ressaltar como hipóteses que é possível coletar oócitos viáveis de pacas para maturação *in vitro* por meio de aspiração folicular por videolaparoscopia, com ou sem estimulação hormonal;

Que a estimulação ovariana permite a observação de maior número de folículos, assim como melhora a taxa de recuperação e de maturação de oócitos;

E ainda, que o estímulo hormonal com duas gonadotrofinas (FSH e eCG) aumenta esses fatores citados em relação ao estímulo hormonal utilizando-as separadamente.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Estabelecer uma técnica viável de aspiração folicular em pacas, avaliando os procedimentos cirúrgicos e os aspectos reprodutivos.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a técnica de aspiração folicular por videolaparoscopia na espécie;
- Estabelecer um método de avaliação dos oócitos da espécie;
- Avaliar a quantidade e qualidade dos oócitos obtidos por sessão;
- Analisar as taxas de recuperação de oócitos viáveis para maturação *in vitro*;
- Avaliar técnica de maturação *in vitro* desses oócitos;
- Obter protocolo satisfatório de estimulação ovariana;
- Correlacionar a eficiência dos protocolos de estimulação ovariana em relação à qualidade dos oócitos;
- Analisar se a repetição do procedimento de aspiração folicular influencia a recuperação de oócitos e a maturação *in vitro*.

## CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho tem sido pioneiro na realização de biotécnicas da reprodução em *Cuniculus paca*. Diversos resultados obtidos foram satisfatórios para possível manutenção da reprodução assistida desses animais em cativeiro.

As técnicas de aspiração folicular por videolaparoscopia desenvolvida nesse trabalho e de maturação *in vitro* mostraram-se eficientes e possíveis de serem realizadas em estudos futuros.

Considerou-se também que os protocolos hormonais aplicados nesse estudo não foram eficientes, já que os resultados da superestimulação ovariana não diferiram do grupo controle. Apesar disso, boa quantidade de oócitos foi obtida, porém, a taxa de recuperação esteve levemente abaixo da ideal para diversas espécies de animais, além disso, a maioria dos oócitos não aparentava estar em excelente qualidade.

Sendo assim, mesmo alguns resultados serem considerados satisfatórios mais estudos acerca da morfologia oocitária e de protocolos de superestimulação ovariana, como doses de gonadotrofinas ou frequência de administração, além da precisão do ciclo reprodutivo nos momentos dos tratamentos, são necessários para assim, aumentar a taxa de recuperação de oócitos nesta espécie.