



## Uso do fosfatidilglicerol na maturação *in vitro* de ovócitos bovinos

Helen da Costa Rodrigues, Paula Magnelli Mangiavacchi, Carla Sobrinho Paes de Carvalho, Maria Clara Caldas-Bussiere, Angelo José Burla Dias

Um estudo prévio desenvolvido por nosso grupo de pesquisa revelou que doadoras de ovócitos bovinos, recebendo dieta suplementada com óleo de girassol, apresentaram maior taxa de blastocistos e a análise do perfil lipídico desses embriões demonstrou a existência de maior concentração de fosfatidilglicerol. Este ácido graxo é um precursor da cardiolipina, fosfolipídio que desempenha papel essencial na estrutura e função mitocondrial. Além da função na homeostase da membrana celular, o fosfatidilglicerol e a cardiolipina são mediadores de inúmeros processos celulares. O objetivo dese estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações do fosfatidilglicerol no meio de maturação *in vitro* e seu impacto na maturação nuclear dos ovócitos e na viabilidade das células do *cumulus*. Os complexos *cumulus oophorus* (CCOs) foram recuperados de ovários oriundos de abatedouros locais. Somente CCOs de grau I e II foram utilizados para esse estudo. A maturação *in vitro* (MIV) dos CCOs foi realizada em placa de quatro poços, com 350 µL de meio de maturação, suplementado com 0 ng (controle), 20 ng/mL (tratamento 1) e 40 ng/mL (tratamento 2)] de fosfatidilglicerol (L-A-FOSFATIDIL-DL-GLICEROL). Os CCOs foram incubados neste meio por 22 horas, a 38,5°C, 6% de CO<sub>2</sub>, em ar atmosférico e 95% de umidade. Decorridas as 22 horas do início da MIV foi avaliada a taxa de viabilidade das células do *cumulus* e maturação nuclear ovocitária pela marcação com Hoechst e Iodeto de Propídio. Para a análise dos dados foi realizada a análise de variância (ANOVA) testando o efeito de grupo, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Foram realizadas sete réplicas para avaliação da maturação nuclear e quatro para a viabilidade celular, totalizando 525 estruturas distribuídas aleatoriamente entre os grupos experimentais. As taxas de maturação nuclear foram de 79,1%, 75,62% e 70,6% para os ovócitos maturados com 0, 20 e 40 ng do fosfatidilglicerol, respectivamente, não apresentando diferença significativa entre os tratamentos ( $p>0,05$ ). Os tratamentos também não afetaram ( $p>0,05$ ) as taxas de viabilidade das células do *cumulus*, as quais foram de 74,2%; 72,4% e 70,1%, respectivamente para os CCOs maturados *in vitro* em meio contendo 0, 20 ou 40 ng do fosfatidilglicerol. Conclui-se que o fosfatidilglicerol, nas concentrações analisadas não alterou as taxas de maturação nuclear, assim como a viabilidade das células do *cumulus*.

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – CCTA/LRMGA  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Agradecimento: FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO:



## Use of phosphatidylglycerol on *in vitro* maturation of bovine oocytes

Helen da Costa Rodrigues, Paula Magnelli Mangiavacchi, Carla Sobrinho Paes de Carvalho, Maria Clara Caldas-Bussiere, Angelo José Burla Dias

A previous study carried out by our research group revealed that bovine oocytes donors, receiving a diet supplemented with sunflower oil, had a higher rate of blastocysts and the analysis of the lipid profile of these embryos demonstrated the existence of a higher concentration of phosphatidylglycerol. This fatty acid is a precursor of cardiolipin, a phospholipid that plays an essential role in mitochondrial structure and function. In addition to their role in cell membrane homeostasis, phosphatidylglycerol and cardiolipin are mediators of numerous cellular processes. The aim of this study was to evaluate the effect of different concentrations of phosphatidylglycerol in the *in vitro* maturation medium and its impact on oocyte nuclear maturation and viability of cumulus cells. Cumulus oophorus complexes (COCs) were recovered from ovaries from local slaughterhouses. Only grade I and II CCOs were used for this study. The *in vitro* maturation (IVM) of the COCs was performed in a four-well plate, with 350 µL of maturation medium, supplemented with 0 ng (control), 20 ng/mL (treatment 1) and 40 ng/mL (treatment 2) of phosphatidylglycerol (L-A-PHOSPHATIDYL-DL-GLYCEROL). The COCs were incubated in this medium for 22 hours at 38.5°C, 6% CO<sub>2</sub>, in atmospheric air and 95% humidity. Twenty-two hours after the start of IVM, the rate of cumulus cell viability and oocyte nuclear maturation was evaluated by marking with Hoechst and Propidium Iodine. For data analysis, analysis of variance (ANOVA) was performed, testing the group effect, with significance being compared by Tukey's test, at 5% probability. Seven replicates were performed to assess oocyte nuclear maturation and four for cell viability, totaling 525 structures distributed among the experimental groups. Nuclear maturation rates were 79.1%, 75.62% and 70.6% for oocytes matured with 0, 20 and 40 ng of phosphatidylglycerol, respectively, with no significant difference between treatments ( $p>0.05$ ). The treatments also did not affect ( $p>0.05$ ) the cumulus cell viability rates, which were 74.2%; 72.4% and 70.1%, respectively, for COCs matured *in vitro* in medium containing 0, 20 or 40 ng of phosphatidylglycerol. It is concluded that phosphatidylglycerol, in the analyzed concentrations, did not change nuclear maturation rates, as well as the viability of cumulus cells.

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – CCTA/LRMGA  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
Agradecimento: FAPERJ

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:

APOIO: