

**XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica**

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação**

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## **Determinação da concentração de poliaminas intraocitária durante a maturação *in vitro* de oócitos bovinos**

*Vinicius Maretto, Angelo José Burla Dias, Renan Carrari Santos, Claudete Santa-Catarina, Maria Clara Caldas-Bussiere*

As poliaminas (PAs) são um grupo de moléculas onipresentes em células procarióticas e eucarióticas, sendo a putrescina (PUT), espermina (SPM), espermidina (SPD) e cadaverina (CAD) as PAs de interesse científico. Compostas por dois ou mais grupos amina que apresentam carga positiva, as PAs podem interagir com importantes compostos celulares como DNA, RNA, ATP e fosfolipídeos, ambos com carga negativa. Apesar de importantes funções reprodutivas atribuídas a elas, a concentração intraocitária de PAs é conhecida somente em *Xenopus*. Objetivou-se mensurar a concentração intraocitária de PAs durante a MIV de oócitos bovinos. Os oócitos foram maturados em placas de quatro poços contendo 30 COCs e retirados da MIV nos tempos 0 h (imaturado), 3, 6, 9, 12, 15 e 22 h, desnudados, agrupados em amostras de 200 oócitos e armazenados a -18 °C em triplicatas, totalizando 21 observações. As amostras foram maceradas e levadas ao sonicador ultrassônico por 5 ciclos de 20" e maceradas em 100 µL de ácido perclórico. Após 1 h de incubação a 4 °C, as amostras foram centrifugadas por 20' a 20.000 × g a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e as PAs livres foram analisadas por dansilação com cloreto de dansila, identificadas e quantificadas por HPLC. O gradiente da coluna de HPLC foi criado adicionando volumes crescentes de acetonitrila absoluta a uma solução aquosa de acetonitrila a 10%. Um detector de fluorescência em 340 nm (excitação) e 510 nm (emissão) foi usado para detectar picos de PAs. Áreas de pico e tempos de retenção de PAs foram medidos por comparação com PAs padrão PUT, SPD e SPM. A análise estatística foi realizada por análise de variância, sendo as médias comparadas através do teste SNK a nível de 5% de probabilidade. A concentração intraocitária de putrescina apresentou um discreto pico na hora 3 (0,55±0,32 ng/oócito), porém, diferenciando-se somente de 22 h (0,06±0,03 ng/oócito). A espermina iniciou a MIV com alta concentração (0,56±0,09 ng/oócito), sendo observado uma queda na concentração ao decorrer dos tempos de avaliação, fechando a MIV em uma concentração de 0,14±0,05 ng/oócito (22 h). A espermidina e a cadaverina apresentaram concentrações estáveis durante a MIV. Apenas putrescina e espermina tiveram alterações em sua concentração durante a MIV, sendo observado um pico, seguido por uma queda na sua concentração, o que nos sugere a utilização dessas moléculas durante a maturação de oócitos bovinos. Este é o primeiro trabalho que determina a concentração de poliaminas durante a maturação de oócitos de mamíferos, podendo esta análise ser usada como uma importante ferramenta nos estudos sobre vias de sinalização envolvidas na maturação de oócitos.

*Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF*

*Eixo temático: Produção in vitro de embriões*

*Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPq*

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**

Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**U III** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

## Determination of intraoocyte polyamine concentration during *in vitro* maturation of bovine oocytes

*Vinicius Maretto, Angelo José Burla Dias, Renan Carrari Santos, Claudete Santa-Catarina, Maria Clara Caldas-Bussiere*

Polyamines (PAs) are a group of ubiquitous molecules in prokaryotic and eukaryotic cells, with putrescine (PUT), spermine (SPM), spermidine (SPD) and cadaverine (CAD) being the PAs of scientific interest. Composed of two or more amine groups that have a positive charge, PAs can interact with important cellular compounds such as DNA, RNA, ATP and phospholipids, both of which have a negative charge. Despite the important reproductive functions attributed to them, the intraoocyte concentration of PAs is known only in *Xenopus*. The objective was to measure the intraoocyte concentration of PAs during IVM of bovine oocytes. The oocytes were matured in four-well plates containing 30 COCs and removed from the IVM at 0 h (immature), 3, 6, 9, 12, 15 and 22 h, stripped, grouped in samples of 200 oocytes and stored at -18 °C in triplicates, totaling 21 observations. The samples were macerated and taken to the ultrasonic sonicator for 5 cycles of 20" and macerated in 100 µL of perchloric acid. After 1 h of incubation at 4 °C, the samples were centrifuged for 20' at 20,000 x g at 4 °C. The supernatant was collected and free PAs were analyzed by dansyl chloride dansylation, identified and quantified by HPLC. The HPLC column gradient was created by adding increasing volumes of absolute acetonitrile to a 10% aqueous acetonitrile solution. A fluorescence detector at 340 nm (excitation) and 510 nm (emission) was used to detect PA peaks. Peak areas and retention times of PAs were measured by comparison with standard PUT, SPD and SPM PAs. Statistical analysis was performed using analysis of variance, with means being compared using the SNK test at a 5% probability level. The intraoocyte concentration of putrescine showed a slight peak at hour 3 (0.55±0.32 ng/oocyte), however, differing only at 22 h (0.06±0.03 ng/oocyte). Spermine started the IVM with a high concentration (0.56±0.09 ng/oocyte), with a drop in concentration being observed over the evaluation times, closing the IVM at a concentration of 0.14±0.05 ng/oocyte oocyte (22 h). Spermidine and cadaverine showed stable concentrations during IVM. Only putrescine and spermine had changes in their concentration during IVM, with a peak being observed, followed by a drop in their concentration, which suggests the use of these molecules during the maturation of bovine oocytes. This is the first work that determines the concentration of polyamines during the maturation of mammalian oocytes, and this analysis can be used as an important tool in studies of signaling pathways involved in oocyte maturation.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

