



A L-arginina participa da maturação “in vitro” de oócitos bovinos utilizando diferentes vias?

João Victor Bersot Gomes, Vinicius Maretto, Angelo José Burla Dias, Carla Sobrinho Paes de Carvalho, Maria Clara Caldas Bussiere

A meiose dos oócitos de mamíferos é um processo longo e envolve diversas vias de sinalização. É iniciada durante a vida fetal e fica bloqueada durante a vida neonatal até a puberdade. O monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) é produzido nas células da granulosa, *cumulus* e oócito pela enzima adenilato ciclase e é responsável por manter o oócito na prófase I da meiose por longo período de tempo. O NO é um dos principais estimuladores da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), que aumentam a concentração do Monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), responsável por controlar a concentração intraoocitária de AMPc. A inibição da enzima GCs pelo seu inibidor específico, o 1H-[1,2,4]oxadiazolo-[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ), tem sido amplamente utilizada para estudar a função da via óxido nítrico/GCc/GMPc. Assim, o presente trabalho tem por objetivo: 1) avaliar o efeito dose resposta do ODQ na maturação nuclear, integridade de membrana das células do *cumulus* (IMCC) e na concentração de NO no meio de cultivo de oócitos bovinos maturados *in vitro* (MIV). Os ovários estão sendo coletados em matadouros locais. Após a punção dos folículos ovarianos, os complexos *cumulus*-oócito (COCs) são selecionados em estereomicroscópio e divididos em 6 grupos contendo 30 COCs em cada grupo (GC: grupo controle; G1: 1×10^{-3} Mm de ODQ; G2: 1×10^{-4} Mm de ODQ; G3: 1×10^{-5} Mm de ODQ; G4: 1×10^{-6} Mm de ODQ; G5: 1×10^{-7} Mm de ODQ). Após transcorridas 22 horas de maturação *in vitro*, os oócitos são desnudados por sucessivas pipetagens e fixados entre lâmina e lamínula por 48 horas em solução de álcool e ácido acético, para então serem corados com orceína acética 2% e avaliados sob microscopia óptica. Para análise da IMCC, o meio utilizado no desnudamento dos COCs é centrifugado, o sobrenadante desprezado e o *pellet* resuspenso em uma solução de hoechst 33342 e iodeto de propídeo, colocadas entre lamina e lamínula e avaliadas em microscopia de epifluorescência. O meio utilizado na MIV é armazenado a -16°C para dosagem de nitrito total posteriormente. Até o presente momento, foram realizadas 2 repetições dos grupos G1, G2, G4 e G5 e 4 repetições dos grupos GC e G3. A taxa de maturação para os grupos GC, G1, G2, G3, G4 e G5 foi de 69,4%; 0%; 0%; 11,1%; 10,7% e 13,9%, respectivamente, enquanto a IMCC foi de 61%; 2,5%; 5,5%; 35%; 57,5% e 52,5%, respectivamente. Assim, pode-se concluir que a inibição da GCs pelo ODQ foi eficiente para inibir a retomada da meiose em oócitos bovinos e diminuiu a IMCC. Mais estudos serão necessários para se avaliar o porquê a inibição da síntese do GMPc diminuiu a retomada da meiose, sugerindo a ação do GMPc numa outra via diferente da ligada à fosfodiesterase A3/AMPc.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Faperj
Fomento da bolsa (quando aplicável): UENF