## Papel da L-arginina na capacitação espermática, maturação de oócitos bovinos e seu impacto na produção *in vitro* de embriões

Marina França Bragança, Vinicius Maretto, João Victor Bersot Gomes, Ana Jessica Pereira Manhães, Maria Clara Caldas-Bussiere

O principal indicador do sucesso da interação espermatozoide-oócito é a viabilidade dos oócitos, devido a isto, diversas tentativas para melhorar as condições de maturação in vitro (MIV) de oócitos vem sendo estudadas. A L-arginina (L-arg) é um aminoácido semi-essencial precursor de importantes metabólitos, como o óxido nítrico (NO), participando da síntese de proteínas, ureia, creatina, agmatina e L-ornitina, A disponibilidade de L-arg para a síntese de NO no meio de cultivo celular é um dos pontos principais no controle de sua síntese in vitro. O NO e seus efeitos vêm sendo estudados no processo de MIV, estando envolvido em eventos que afetam a qualidade do oócito e sendo essencial para o equilíbrio oxidativo das células. Muitos estudos utilizam doadores de NO, no entanto, utilizar Larg no meio de cultivo proporciona melhor controle na quantidade de NO sintetizado pelas próprias células, evitando possíveis efeitos deletérios. O presente plano de trabalho tem por objetivo avaliar o papel da L-arg na MIV e capacitação espermática, verificando se seus efeitos serão somatórios, otimizando assim, os resultados do sistema de produção in vitro de embriões bovinos. Os ovários foram coletados de vacas abatidas em matadouros frigoríficos e transportados até o laboratório. Os folículos foram puncionados com auxílio de seringa de 10 mL e agulha 40 x 12, sendo o fluido folicular recolhido em tubo de fundo cônico. Os oócitos foram triados em lupa estereomicroscópica, divididos em 4 grupos de 30 e maturados por 22 h. O sêmen foi descongelado e submetido ao gradiente de miniPercoll. Em seguida, o sobrenadante foi descartado, o pellet ressuspendido e, novamente, centrifugado. Os espermatozoides (sptz) foram incubados por 30' (com e sem L-arg). Após a précapacitação, os sptz e oócitos foram co-incubados por 8 h nos seguintes grupos: G1: controle negativo; G2: oócitos maturados com L-arg e fertilizados por sptz controle; G3: oócitos controle e fertilizados por sptz com L-arg; G4: oócitos maturados com L-arg e fertilizados por sptz com L-arg. A taxa de clivagem foi avaliada no 3° dia e blastocistos no 7° dia. Até o presente momento foram concluídas 2 rotinas. A taxa de clivagem para os grupos G1, G2, G3 e G4 foi de, respectivamente, 73,15±0,21%; 75,0±0,15%; 76,5±0,17% e 81,0±0,12%. A taxa de blastocisto para os grupos G1, G2, G3 e G4 foi de, respectivamente, 25,0±1,2%; 27,22±0,9%; 38,0±0,5% e 40,±1,0%. Com os resultados iniciais, concluise que a L-arg teve efeitos positivos tanto na maturação quanto na pré-capacitação, sendo apresentado um efeito somatório em seus resultados quando utilizada em ambos os processos, todavia, mais repetições são necessárias.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF Eixo temático: Produção in vitro de embriões Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPq

















## Role of L-arginine in bovine oocyte maturation and sperm capacitation and its impact on *in vitro* embryo production

Marina França Bragança, Vinicius Maretto, João Victor Bersot Gomes, Ana Jessica Pereira Manhães, Maria Clara Caldas-Bussiere

The main indicator of the success of the sperm-oocyte interaction is the viability of the oocytes. Because of this, several attempts to improve in vitro maturation (IVM) conditions of oocytes have been studied. L-arginine (L-arg) is a semi-essential amino acid that is a precursor of important metabolites, such as nitric oxide (NO), and is involved in the synthesis of proteins, urea, creatine, agmatine, and Lornithine. The availability of L-arg for the synthesis of NO in the cell culture medium is one of the key points in controlling its in vitro synthesis. NO and its effects have been studied in the process of IVM, being involved in events that affect oocyte quality and being essential for the oxidative balance of cells. Many studies use NO donors, however, using L-arg in the culture medium provides better control over the amount of NO synthesized by the cells themselves, avoiding possible deleterious effects. The present work aims to evaluate the role of L-arg in IVM and sperm capacitation, verifying if its effects will be additive, thus optimizing the results of the *in vitro* production system of bovine embryos. The ovaries were collected from cows slaughtered in refrigerated slaughterhouses and transported to the laboratory. The follicles were punctured with a 10 mL syringe and a 40 x 12 needle, and the follicular fluid was collected in a conical bottom tube. The oocytes were sorted under a stereomicroscope and divided into 4 groups of 30 and matured for 22 h. The semen was thawed and subjected to a miniPercoll gradient. Then, the supernatant was discarded, the pellet was resuspended and centrifuged again. The spermatozoa (sptz) were incubated for 30' (with and without L-arg). After pre-capacitation, the sptz and oocytes were co-incubated for 8 h in the following groups: G1: negative control; G2: oocytes matured with L-arg and fertilized by control sptz; G3: control oocytes fertilized by sptz with L-arg; G4: oocytes matured with L-arg and fertilized by sptz with L-arg. The cleavage rate was evaluated on the 3rd day and blastocysts on the 7th day. Up to the present moment, 2 routines have been completed. The cleavage rate for groups G1, G2, G3, and G4 was, respectively, 73.15±0.21%; 75.0±0.15%; 76.5±0.17%, and 81.0±0.12%. The blastocyst rate for groups G1, G2, G3, and G4 was, respectively, 25.0±1.2%; 27.22±0.9%; 38.0±0.5%, and 40.±1.0%. With the initial results, it was concluded that L-arg had positive effects on both maturation and pre-capacitation, with an additive effect presented in its results when used in both processes, however, more repetitions are necessary.















APOIO:

