

**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



**UIII** 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

## 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 envolve uma extensa rede de 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. O NO é um dos principais estimuladores da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), que aumenta a concentração do monofosfato cíclico de guanosina (GMPc), um dos grandes responsáveis pela manutenção de alta concentração intraoocitária de AMPC. Buscando entender a via óxido nítrico/GCc/GMPc, avaliamos a ação do inibidor específico da GCs, o 1H-[1,2,4]oxadiazolo-[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ), e o quelante do NO, o cPTIO. Assim, o presente trabalho tem por objetivo: 1) avaliar o efeito dose-resposta do ODQ e do cPTIO na maturação nuclear e integridade de membrana das células do “cumulus” (IMCC) 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 agrupados em grupos contendo 30 COCs divididos em 2 experimentos (ODQ nas concentrações de  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  Mm e cPTIO nas concentrações de  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  Mm, mais um grupo controle). 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 comorceína 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. Para a taxa de maturação nuclear, os resultados para ODQ foram: GC:  $79,81 \pm 18,97\%$ ;  $10^{-3}$ :  $5,88 \pm 8,3\%$ ;  $10^{-4}$ :  $2,6 \pm 3,67\%$ ;  $10^{-5}$ :  $0,18 \pm 0,44\%$ ;  $10^{-6}$ :  $3,9 \pm 5,34\%$ ; e  $10^{-7}$ :  $8,77 \pm 5,82\%$ , enquanto para o cPTIO foram: GC:  $82,05 \pm 18,64\%$ ;  $10^{-5}$ :  $1,66 \pm 4,08\%$ ;  $10^{-6}$ :  $0 \pm 0\%$ ; e  $10^{-7}$ :  $3,75 \pm 8,38\%$ . A IMCC (%) para o ODQ foi de GC:  $62 \pm 5,88$ ;  $10^{-3}$ :  $2,5 \pm 3,53$ ;  $10^{-4}$ :  $5,5 \pm 6,36$ ;  $10^{-5}$ :  $42,5 \pm 9,35$ ;  $10^{-6}$ :  $57 \pm 10,95$ ;  $10^{-7}$ :  $54 \pm 9,61$ ; e para o cPTIO foi de GC:  $71,25 \pm 7,5$ ;  $10^{-5}$ :  $30 \pm 7,07$ ;  $10^{-6}$ :  $42 \pm 20,73$ ;  $10^{-7}$ :  $65 \pm 3,12$ . A concentração mais adequada é a de  $10^{-7}$  mM de ODQ e cPTIO, visto que foram eficientes para inibir a meiose, mas não alteraram a IMCC. Mais estudos serão necessários para se avaliar se o efeito de ambos inibidores atuam pela mesma via ou por vias independentes.

*Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF  
Eixo temático: REPRODUÇÃO ANIMAL  
Fomento da bolsa (quando aplicável): FAPERJ*

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XV 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



**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

## Does L-arginine participate in the “in vitro” maturation of bovine oocytes using different pathways?

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

Meiosis in mammalian oocytes involves an extensive network of signaling pathways. It is initiated during fetal life and is blocked during neonatal life until puberty. Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) is produced in granulosa, cumulus and oocyte cells by the enzyme adenylate cyclase and is responsible for maintaining the oocyte in prophase I of meiosis. NO is one of the main stimulators of the enzyme soluble guanylate cyclase (GCs), which increases the concentration of cyclic guanosine monophosphate (cGMP), responsible for controlling the intraocular concentration of cAMP. Seeking to understand the nitric oxide/cGC/cGMP pathway, we evaluated the action of the specific sGC inhibitor, 1H-[1,2,4]oxadiazole-[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ), and the NO chelator, cPTIO. Thus, this study aims to: 1) evaluate the dose-response effect of ODQ and cPTIO on nuclear maturation and cumulus cell membrane integrity (IMCC) of in vitro matured bovine oocytes (IVM). The ovaries are being collected from local slaughterhouses. After puncturing the ovarian follicles, the cumulus-oocyte complexes (COCs) are selected under a stereomicroscope and grouped into groups containing 30 COCs divided into 2 experiments (ODQ at concentrations of  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  and  $10^{-7}$  Mm and cPTIO at concentrations of  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  and  $10^{-7}$  Mm, plus a control group). After 22 hours of in vitro maturation, the oocytes are denuded by successive pipetting and fixed between slide and cover slip for 48 hours in an alcohol and acetic acid solution, to then be stained with 2% acetic orcein and evaluated under optical microscopy. For IMCC analysis, the medium used in the COCs stripping is centrifuged, the supernatant discarded and the pellet resuspended in a solution of hoechst 33342 and propidium iodide, placed between slide and coverslip and evaluated in epifluorescence microscopy. For nuclear maturation rate, the results for ODQ were: GC:  $79.81 \pm 18.97\%$ ;  $10^{-3}$ :  $5.88 \pm 8.3\%$ ;  $10^{-4}$ :  $2.6 \pm 3.67\%$ ;  $10^{-5}$ :  $0.18 \pm 0.44\%$ ;  $10^{-6}$ :  $3.9 \pm 5.34\%$ ; and  $10^{-7}$ :  $8.77 \pm 5.82\%$ , while for cPTIO they were: GC:  $82.05 \pm 18.64\%$ ;  $10^{-5}$ :  $1.66 \pm 4.08\%$ ;  $10^{-6}$ :  $0 \pm 0\%$ ; and  $10^{-7}$ :  $3.75 \pm 8.38\%$ . The IMCC (%) for the ODQ was GC:  $62 \pm 5.88$ ;  $10^{-3}$ :  $2.5 \pm 3.53$ ;  $10^{-4}$ :  $5.5 \pm 6.36$ ;  $10^{-5}$ :  $42.5 \pm 9.35$ ;  $10^{-6}$ :  $57 \pm 10.95$ ;  $10^{-7}$ :  $54 \pm 9.61$ ; and for cPTIO it was from GC:  $71.25 \pm 7.5$ ;  $10^{-5}$ :  $30 \pm 7.07$ ;  $10^{-6}$ :  $42 \pm 20.73$ ;  $10^{-7}$ :  $65 \pm 3.12$ . The most appropriate concentration is  $10^{-7}$  mM of ODQ and cPTIO, since they were effective in inhibiting meiosis, but did not alter IMCC. More studies will be needed to assess whether the effect of both inhibitors act through the same pathway or through independent pathways.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



# XV Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

## 28º

Encontro de Iniciação Científica da UENF

## 20º

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

## 16ª

Jornada de Iniciação Científica da UFF



# UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação

## 23ª

Mostra de Pós-Graduação da UENF

## 8ª

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

## 8ª

Mostra de Pós-Graduação da UFF

### ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



### APOIO:

