



## IMUNOLocalização DAS ENZIMAS ÓXIDO NÍTRICO SINTASE NOS COMPLEXOS *CUMULUS*-OÓCITO E HEMI-SECÇÕES DA PAREDE FOLICULAR DURANTE A MATURAÇÃO *IN VITRO* DE OÓCITOS BOVINOS

Karina da Silva Nogueira, Maria Clara Caldas Bussiere,  
Natália Ferreira Torres

A produção *in vitro* (PIV) de embriões tem um papel fundamental para a bovinocultura brasileira, visto que atualmente o Brasil é o maior produtor de embriões PIV. A maturação de oócitos é uma etapa importante na produção *in vitro* de embriões, visto que é essencial para o desenvolvimento embrionário. O óxido nítrico (NO) é um gás difuso e lipolítico que pode atuar como um radical livre dependendo de sua concentração no meio, e também como um importante mediador da sinalização celular com diversas atividades biológicas. Evidências suportam o envolvimento do NO na fisiologia ovariana e sua participação no desenvolvimento folicular e na ovulação. Os mecanismos pelos quais o NO atua na maturação oocitária ainda não foram totalmente explicados, dessa forma, mais estudos são necessários. O objetivo do presente trabalho é avaliar as vias de ação do NO na maturação dos oócitos bovinos co-cultivados na presença de hemi-seções de folículos ovarianos, condição esta, que mais se aproxima das observadas *in vivo*. Os ovários serão obtidos de abatedouros locais e serão trazidos ao laboratório em solução fisiológica, posteriormente serão selecionados para dissecação folicular. Os folículos dissecados serão divididos ao meio e as hemi-seções foliculares serão mantidas em meio de cultivo tecidual (TCM 199) aquecido em mesa térmica até que sejam distribuídos em placas com 4 poços (oito metades por poço) onde serão adicionados os tratamentos. A seguir, as placas serão transferidas para estufa a 38,5°C, 5% CO<sub>2</sub> com umidade controlada onde irão permanecer até a obtenção e seleção dos complexos *cumulus*-oócitos (CCOs). Os CCOs serão transferidos para as placas contendo as hemi-seções e serão cultivados em meio de maturação contendo os seguintes tratamentos: G1) Controle negativo (sem hemi-seções); G2) controle positivo (com hemi-seções);



G3) L-arginina (1mM); G4) L-NAME (1 mM); aminoguanidina (10 mM) e ODQ ( $10^{-5}$  MM). A maturação nuclear dos oócitos será avaliada por meio da coloração com orceína. Será realizada a imunocitoquímica para detecção e localização das diferentes isoformas da enzima óxido nítrico sintase (NOS) nos CCOs e a imunohistoquímica das hemi-seções da parede folicular com 0, 6, 12 e 24 horas de cultivo. O experimento encontra-se em fase inicial, a coleta de amostras estão sendo iniciadas.

Palavras-chave: Produção *in vitro* de embriões, óxido nítrico, bovino, meiose, imunolocalização

• aquisição de fomento: FAPERJ