

## R193 - EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO

## MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE FATORES DE CRESCIMENTO UTERINOS PELO EMBRIÃO BOVINO

**ALAN DIEGO BEZERRA LIRA<sup>1</sup>; ABIMAELE ESTEVAM SILVA JÚNIOR<sup>2</sup>; LUCIANA ALVES FÁTIMA<sup>3</sup>; LAWRENCE DE OLIVEIRA BARROS<sup>4</sup>; PAULA DE CARVALHO PAPA<sup>5</sup>; DANILA BARREIRO CAMPOS<sup>6</sup>**

<sup>1,2,6</sup>UFPEL, AREIA, PB, BRASIL; <sup>3,5</sup>USP, SAO PAULO, SP, BRASIL; <sup>4</sup>UFRPE, RECIFE, PE, BRASIL

**Palavras-chave:** fatores de crescimento; carúncula; embrião

Na maioria das espécies as bases moleculares da comunicação materno-fetal não estão bem definidas e os estudos relacionados à modulação dos eventos uterinos pelo embrião são limitados. Kashiwagi *et al.* (2007, Kashiwagi A., Endocrinology 148, 4173-4184) demonstraram que o embrião de camundongo tem papel ativo no estabelecimento do ambiente uterino durante a implantação, regulando o desenvolvimento e diferenciação do endométrio. A observação de que em bovinos as carúnculas do corno uterino gestante têm maior desenvolvimento do que as do corno não-gestante e que no caso de gestações de embriões produzidos *in vitro* diversas anomalias são detectadas, incluindo insuficiente desenvolvimento e vascularização caruncular, nos levaram a hipótese que não só os hormônios ovarianos controlam o desenvolvimento caruncular, mas também fatores fetais estão envolvidos. O objetivo do presente estudo foi investigar a modulação do embrião bovino sobre a expressão gênica dos fatores de crescimento VEGF e bFGF e seus receptores em carúnculas uterinas. Carúnculas do corno gestante e não-gestante foram coletadas aos 35 dias de gestação e o RNA total foi isolado usando o reagente Trizol® (Invitrogen, Carlsbad, USA) e colunas específicas para extração de RNA. As amostras foram tratadas com DNase e a transcrição reversa foi realizada utilizando o kit Superscript III (Invitrogen, Carlsbad, USA) e 1µg do extrato de RNA. A expressão do VEGF e seus receptores Flt-1, KDR, bem como do bFGF e seus receptores R1, R2 e R4 foi determinada por PCR em tempo real, utilizando-se como controle endógeno a tubulina. Os dados foram expressos em relação a tubulina e calculados pelo método do  $\Delta\Delta Ct$  com correção pela eficiência de amplificação. A análise dos resultados demonstrou que os níveis de expressão do bFGF e do R2, foram significativamente menores em carúnculas do corno gestante quando comparadas às carúnculas do corno não-gestante, não havendo variação na expressão dos receptores R1 e R4, bem como do VEGF e dos receptores Flt-1 e KDR. Os fatores de crescimento VEGF e bFGF são descritos como os mais importantes controlando a angiogênese na placenta, no entanto, Mingju *et al.* (2006, Mingju C., Matrix Biology 25, 342-354) demonstraram que em células da granulosa o bFGF não altera os níveis de proliferação celular e inibe a expressão de genes relacionados a remodelação tecidual. Desta forma, a redução da expressão do bFGF e seu receptor R2 em carúnculas do corno gestante poderia estar associada à intensa remodelação tecidual ocorrida durante o processo de placentação. Os resultados sugerem que o embrião bovino pode estar envolvido no processo de desenvolvimento caruncular através da modulação da expressão gênica de fatores de crescimento uterinos.

## R194 - EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO

## NOVO MEIO PARA UTILIZAÇÃO DO BRILLIANT CRESYL BLUE NA SELEÇÃO DE OÓCITOS PARA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES SUÍNOS - DADOS PRELIMINARES

**ELISA CAROLINE DA SILVA SANTOS<sup>1</sup>; JORGEA PRADIE<sup>2</sup>; ALEXANDER OLIVEIRA GONÇALVES<sup>3</sup>; RAFAEL GIANELA MONDADORI<sup>4</sup>; THOMAZ LUCIA JR<sup>5</sup>; ARNALDO DINIZ VIEIRA<sup>6</sup>; LIGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO<sup>7</sup>**

<sup>1,2,3,4,5,6</sup>UFPEL, PELOTAS, RS, BRASIL; <sup>7</sup>EMBRAPA/CPACT, PELOTAS, RS, BRASIL

**Palavras-chave:** brilliant cresyl blue; oócitos suínos; meio de manutenção

A seleção de oócitos competentes contribui para o aumento da produção embrionária *in vitro*. Dentre os métodos de seleção disponíveis, o Brilliant Cresyl Blue (BCB) é um corante de viabilidade celular que determina a presença de glicose-6-fosfato desidrogenase. Esta enzima encontra-se ativa em oócitos em crescimento e inativa naqueles que tiveram seu crescimento completo. Sendo assim, oócitos que coram sob ação do BCB são considerados mais competentes, pois já atingiram seu crescimento completo. Este método de seleção já foi testado em várias espécies, no entanto, sua eficiência ainda é contraditória. Nos estudos em que a exposição ao corante resultou em queda de viabilidade oocitária, sugere-se que o meio de manutenção (PBS) e o tempo de exposição durante o processo de coloração sejam os responsáveis por diminuir a viabilidade oocitária. Os objetivos deste estudo foram testar o "porcine zygote medium" modificado (PZM-4m) para a coloração de oócitos suínos com o BCB, bem como reduzir o tempo de exposição ao corante de 90 para 60 minutos. Foram utilizados 388 complexos cumulus oócito (CCOs) procedentes de ovários de abatedouro, distribuídos nos meios contendo 26 µM de BCB em meio PZM-4m (n=133), PBS (n=142) e controle (PZM-4m sem BCB, n=113). Os CCOs foram mantidos durante 60 min em solução de BCB, a 39° C. Após isso, foram separados em 5 grupos conforme reação ao corante: PZM-4m corado e não corado, PBS corado e não corado e controle. Após a exposição ao corante e seleção, todos os CCOs foram submetidos a maturação *in vitro*. Nas primeiras 24h a MIV foi conduzida em meio PZM4-m contendo EGF, LH, FSH, AMPc e fluido folicular suíno. Decorrido este período, permaneceram por mais 24h, no mesmo meio, porém, sem hormônios e sem AMPc. A maturação nuclear foi avaliada com Hoeschst (Sigma® H33342), através de microscopia de epifluorescência. Foram classificados como maduros os oócitos em metáfase II (MII). Os dados foram comparados pelo teste qui-quadrado. A taxa de MII foi de 38% no controle (n=113), 23% no PZM-4m corado (n=91), 7% no PZM-4 não corado (n=42), 24% no PBS corado (n=82) e 19% no PBS não corado (n=60). Os resultados mostram que os meios testados podem ser utilizados para coloração com BCB. A taxa de MIV no grupo PZM-4m não corado foi inferior ao controle (P<0,05). Esses resultados preliminares mostram que o BCB aliado ao meio PZM-4m e um período de exposição de 60 minutos, podem ser usados na seleção de estruturas mais competentes visando a produção *in vitro* de embriões suínos. Visando a confirmação da informação serão realizadas mais repetições.