

SBTE 190 EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISILOGIA DA REPRODUÇÃO

**Efeitos da pré-maturação *in vitro* de oócitos bovinos com moduladores de AMPc sobre a progressão nuclear****N.Z. Saraiva<sup>1</sup>; C. Oliveira<sup>2</sup>; M. Del Collado<sup>1</sup>; M.R Lima<sup>1</sup>; M.H. Cruz<sup>1</sup>; R. Vantini<sup>1</sup>; J.M. Garcia<sup>1</sup>**<sup>1</sup>.UNESP - FCAV, Jaboticabal, SP, Brasil; <sup>2</sup>.EMBRAPA Gado de Leite - CESM, Valença, RJ, Brasil.**Palavras-chave:** pré-maturação; oócitos; AMPc.

A maturação de oócitos é um procedimento chave na PIV de embriões, tendo reflexos diretos no desenvolvimento embrionário. Uma abordagem recente e promissora é a utilização de ativadores da enzima adenilato ciclase (AC) e de inibidores de fosfodiesterases (PDEs) (ALBUZ *et al.*, Hum. Reprod., 25(12): 2999, 2010), visando a altos níveis de AMPc para manutenção do bloqueio meiótico durante a chamada pré-maturação. O presente estudo objetivou avaliar a progressão meiótica após indução da pré-maturação de oócitos bovinos com agentes moduladores de AMPc, em meio de maturação *in vitro* (MIV) livre de SFB. Os oócitos foram cultivados em meio TCM 199 suplementado com 6 mg/mL de BSA, 1,0 µg/mL de FSH, 50 µg/mL de hCG, 1,0 µg/mL de estradiol, 0,20 mM de piruvato sódico e 83,4 µg/mL de amicacina. Nos grupos tratados, foram acrescentados 100 µM (T100) ou 150 µM (T150) de forskolin (ativadora da AC) e 750 µM de IBMX (inibidor de PDE não-específico) nas primeiras 2 h de cultivo. Posteriormente, os oócitos foram transferidos para meio base MIV suplementado com 20 µM de cilostamide (inibidor de PDE oócito-específico) em grupos de 15-20, em estufa a 38,5°C e atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> em ar. Amostras foram obtidas com 20, 24 e 28 h de maturação e exposição aos tratamentos, sendo os oócitos desnudados em hialuronidase (2mg/mL), corados com 10µg/mL de Hoechst 33342 durante 15 minutos e avaliados quanto à progressão nuclear. Foram realizadas três repetições, sendo as taxas de maturação nuclear avaliadas pelo teste do Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) ou, quando apropriado, pelo teste exato de Fisher, no programa SAS v.8.2. Na avaliação inicial após 20 h de MIV, embora o grupo controle tenha apresentado 82,6% dos oócitos (57/69) em metáfase II com extrusão do 1º corpúsculo polar, taxas inferiores ( $p<0,05$ ) foram observadas nos grupos T100 (26/84 – 30,9%) e T150 (23/79 – 29,1%), que por sua vez, não diferiram entre si. Após 24 h de MIV, taxas inferiores de maturação também foram observadas nos grupos tratados (controle: 68/77 – 88,3%; T100: 57/83 – 68,7%; T150: 56/89 – 62,9%). Porém, após 28 h de MIV, os resultados foram similares ( $p>0,05$ ) entre todos os grupos (controle: 51/56 – 91,1%; T100: 65/78 – 83,3%; T150: 62/69 – 89,8%). Assim, conclui-se que a utilização dos agentes modulares de AMPc levou à atenuação da progressão nuclear durante a MIV, de forma semelhante entre as concentrações 100 e 150 µM de forskolin. Apesar da atenuação provocada por esses moduladores, taxas satisfatórias de maturação nuclear foram obtidas após 28 h de MIV e isso provavelmente se refletirá no momento ideal para a fecundação *in vitro* dos oócitos. Sugere-se a avaliação da ação desse sistema de pré-maturação sobre o desenvolvimento embrionário, para melhor caracterização dos possíveis benefícios provocados pelos maiores níveis de AMPc e atenuação da progressão nuclear durante o processo de maturação.

**Apoio financeiro:** FAPESP 2010/20744-6 e 2011/12983-3.