

CARRIJO; Sophia Silva ¹, FERNANDES; Hugo ², SCHEFER; Letícia ³, LEAL; Cláudia Lima Verde ⁴

RESUMO

Considerando a influência do estresse oxidativo e seus efeitos deletérios na produção de embriões *in vitro*, é fundamental estudar e desenvolver ferramentas para reduzir seus impactos. A melatonina (MEL), é uma indolamina sintetizada principalmente na pineal e com função na sazonalidade reprodutiva, mas também apresenta atividade antioxidante e antiapoptótica e atua sobre diferentes vias de sinalização celular. Em estudo anterior, a utilização da MEL durante a maturação *in vitro* (MIV) de oócitos bovinos em meio de maturação definido (sem adição de soro fetal bovino que contém MEL), mostrou-se capaz de estimular a retomada da meiose, mas não foi suficiente para promover a maturação final até metáfase II (MII). O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da utilização de MEL associada a diferentes combinações de gonadotrofinas na taxa de maturação nuclear de oócitos bovinos maturados *in vitro* e na também na atividade mitocondrial a fim de definir o melhor suporte para a MIV. Adicionalmente, o efeito sobre a expressão de enzimas antioxidantes em células do cumulus (CC) também foi determinado. O experimento foi realizado no Laboratório de Morfofisiologia e Desenvolvimento Molecular (LMMD) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP). Os oócitos foram obtidos post-mortem de ovários de fêmeas bovinas de matadouros comerciais. Os meios MIV foram suplementados com MEL (10^{-10} a 10^{-9} M) em associação com gonadotrofinas por 22-24 horas: 1) FSH (0,5 µL/mL); 2) FSH + LH (1 µL/mL); 3) FSH + MEL; 4) FSH + LH + MEL. Os oócitos foram avaliados por microscopia de epifluorescência quanto à progressão da meiose (% de MII após coloração com ProLong™ com DAPI [13 µL; P36962, Invitrogen]) e atividade mitocondrial (intensidade de fluorescência após coloração com MitoTracker® Orange [250 nM; M710, Invitrogen] por 30 minutos) e as respectivas CC analisadas por PCR para abundância de transcritos para as enzimas antioxidantes SOD1 e SOD2. As análises estatísticas foram realizadas com o programa SigmaPlot 12.0. Para mostrar as diferenças entre os tratamentos foi assumido um nível de significância de 5%. Todos os experimentos foram realizados em pelo menos três repetições. O presente estudo não mostrou diferenças significativas ($p>0,05$) no efeito da combinação de MEL e gonadotrofinas na maturação nuclear (67,19 a 81,16% de MII), atividade mitocondrial (19,72 a 26,84 unidades arbitrárias de intensidade de fluorescência) e abundância relativa de transcritos de mRNA de SOD1 e SOD2, em comparação ao controle (FSH), após 22-24 horas de cultivo. Em conclusão, a associação de MEL e gonadotrofinas durante a MIV não proporcionou efeitos positivos sobre os parâmetros de avaliados nos oócitos (maturação nuclear e atividade mitocondrial) e nas CC (expressão de genes para enzimas antioxidantes).

PALAVRAS-CHAVE: Melhoramento genético e reprodução animal, antioxidante, embriões, estresse oxidativo, produção *in vitro*

¹ Graduanda em Zootecnia - FZEA/USP, sophia.carrijo@usp.br

² Doutor em Biociência Animal - FZEA/USP,

³ Mestre em Biociência Animal - FZEA/USP,

⁴ Professora Doutora - FZEA/USP, clvleal@usp.br