



Melhoria no desenvolvimento inicial do folículo antral e modulação na expressão gênica em complexos *cumulus*-oócitos bovinos pelo uso da gonadotrofina coriônica equina antes da aspiração folicular

Asafe Costa Lopes¹, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes², Felipe Costa Gonçalves², Jessica Ruiz Pereira², João Paulo de Andrade Guimarães², Anthony César de Souza Castilho³, Ester Siqueira Caixeta¹

¹ Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL - MG), Alfenas, MG, Brasil

² Departamento de reprodução animal, Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, MG, Brasil

³ Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil

asafe.lopes@sou.unifal-mg.edu.br

Resumo: O presente estudo avaliou a resposta ovariana ao estímulo com Gonadotrofina Coriônica equina (eCG) antes da aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU) e seus efeitos no fenótipo molecular de complexos *cumulus*-oócitos (COCs) imaturos de vacas Nelore. Vinte doadoras da raça Nelore foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: 1) Doadoras sincronizadas (Sync-OPU) e 2) Doadoras sincronizadas e estimuladas com eCG (Sync+eCG-OPU), usando um desenho experimental de *crossing over*, no qual cada vaca passou pelos dois tratamentos. Em um dia aleatório do ciclo estral (Dia 0), todos os animais receberam um implante intravaginal com 1,0g de progesterona (P4) e 2mg de benzoato de estradiol intramuscular. No Dia 3 pela manhã, apenas o grupo Sync+eCG-OPU recebeu 400UI de eCG intramuscular. No Dia 5 pela manhã, o implante de P4 foi removido e a OPU foi realizada nos dois grupos. Antes da OPU, os folículos foram identificados e mensurados por ultrassonografia. Os COCs aspirados foram morfológicamente classificados, baseado nas camadas de células do *cumulus* (CC) e textura do citoplasma. Os COCs classificados como graus 1, 2 e 3 foram considerados viáveis e utilizados para a análise dos marcadores de qualidade. Os oócitos e as CC foram mecanicamente separados a partir de *pools* de 25 COCs imaturos dos grupos Sync-OPU e Sync+eCG-OPU e estocados à -80°C até a extração de RNA. A quantificação relativa de vários marcadores de qualidade oocitária foi avaliada por RT-qPCR. O tratamento com eCG aumentou ($P<0,05$) o número de folículos de 3,0-5,0mm ($16,9 \pm 1,2$ vs $10,7 \pm 0,9$) e $>5,0$ mm ($12,6 \pm 0,6$ vs $7,2 \pm 0,4$) comparado com o grupo Sync-OPU. Além disso, o protocolo com eCG aumentou ($P<0,05$) o número total de oócitos ($33,2 \pm 2,3$ vs $26,1 \pm 2,2$) e o número de oócitos viáveis ($20,9 \pm 2,1$ vs $16,3 \pm 1,7$) recuperados após a OPU. Em relação ao impacto na regulação da transcrição em oócitos imaturos, os mRNAs que codificam a BMP15, SMAD1, SMAD2, SMAD3, ACACA e CPT1A foram mais abundantes ($P<0,05$) no grupo estimulado com eCG em comparação com o grupo Sync-OPU. Interessantemente, a abundância relativa de mRNA da CTSZ, um membro da família das catepsinas relacionado a uma baixa competência oocitária, foi menor ($P<0,05$) no grupo Sync+eCG-OPU em comparação ao grupo Sync-OPU. Além disso, a abundância de RNAm da CTSB, CTSS e CTSK nas CC foi menor ($P<0,05$) no grupo Sync+eCG-OPU quando comparado ao grupo Sync-OPU. No entanto, a abundância de RNAm de AREG e EREG foi maior ($P<0,05$) nas CC recuperadas de vacas estimuladas com eCG. Em conclusão, o uso do eCG antes da OPU visando a estimulação folicular em vacas Nelore teve um impacto positivo no desenvolvimento inicial do folículo antral, seguido por um fenótipo morfológico e molecular positivo em COCs bovinos.

Palavras-chave: Gonadotrofina Coriônica Equina; *Ovum pick-up*; Ovário; Gado; Nelore.

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Número do Subsídio: 420581/2016-2; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, Número do Subsídio: APQ-02103-17; Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001.