

ATIVAÇÃO PARTENOGENÉTICA DE OÓCITOS HUMANOS E BOVINOS PARA DERIVAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO EMBRIONÁRIAS

Rafael Ruggeri¹, Norma Pagnoncelli Oliveira², José Luiz Rodrigues¹, Adriana Bos-Mikich³

¹Laboratório de Embriologia e Biotécnicas de Reprodução da Faculdade de Veterinária, UFRGS

²Centro de Pesquisa e Reprodução Humana Nilo Frantz, Porto Alegre.

³Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, UFRGS



Introdução:

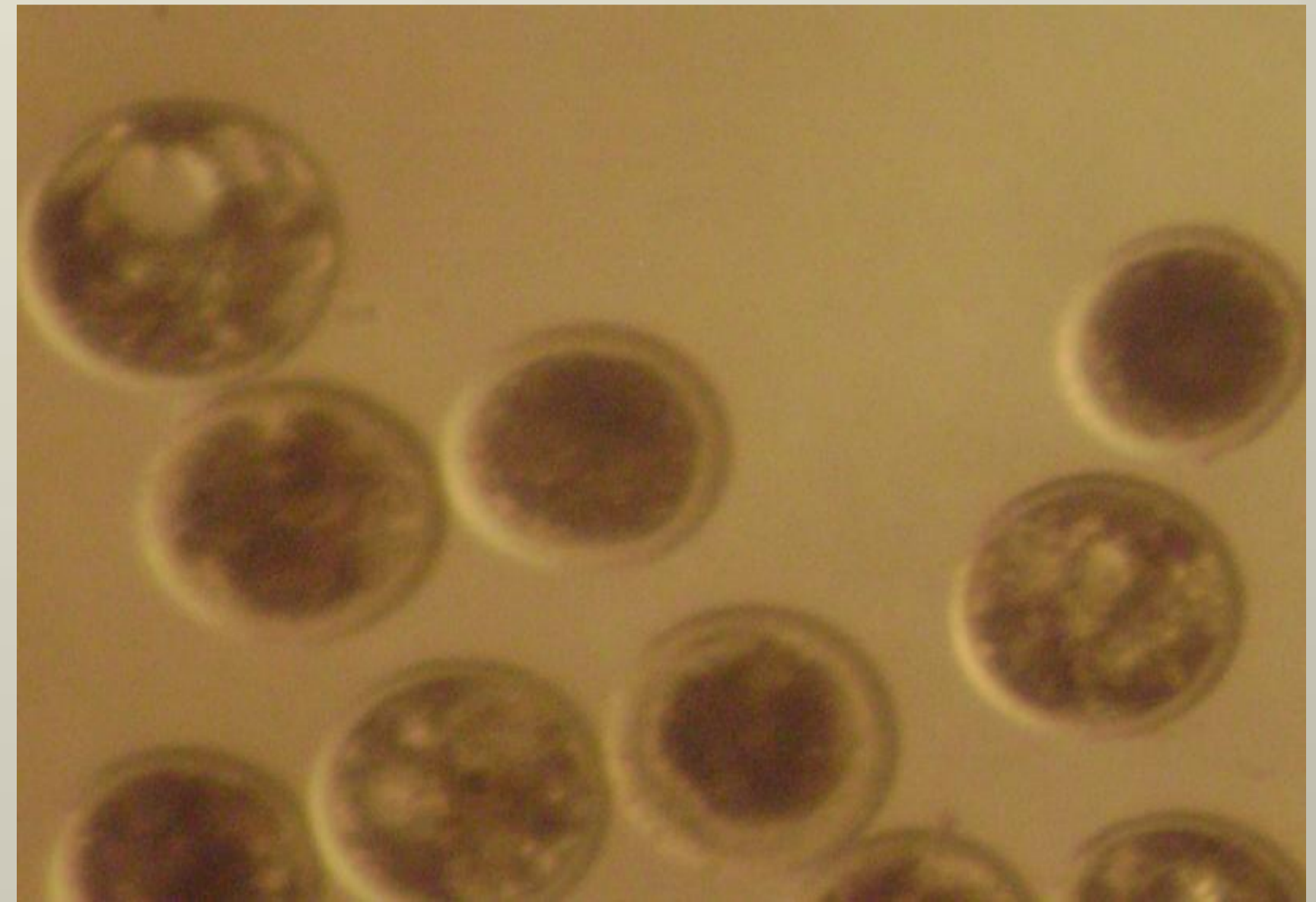
A ativação partenogenética de oócitos humanos imaturos ou não fertilizados é de interesse para obtenção de células-tronco embrionárias (CTE). Partenotes humanos geram todos tecidos embrionários evitando problemas éticos. Poucos estudos dedicaram-se a ativação partenogenética de oócitos humanos. Assim, oócitos bovinos servem como um bom modelo experimental para extrapolação de resultados aos humanos.

Objetivo:

Objetivo do projeto é determinar a forma mais eficiente de ativação partenogenética dos oócitos bovinos e humanos e avaliar a resposta dos blastocistos partenotes que serão cultivados em diferentes substratos como as nanofibras e a fibronectina pura para derivação de CTE.

Materiais e Métodos:

Oócitos bovinos foram aspirados de ovários de abatedouro e maturados por 24 horas em TCM 199. Oócitos humanos foram maturados *in vitro* e os maduros que não fertilizaram foram encaminhados à ativação. As ativações com oócitos bovinos foram realizadas em duas etapas. Na primeira, oócitos bovinos foram expostos ao SrCl₂ por 4, 8 e 20hrs. Havendo maior taxa de desenvolvimento no grupo de 20 hrs, comparou-se a ativação de SrCl₂ 20Hrs, com o tratamento Ionoforo de Ca²⁺ e 6-DMAP. Oócitos ativados foram cultivados em meio SOF e avaliados às 48 e 168hrs. Paralelamente, oócitos humanos foram ativados por 4 e 22 hrs em SrCl₂ e cultivados até parada do desenvolvimento.



Blastocistos partenotes bovinos

Resultados:

Em bovinos, 20hrs de ativação com SrCl₂ resultou em clivagem de 26.3%, sem blastocistos. Tratamento combinado de Ionoforo de Ca²⁺ e 6-DMAP resultou em 79% clivagem e 19.7% de blastocistos. Oócitos humanos em SrCl₂ resultou 15.2 % de ativação, em ambos período.

| Tabela de resultados dos diferentes períodos de ativação pelo Estrôncio | | | |
|---|---------|-----------|-----------|
| | 4 horas | 8 horas | 20 horas |
| Número de Rotinas | 3 | 4 | 4 |
| Nº de expostos ao Sr | 38 | 44 | 57 |
| Nº Clivagem (%) | 1 (2,6) | 7 (15,9) | 15 (26,3) |
| Nº de Mórulas (%) | | | 2 (3,5) |
| Nº de blastocistos | | | |

| Tabela de resultados entre Estrôncio e diferentes períodos de ativação com 6-DMAP | | | |
|---|-----------|-----------|-------------|
| | Sr 20h | 6-DMAP 3h | 6-DMAP 3,5H |
| Número de Rotinas | 3 | 3 | 4 |
| Nº de expostos ao Sr | 35 | 95 | 67 |
| Nº Clivagem (%) | 11 (31,4) | 45 (47) | 52 (77,6) |
| Nº de Mórulas (%) | 3 (8) | | |
| Nº de blastocistos | | 1 | 12 (17,9) |

Conclusões:

A ativação dos oócitos bovinos foi mais eficiente utilizando-se o Ionoforo de Ca²⁺ e 6-DMAP em comparação à ativação com SrCl₂. Resultados indicam que o tratamento com Ionoforo de Ca²⁺ e 6-DMAP deve melhorar índices de ativação de oócitos humanos.