



Identificação de Sirt1 e Sirt2 em complexos oócitos-cumulus submetidos ao estresse térmico durante a maturação *in vitro*

Gheller, J. M.*¹; Souza-Cáceres, M.B.²; Ribeiro-Ferreira, M.G.C.¹; Ortiz, G.L.¹; Lima, A.C.B.¹; Cardoso, C.J.T.¹; Poehland, R.³; Melo-Sterza, F. A¹.

¹Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campus de Aquidauana, MS, Brasil

²Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil

³Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Alemanha.

*janainagheller@hotmail.com

Apesar dos efeitos negativos do estresse térmico sobre a reprodução de bovinos serem bem conhecidos, os mecanismos celulares envolvidos em sua termo regulação ainda não são bem compreendidos. As sirtuínas são enzimas que processam a desacetilação de histonas e provavelmente estão relacionadas com envelhecimento celular, regulação da transcrição, apoptose e resistência ao estresse. As sirtuínas participam de um mecanismo retroalimentação permitindo que células estressadas permaneçam viáveis por mais tempo. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi identificar a presença de Sirt1 e Sirt2 em complexos cumulus-oócitos (COCs) submetidos ao estresse térmico *in vitro*. Para isso, COCs bovinos foram obtidos por meio da aspiração folicular de ovários, de fêmeas da raça Nelore, provenientes de abatedouro local. Foram selecionados apenas COCs de grau 1 e 2, os quais foram maturados durante 24 horas em estufa com 5% de CO₂, 5% de O₂ e 90% de N₂, umidade máxima e em diferentes temperaturas, sendo 37 ° C, 38,5 ° C e 40°C. Após o período destinado à maturação *in vitro* os COCs foram avaliados para confirmação da expulsão do corpúsculo polar. Os COCs maduros foram submetidos a técnica de imunofluorescência, sendo utilizados anticorpos para Sirt1 e Sirt2. As estruturas marcadas nessa técnica foram analisadas em Microscópio Confocal LSM 5 Pascal. A distribuição e as intensidades da coloração por fluorescência foram analisadas em oócitos e células cumulus individualmente com auxílio do Software Image J. A normalidade dos dados foi identificada pelo teste de Shapiro-Wilk e então foi realizado o teste ANOVA. Quando encontrada diferença significativa, foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade (Programa R versão 3.3.1). Foi observada maior intensidade de sinal de Sirt1 tanto em oócitos quanto em células cumulus maturados em temperatura de 40°C e 37°C, quando comparados ao grupo controle (38,5°C), demonstrando que essa proteína atua durante o estresse térmico pelo calor e pelo frio. Em relação a Sirt2, foi observada maior intensidade de sinal em oócitos e células do cumulus maturados a 40°C, quando comparados ao grupo controle. COCs maturados a 37°C apresentaram maior intensidade de sinal de Sirt2 nas células do cumulus do que nos oócitos, diferentes de todos os demais resultados. Esses resultados sugerem que as sirtuínas Sirt1 e Sirt2 estão relacionadas a resposta ao estresse térmico crônico ao qual os COCs foram submetidos durante a maturação. No entanto, o comportamento diferente das proteínas identificadas em oócitos e células cumulus nas diferentes temperaturas, demonstram que suas vias de ação podem ser diferentes.

Palavras-chave: chaperona, termo regulação, fluorescência, bovinos