



28 e 29 de setembro de 2017
Aquidauana, MS



Identificação de HSP70 e HSP90 por Western Blot em complexos cumulus-oócitos maturados *in vitro* em diferentes temperaturas

Gheller, J. M.^{*1}; Souza-Cáceres, M.B.²; Silva, W.A.L.³; Cardoso, C.J.T.³; Silva, R.F.¹; Soares, V.S.¹; Poehland, R.⁴; Melo-Sterza, F. A.¹.

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

²Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil

³Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil

⁴Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Dummerstorf, Alemanha.

* janainagheller@hotmail.com

Os efeitos das altas temperaturas na reprodução animal são conhecidos, no entanto a maior problemática encontra-se na compreensão de mecanismos celulares utilizados pelos animais nessas situações. A resposta ao estresse compreende a atuação de proteínas denominadas proteínas de choque térmico (Hsp), representando respostas primárias de proteção celular. Elas fazem parte da família das proteínas chaperonas, que interagem com outras proteínas, auxiliando na formação, dobramento e transporte trans-membrana. Merecem destaque nessa família a Hsp70 que é responsável pela proteção das células a temperaturas elevadas e a Hsp90 que atua na maturação de proteínas, sendo importante para diversos processos celulares tais quais sinalização, proteostase, epigenética, manutenção do telomero e outros. O objetivo desse trabalho foi identificar as HSPs em complexos oócitos-cumulus (COCs) de *Bos indicus* submetidos ao estresse térmico *in vitro*. Os COCs bovinos foram obtidos por meio da aspiração folicular de ovários provenientes de abatedouro local. COCs de grau 1 e 2 foram maturados durante 24 horas em estufa com 5% CO₂, 5% O₂ e 90% N₂, umidade máxima e em diferentes temperaturas, sendo 37 °C e 40°C os grupos estressados e 38,5°C o grupo controle. Após o período destinado à maturação *in vitro* os COCs foram avaliados para confirmação da expulsão do corpúsculo polar. Os COCs foram desnudados e oócitos e células cumulus foram armazenados separadamente a -80°C em tampão fosfato salino (PBS) até a análise de Western Blot, e a intensidade das bandas foi mensurada em pixels pelo programa 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). A intensidade das bandas de HSP70 aumentou ligeiramente ($p \leq 0,05$) nos oócitos tanto em temperaturas baixas (37°C) quanto em temperaturas altas (40°C). As células do cumulus apresentaram maior intensidade de sinal à temperatura elevada, demonstrando que houve resposta do cumulus ao estresse térmico, o que provavelmente desempenhou o papel de proteção aos oócitos. A intensidade das bandas de HSP90 diminuiu nas células do cumulus com o aumento da temperatura de maturação ($p \leq 0,05$). Por outro lado, houve aumento da intensidade das bandas quando oócitos e cumulus maturados a 37°C foram avaliados. Conclui-se que a HSP70 esta mais expressa em oócitos e cumulus submetidos à estresse térmico por frio ou calor, demonstrando a importância dessa proteína durante o estresse térmico. Além disso, provavelmente a HSP90 não seja uma proteína relacionada somente a resposta ao estresse térmico, e pode estar sendo expressa e utilizada por outros eventos celulares que estão acontecendo ao mesmo tempo.

Palavras-chave: estresse térmico, heat shock protein, maturação *in vitro*