



ELABORAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO CONTENDO FSH, EGF E GDF-9 PARA O DESENVOLVIMENTO *in vitro* DE FOLÍCULOS PRÉ-ANTRAIS EQUINOS

Larissa Zamparone Bergamo^{1*}, Camila Bizarro da Siva¹, Camila Bortoliero Costa¹,
Andressa Guidugli Lindquist¹, Marcela Bortoletto Cerezetti¹, Elena Castellani¹, Ana
Clara Canto Souza¹, Marcelo Marcondes Seneda¹

Universidade Estadual de Londrina; Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal. *E-mail: larissabergamo1@hotmail.com.

As gonadotrofinas e fatores de crescimento têm um papel importante na regulação da função ovariana, desta forma torna-se essencial o desenvolvimento de um sistema eficiente de cultivo *in vitro* de folículos ovarianos, capaz de permitir o desenvolvimento e a completa maturação dos oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais. O objetivo deste trabalho foi comparar a adição de 100 ng/mL de um hormônio gonadotrófico (FSH) e dois fatores de crescimento (EGF e GDF-9) no meio de cultivo de folículos ovarianos durante 6 dias, sobre o desenvolvimento de folículos pré-antrais inclusos em fragmentos ovarianos equinos. Ovários (n=38) de 19 éguas, sem raça definida, foram coletados em abatedouro local. Fragmentos (n=2) de tecido ovariano com aproximadamente 3x3x1 mm foram obtidos de cada animal. Um fragmento foi imediatamente fixado (fixador de Bouin) e processado para análise histológica caracterizando o grupo controle (D0), o segundo fragmento foi colocado em MEM® (Gibco BRL, Rockville, MD, USA; osmolaridade 300 mOsm/L, pH 7,2) suplementado com penicilina (200 UI/mL) e estreptomicina (200 mg/mL) a 20°C, permanecendo por 1 hora (período de transporte até o laboratório). Este fragmento foi cultivado *in vitro* durante 6 dias (D6) em MEM⁺ acrescido de 100 ng/mL de FSH, EGF e GDF-9, caracterizando os grupos tratados, e posteriormente fixados e processados, assim como o grupo controle. Os folículos pré-antrais foram avaliados por microscopia óptica e classificados de acordo com a fase de desenvolvimento (primordial ou em desenvolvimento). Apenas os folículos classificados em fase de desenvolvimento foram considerados na análise estatística. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Quando comparamos o grupo controle (D0) com os grupos tratados, após 6 dias de cultivo, podemos observar uma diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). A porcentagem média de folículos em desenvolvimento no grupo controle foi de 17% (43/260) e os grupos tratados FSH 36% (53/146), EGF 52% (76/146) e GDF-9 1,3% (2/146). Ao comparar os tratamentos entre si, observamos diferenças entre o grupo GDF-9 (1,3%; 2/146) com os grupos tratados FSH (36%; 53/146) e EGF (52%; 76/146). Isso possivelmente ocorreu devido à baixa densidade folicular encontrada neste grupo. A espécie equina apresenta particularidades na anatomia ovariana, como por exemplo, a presença da fossa ovulatória, densidade e localização dos folículos pré-antrais comparada com outras espécies. Desta maneira, concluímos que a adição de 100 ng/mL de FSH e EGF por 6 dias, ao meio de cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais equinos foi tão eficiente, em promover o desenvolvimento e manter a integridade folicular, quanto o grupo controle que representa as condições *in vivo* dos animais.

Palavras-chave: Cultivo de folículos. Foliculogênese. Reprodução Animal.

Fonte de Financiamento: bolsa CAPES.