

Expressão da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) em embriões bovinos produzidos *in vitro*. Resultados preliminares

Cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by *in vitro* produced bovine embryos. Preliminary results

Rosa M. Pereira^{1*}, Jorge Pimenta², Jorg D. Becker³, Maria C. Baptista¹, Maria I. Vasques¹,
António E. Horta¹, Carla C. Marques¹

¹ Departamento de Reprodução Animal e ² Departamento de Genética e Melhoramento Animal, Estação Zootécnica Nacional – INIAP, 2005-048 Vale de Santarém, Portugal.

³ Affymetrix Core Facility, Instituto Gulbenkian de Ciência, R. Quinta Grande, nº 6, 2780-156 Oeiras, Portugal.

Resumo: Neste estudo foi investigada a expressão das duas isoformas do enzima ciclo-oxigenase, ciclo-oxigenase-1 (COX-1) e ciclo-oxigenase-2 (COX-2), em embriões bovinos produzidos *in vitro*. Os óocitos, aspirados de ovários provenientes do matadouro, foram maturados e fertilizados *in vitro* e os presumíveis zigotos cultivados em monocamadas de células da granulosa com TCM199+10% de soro de vaca superovulada em cio durante 12 dias. Procedeu-se à extração e RT-PCR (Reverse transcriptase-Polymerase chain reaction ou Transcriptase reversa-Reacção em cadeia da polimerase) do RNA de embriões nos estádios de blastócisto expandido (n=30) e eclodido (n=16). Utilizaram-se iniciadores específicos para o COX-1 e COX-2, assim como para a β -actina bovina, que constituiu o controlo positivo. O produto amplificado foi avaliado num Agilent Bioanalyzer. A taxa de embriões produzidos foi de $33,7 \pm 4,0$ % e a taxa de embriões eclodidos de $59,6 \pm 6,8$ %. Estes embriões no estádio de blastócito eclodido expressavam a COX-2, mas não a COX-1, enquanto que no estádio de blastócito expandido não foi identificada a expressão de nenhuma das enzimas. A β -actina foi expressa em ambos os estádios. Os presentes resultados demonstram que os embriões bovinos produzidos *in vitro* expressam a COX-2 apontando para a importância da via metabólica do ácido araquidónico no desenvolvimento embrionário preimplantatório.

Palavras chave: COX-2, embriões, *in vitro*, bovinos

Summary: Expression of the two isoforms of cyclooxygenase enzyme, cyclooxygenase-1 (COX-1) and cyclooxygenase-2 (COX-2), by *in vitro* produced bovine embryos was examined. Cumulus-oocyte complexes were recovered from ovaries of slaughtered animals and subsequently *in vitro* matured and *in vitro* fertilized. Presumptive zygotes were cultured in serum containing medium (TCM 199+10% bovine superovulated oestrus serum) on a granulosa cell monolayer for 12 days. RNA from expanded (n=30) and hatched (n=16) blastocysts were extracted and transcribed by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Specific primers either for COX-1 and COX-2 or for positive control bovine β -actin were used. Amplified product was evaluated on an Agilent Bioanalyzer. Embryo production and hatched rates were $33.7 \pm 4.0\%$ and $59.6 \pm 6.8\%$, respectively. COX-2 but not COX-1 was expressed in hatched embryos.

None of the enzyme isoforms were expressed at the expanded blastocyst stage, while bovine β -actin was expressed at both stages of embryo development. The results presented indicate that COX-2 is expressed by *in vitro* produced bovine embryos, emphasizing the importance of the arachidonic acid metabolic pathway on the development of preimplantation embryos.

Key words: COX-2, embryos, *in vitro*, bovine

*Correspondência: email: rosaln@hotmai.com Fax: 351 243 767 307; Telefone: 351 243 767 316.