

Efeitos da adição de precursor e de produto da enzima SCD1 durante a maturação in vitro de oócitos bovinos no desenvolvimento pré-implantacional

Alexandre Marcos de Melo⁽¹⁾⁽⁵⁾, Carolina Capobiango Romano Quintão⁽²⁾, Clara Slade Oliveira⁽²⁾, Luiza Bastos Guimaraães⁽³⁾ e Naiara Zoccal Saraiva⁽⁴⁾

⁽¹⁾Bolsista (Pibic/CNPq.), Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽²⁾Analista, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, ⁽³⁾Estudante de graduação, Centro Universitário Uniacademia, Juiz de Fora, MG. ⁽⁴⁾Pesquisadora, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. ⁽⁵⁾E-mail: alexandremelo.cb@gmail.com.

Resumo — A estearoil-CoA dessaturase-1 (SCD1) é crucial no metabolismo lipídico, sintetizando ácidos graxos monoinsaturados a partir de ácidos graxos saturados. Recentemente, sua influência na competência oocitária e no desenvolvimento embrionário bovino foi destacada. Este estudo investigou a modulação da enzima SCD1 na maturação in vitro (MIV) de oócitos bovinos, focando na síntese de ácido oleico (18:1n-9). Oócitos de ovários de abatedouro foram submetidos à MIV com ácido esteárico e ácido oleico em diferentes concentrações, fecundados e cultivados in vitro a 38,5 °C e 5% de CO₂ por 7 dias. Os resultados indicaram que a adição de ácido esteárico, precursor da SCD1, nas concentrações 25 µM ou 50 µM, não prejudicou o desenvolvimento embrionário, enquanto a adição de ácido oleico, produto de ação da enzima, mostrou um efeito positivo, especialmente em concentrações mais altas (200 µM). Esses achados sugerem que a enzima SCD1, principalmente por meio de seu produto, que neste estudo foi o ácido oleico, pode contribuir para o desenvolvimento embrionário, sinalizando para a importância dessa via metabólica em bovinos.

Termos para indexação: ácido oleico, ácido esteárico, competência oocitária, desenvolvimento embrionário, estearoil-CoA dessaturase-1.

Effects of adding SCD1 enzyme precursor and product during in vitro maturation of bovine oocytes on pre-implantation development

Abstract — Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) is crucial in lipid metabolism, synthesizing monounsaturated fatty acids from saturated fatty acids. Recently, its influence on oocyte competence and bovine embryonic development has been highlighted. This study investigated the modulation of the SCD1 enzyme during the in vitro maturation (IVM) of bovine oocytes, focusing on the synthesis of oleic acid (18:1n-9). Oocytes from slaughterhouse ovaries were subjected to IVM with stearic acid and oleic acid at different concentrations, fertilized, and cultured in vitro at 38.5 °C and 5% CO₂ for 7 days. The results indicated that the addition of stearic acid, an SCD1 precursor, at concentrations of 25 or 50 µM did not impair embryonic development, while the addition of oleic acid, the enzyme's product, showed a positive effect, especially at higher concentrations (200 µM). These findings suggest that the SCD1 enzyme, primarily through its product oleic acid, may contribute to embryonic development, highlighting the importance of this metabolic pathway in cattle.

Index terms: oleic acid, stearic acid, oocyte competence, embryo development, stearoyl-CoA desaturase-1.

Introdução

A esteroil-CoA dessaturase-1 (SCD1) é uma enzima crucial no metabolismo lipídico, sendo responsável pela síntese de ácidos graxos monoinsaturados a partir de ácidos graxos saturados. Sua função é essencial na regulação do metabolismo energético, homeostase da glicose, resistência à insulina, adiposidade e esteatose hepática. Recentemente, estudos têm demonstrado a importância da SCD1 na competência oocitária e no desenvolvimento embrionário em bovinos (Aardema et al., 2017). A SCD1 catalisa a introdução de uma dupla ligação cis- Δ^9 entre os carbonos 9 e 10 dos ácidos graxos saturados, convertendo-os em ácidos graxos monoinsaturados, como ácido oleico (18:1n-9, a partir de ácido esteárico (18:0) (Flowers; Ntambi, 2008). Inclusive, estudos sugerem que a inibição seletiva da SCD1 pode ser uma estratégia promissora no tratamento de doenças metabólicas, uma vez que a inibição dessa enzima pode aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir o armazenamento de gordura (Matsuzaka et al., 2007).

Em relação à reprodução, a SCD1 tem se mostrado importante para a competência dos oócitos e o desenvolvimento embrionário em diferentes espécies. A supressão da atividade da SCD1, em camundongos, resultou na interrupção do desenvolvimento embrionário e redução na formação de blastocistos (Niu et al., 2023). Em humanos, a diminuição da expressão da SCD1 levou à redução da viabilidade e aumento de apoptose nas células do cumulus, células estas que protegem o oócito contra os efeitos prejudiciais da lipotoxicidade (Fayez et al., 2018). Essas descobertas ressaltam a importância da SCD1 na reprodução, justificando a necessidade de estudos para entender melhor seu papel na competência oocitária e para o desenvolvimento do embrião.

Este estudo objetivou desenvolver estratégias de maturação *in vitro* (MIV) para aumentar a biodisponibilidade de ácidos graxos insaturados em oócitos e embriões bovinos, visando entender melhor a atividade da SCD1 no desenvolvimento embrionário inicial dessa espécie.

As informações contidas nesse documento contribuem para o alcance do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) de números 8 (Empregos dignos e crescimento econômico: Promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos).

Material e métodos

Para a realização dos experimentos, foram utilizados oócitos bovinos provenientes de ovários de animais abatidos. Folículos ovarianos com diâmetro entre 2 mm e 7 mm foram aspirados. O sedimento do fluido aspirado foi transferido para uma placa de Petri visando a seleção dos oócitos. Os oócitos foram então lavados em meio TCM-199 tamponado com bicarbonato de sódio e Hepes.

Os oócitos selecionados foram submetidos à MIV, utilizando meio base composto de TCM 199 tamponado com bicarbonato de sódio, suplementado com FSH, hCG, estradiol, piruvato sódico, amicacina e 8 mg/mL de BSA (livre de SFB). Para padronização das condições de MIV com substrato (ácido esteárico) e produto (ácido oleico) da enzima SCD1, foram estabelecidos os seguintes grupos: A – controle BSA 8 mg/mL; B – controle etanol (veículo de diluição das drogas); C – 25 μ M de ácido esteárico (AE); D – 50 μ M AE; E – 100 μ M de ácido oleico (AO); F – 200 μ M AO; G – meio controle laboratorial 10% SFB. Os oócitos foram cultivados em grupos de até 50 estruturas em 400 μ L de meio MIV, em placas de quatro poços, sem adição de óleo mineral, em estufa a 38,5 °C e atmosfera de 5% de CO₂ em ar por 24 horas.

Após a MIV por 24 horas, os oócitos de todos os grupos foram fecundados in vitro em meio TALP-FIV, suplementado com BSA, heparina, penicilamina, hipotaurina e epinefrina, por um período de até 24 horas. Em seguida, os prováveis zigotos foram lavados várias vezes, e o cultivo de desenvolvimento foi realizado em meio SOF modificado, suplementado com 1,5% de SFB e 6 mg/mL de BSA livre de ácidos graxos. Todas as estruturas foram mantidas em estufa a 38,5 °C e atmosfera de 5% de CO₂ em ar durante 7 dias, até atingirem o estágio de blastocisto (dia 0 = dia da fecundação). Foram cultivados entre 15 zigotos a 20 zigotos por microgota de 90 µL, em placas de poliestireno recobertas com óleo mineral. O meio de desenvolvimento foi parcialmente renovado no quarto dia de desenvolvimento embrionário. As taxas de clivagem e de produção de blastocistos foram verificadas após 48 horas e 7 dias da FIV. Análises estatísticas foram realizadas no GraphPad Prism 10, ao nível de significância de 5%, com proporções avaliadas pelo teste Qui-quadrado (χ^2).

Resultados e discussão

De acordo com a tabela 1, observamos que o grupo controle BSA apresentou uma taxa de clivagem de 81,5% e produção de blastocistos de 32,6%. Já o grupo etanol mostrou taxas de 78,9% de clivagem e 46,3% de produção de blastocistos, mostrando que não houve efeito tóxico do diluidor dos ácidos graxos utilizado no experimento.

As duas concentrações de ácido esteárico, 25 µM e 50 µM, não alteraram significativamente as taxas de clivagem e produção de blastocistos quando comparadas aos controles ($p > 0,05$). Porém, a adição de ácido oleico em alta concentração (200 µM) aumentou significativamente a taxa de blastocistos, indicando que a presença de ácidos graxos monoinsaturados favorece o desenvolvimento embrionário (Tabela 1).

Tabela 1. Valores referentes às taxas de clivagem e produção de blastocistos (D7) após MIV por 24 h em meio base contendo 8 mg/mL de BSA e ácido esteárico (AE) nas concentrações 25 e 50µM ou ácido oleico (AO) nas concentrações 100 e 200µM. Controle etanol (veículo de diluição dos ácidos graxos).

| Grupos | Embriões clivados n (%) | Blastocistos n (%) |
|-----------------|----------------------------|-----------------------------|
| Controle BSA | 75/92 (81,5) | 30/92 (32,6) ^{bc} |
| Controle etanol | 75/95 (78,9) | 44/95 (46,3) ^{ab} |
| 25µM AE | 83/110 (75,4) | 35/108 (32,4) ^c |
| 50µM AE | 56/76 (73,7) | 21/76 (27,6) ^c |
| 100µM AO | 67/89 (75,3) | 37/89 (41,6) ^{abc} |
| 200µM AO | 68/82 (82,9) | 42/82 (51,2) ^a |

^{a,b,c} Valores com sobrescritos diferentes entre linhas dentro de uma mesma coluna diferem entre si ($p < 0,05$, Qui-quadrado). Os percentuais de clivados e de blastocistos foram calculados pelo número total de oócitos.

Estes resultados confirmam a importância da SCD1 no desenvolvimento embrionário na espécie bovina, conforme sinalizado em estudos anteriores (Aardema et al., 2017; Fayezi et al., 2018). A SCD1 pode, portanto, ser uma enzima crítica para a maturação oocitária e subsequente competência para o desenvolvimento embrionário em bovinos.

Conclusões

A adição de ácido oleico durante a maturação in vitro de oócitos bovinos mostrou-se eficaz em melhorar a produção de blastocistos. Esses resultados destacam o papel essencial da SCD1 no desenvolvimento pré-implantacional, sugerindo que a modulação de

sua atividade pode ser uma estratégia promissora para otimizar os sistemas de produção in vitro de embriões bovinos.

Agradecimentos

À Embrapa Gado de Leite e ao CNPq, pela oportunidade da bolsa recebida por meio do Programa PIBIC, o que me proporcionou experiência e aprendizado; à pesquisadora Naiara Zoccal Saraiva pelo acompanhamento, orientação e apoio durante o período de estudos e treinamento; e à Fapemig (APQ 02041-22) pelo financiamento do projeto.

Referências

- AARDEMA, H.; VAN TOL, H. T. A.; WUBBOLTS, R. W.; BROUWERS, J. F. H. M.; GADELLA, B. M.; ROELEN, B. A. J. Stearoyl-CoA desaturase activity in bovine cumulus cells protects the oocyte against saturated fatty acid stress. **Biology of Reproduction**, v. 96, n. 5, p. 982-992, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.146159>.
- FAYEZI, S.; GHAFFARI NOVIN, M.; DARABI, M.; NOROUZIAN, M.; NOURI, M.; FARZADI, L.; DARABI, M. Primary culture of human cumulus cells requires stearyl-coenzyme a desaturase 1 activity for steroidogenesis and enhancing oocyte in vitro maturation. **Reproductive Sciences**, v. 25, n. 6, p. 844-853, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1177/1933719117698578>.
- FLOWERS, M. T.; NTAMBI, J. M. Role of stearyl-coenzyme A desaturase in regulating lipid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, v. 19, n. 3, p. 248-256, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1097%2FMOL.0b013e3282f9b54d>.
- MATSUZAKA, T.; SHIMANO, H.; YAHAGI, N.; KATO, T.; ATSUMI, A.; YAMAMOTO, T.; INOUE, N.; ISHIKAWA, M.; OKADA, S.; ISHIGAKI, N.; IWASAKI, H.; IWASAKI, Y.; KARASAWA, T.; KUMADAKI, S.; MATSUI, T.; SEKIYA, M.; OHASHI, K.; HASTY, A. H.; NAKAGAWA, Y.; TAKAHASHI, A.; SUZUKI, H.; YATOH, S.; SONE, H.; TOYOSHIMA, H.; OSUGA, J.; YAMADA, N. Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance. **Nature Medicine**, v. 13, n. 10, p. 1193-202, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm1662>.
- NIU, H.; LEI, A.; TIAN, H.; YAO, W.; LIU, Y.; LI, C.; AN, X.; CHEN, X.; ZHANG, Z.; WU, J.; YANG, M.; HUANG, J.; CHENG, F.; ZHAO, J.; HUA, J.; LIU, S.; LUO, J. Scd1 deficiency in early embryos affects blastocyst ICM formation through RPs-Mdm2-p53 pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, 1750, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24021750> .