

Desenvolvimento embrionário precoce e reconhecimento materno da gestação na égua: Análise proteômica do fluido uterino no 13º dia pós ovulação

INTRODUÇÃO

O estabelecimento e manutenção da gestação na égua são totalmente dependentes da comunicação materno-embriônica, durante o período pré-implantação. Entre 16% e 17% das gestações diagnosticadas no 15º dia pós-ovulação são perdidas entre os dias 15 e 35, portanto a prenhez precoce nas éguas é um período crítico considerável de perda embrionária. O equino está entre as espécies domésticas na qual o sinal do reconhecimento materno da prenhez (RMP) derivado do embrião ainda não foi identificado. Existem poucos estudos avaliando a interação materno-embriônica durante o RMP.

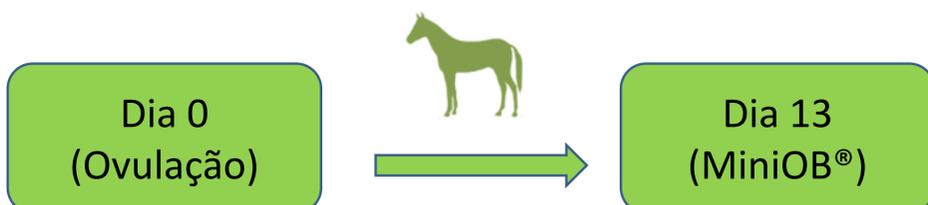
OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi o de identificar e analisar as proteínas do fluido uterino de éguas vazias e prenhas no 13º dia pós-ovulação, tentando estabelecer as possíveis funções de cada uma dessas proteínas no desenvolvimento embrionário precoce e no RMP.

MATERIAIS E MÉTODOS

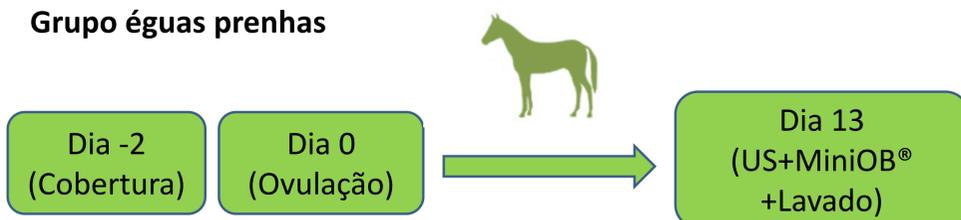
Foram induzidas ao estro 10 éguas com 5mg de PGF2 α e verificado por ultrassonografia (US) o dia da ovulação, tomado como dia 0 e coletado a amostra pelo método tampão (Mini OB[®]) no dia 13.

Grupo éguas vazias



No próximo ciclo o procedimento se repetiu, porém, com auxílio do US foi escolhido o momento da cobertura e acompanhado diariamente até a ovulação. No dia 13 foi realizado US para o diagnóstico de prenhez, coletado amostra (Mini OB[®]) e considerado do grupo éguas prenhas após recuperação embrionária por lavado bem sucedido.

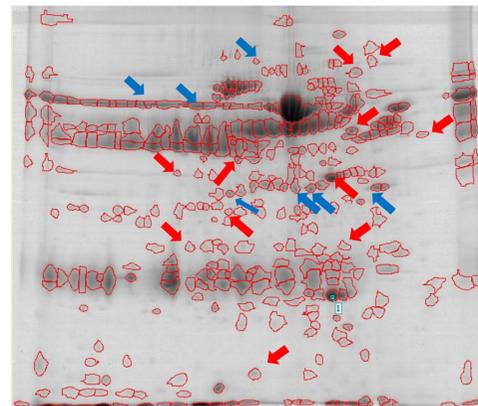
Grupo éguas prenhas



As amostras foram processadas através da técnica de eletroforese bidimensional, e a porcentagem relativa de pixels dos géis foi avaliada pelo ImageMaster Platinum[®] Software 7.0. A identificação das proteínas está sendo realizada por espectrometria de massa. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA para comparação entre grupos e verificação das diferenças e teste tukey para localizar as diferenças.

RESULTADOS

Égua Prenha



Égua Vazia

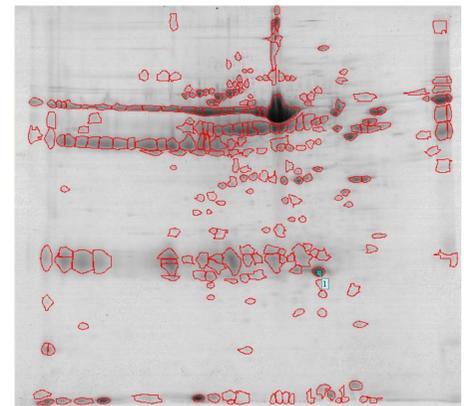


Figura 1: Gel de amostra de égua prenha, chamando atenção aos spots mandados para a identificação com a diferenciação da relatividade de pixels em comparação entre éguas prenhas e vazias.

Figura 2: Gel de amostra de égua vazia.

-  Spots com maior porcentagem relativa de pixels em éguas prenhas que em éguas vazias
-  Spots com menor porcentagem relativa de pixels em éguas prenhas que em éguas vazias

O total de spots encontrado em ambos os grupos foi de 490. Destes, encontramos correlação entre prenhas e vazias em 219 spots. E encontramos diferença significativa ($p < 0,05$) em 60 dentre os spots com repetibilidade. Foram selecionados em um primeiro momento 18 spots para a identificação.

CONCLUSÃO

O processo de reconhecimento materno da gestação na égua é composto por uma complexa e ainda não elucidada cascata de eventos, que envolve um grande número de proteínas. Esta análise exploratória elucidou inicialmente as diferenças globais de proteínas entre éguas vazias e prenhas, algumas delas podem estar correlacionadas com eventos importantes. No entanto é necessário que seja feita a identificação delas, para seu maior entendimento.

REFERÊNCIAS

- Blanchard TL, Varner DD, Schumacher J, Love CC, Brinsko SP, Rigby SL. (2003). Manual of equine reproduction. Ed. Fathman EN. Mosby. 2nd ed. St. Louis.
- O'Farrell PZ, Goodman HM, O'Farrell PH. (1977). High resolution two-dimensional electrophoresis of basic as well as acid proteins. Cell: 12:1133–42.
- Gillies LK, Waelchli RO, Ruddock WDJ, Betteridge KJ, Lamarre J. (1999). Patterns of MUC1 expression in the equine endometrium and trophoblast during early pregnancy. Theriogenology 51: Issue 1, 225.
- Ginther OJ. (1983). Mobility of the early equine conceptus. Theriogenology 19, 603–611.
- Klein C, Scoggin KE, Ealy AD, Troedsson MH. (2010). Transcriptional profiling of equine endometrium during the time of maternal recognition of pregnancy. Biol Reprod 83, 102–113.
- Klein C, Troedsson M.H. (2011a). Transcriptional profiling of equine conceptus reveals new aspects of embryo-maternal communication in the horse. Biol. Reprod. 84, 872–885.
- Merkel M, Ulbrich SE, Otsdorff C, Herbach N, Wanke R, Wolf E, Handler J, Bauersachs S. (2010). Microarray analysis of equine endometrium at Days 8 and 12 of pregnancy. Biol Reprod 83, 874–886.