

Encurtamento do telômero associado à idade em oócitos de camundongos.

Yamada-Fukunaga, T., et al.

Resumo

Os oócitos podem ser submetidos a dois tipos de envelhecimento. O primeiro é induzido pela exposição a um microambiente ovariano de idade avançada antes de ser ovulado, conhecido como "envelhecimento reprodutivo ou maternal", e o segundo, tanto por uma estadia prolongada no oviduto antes da fertilização quanto pelo envelhecimento *in vitro* antes da inseminação, conhecido como "envelhecimento pós-ovulatório". No entanto, os mecanismos moleculares subjacentes a esses processos de envelhecimento ainda precisam ser esclarecidos. Como o encurtamento dos telômeros em células somáticas cultivadas dispara a senescência replicativa, o encurtamento dos telômeros em oócitos durante o envelhecimento reprodutivo e pós-ovulatório podem prever o potencial de desenvolvimento. Este estudo teve como objetivo determinar os mecanismos subjacentes da biologia dos telômeros em oócitos de camundongos durante o envelhecimento reprodutivo e pós-ovulatório.

Métodos

Foram estudados os padrões de expressão *Tert*, a atividade da telomerase, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) citosólicas, e o comprimento dos telômeros em oócitos frescos de camundongos jovens contra fêmeas reprodutivamente mais velhas, recuperados de ovidutos 14h após aplicação de gonadotrofina coriônica humana (hCG), de oócitos de ratas idosas pós-ovuladas 23h pós-hCG *in vivo* ou *in vitro*. Os oócitos foram coletados a partir de camundongos fêmeas super-ovuladas C57BL/6 J de 6-8 semanas ou 42-48 semanas de idade. As expressões de mRNA e proteína do gene *Tert* foram quantificadas utilizando em tempo real uma sequência de reações de polimerase reversa quantitativa da transcriptase (Q-PCR) e imunquímica. A atividade da telomerase foi medida por um ensaio de protocolo de amplificação de repetição

telomérica, enquanto que o comprimento dos telômeros foi medido por Q-PCR e fluorescência quantitativa em análises de hibridização *in situ*.

Resultados

A abundância da expressão de *Tert* em oócitos diminuiu significativamente durante o envelhecimento reprodutivo e pós-ovulação. A coloração da imunofluorescência demonstrou claramente um padrão alterado e a intensidade da expressão da proteína TERT em oócitos durante o envelhecimento reprodutivo. Além disso, a atividade da telomerase relativa (ATR) em oócitos de fêmeas em idade reprodutiva foi significativamente menor do que em oócitos de fêmeas jovens. Em contraste, a ATR em oócitos pós-ovulação envelhecidos foi semelhante àquela em oócitos frescos. Oócitos de fêmeas em idade reprodutiva e oócitos pós-ovulação envelhecidos apresentaram níveis mais elevados de EROs que os oócitos de fêmeas jovens. O Comprimento Relativo dos Telômeros (CRT) foi notavelmente mais curto em oócitos de fêmeas em idade reprodutiva em comparação com oócitos de fêmeas jovens. No entanto, o envelhecimento pós-ovulatório não teve efeito significativo sobre a CRT dos oócitos.

Conclusões

Os efeitos adversos a longo prazo da baixa atividade da telomerase e do aumento da exposição às EROs são provavelmente associados ao encurtamento dos telômeros em oócitos de camundongos fêmeas em idade reprodutiva.