

## **Effect of arachidonic acid supplementation and cyclooxygenase/lipoxygenase inhibition on the development of early bovine embryos**

*RM Pereira, CC Marques, MC Baptista, MI Vasques, AEM Horta*

*Estação Zootécnica Nacional – INIAP, 2005-048 Vale de Santarém - Portugal*

The effect of arachidonic acid (AA) cascade on bovine embryo development in a granulosa cell co-culture system was studied. Arachidonic acid (100  $\mu\text{M}$ ) was supplemented from 1-cell to 8-16 cell block stage (first three days of co-culture) and from 1-cell to hatching. Specific cyclooxygenase (indomethacin, 28  $\mu\text{M}$ ) and lipoxygenase (nordihydroguaiaretic acid - NDGA, 28  $\mu\text{M}$ ) inhibitors were used from 1-cell to 8-16 cell block stage with AA. Embryo development was assessed by cleavage, day 7-day 8 and hatched embryo rates and by measuring growth rates through development stages found in days 7-10 of culture (day 0 = insemination day). Embryo quality was scored at day 8. A 6.5-10.4% increase on cleavage rate after AA supplementation was found. This AA supplementation from 1-cell to hatching delayed embryo growth rate beyond day 7 and a reduction on hatching rate was detected. When AA supplementation was restricted to the first three days of co-culture those negative effects were overcome. Also, indomethacin and NDGA prevented the positive effect of AA and induced a significant reduction on cleavage, respectively. NDGA further decreased day 7 embryo rate and quality. Results suggest that AA has a two-phase action on bovine embryos, promoting early development and impairing embryo growth from day 7 onwards and hatching rates. Both cyclooxygenase and lipoxygenase were found to be important pathways to promote cleavage.

*Keywords:* arachidonic acid, bovine embryos, granulosa, in vitro.

### **[Influência do ácido araquidônico e da inibição da ciclo-oxigenase ou lipo-oxigenase no desenvolvimento inicial de embriões bovinos]**

Estudou-se a influência da cascata do ácido araquidônico (AA) no desenvolvimento de embriões bovinos produzidos in vitro em co-cultura com células da granulosa. Os embriões foram suplementados com AA (100  $\mu\text{M}$ ) desde o estágio de 1 célula até 8-16 células (primeiros três dias de co-cultura) ou até a eclosão. Introduziram-se inibidores específicos da ciclo-oxigenase (indometacina, 28  $\mu\text{M}$ ) e da lipo-oxigenase (ácido nordihidroguaiarético - NDGA, 28  $\mu\text{M}$ ), juntamente com o ácido araquidônico, desde o estágio de 1 célula até 8-16 células. O desenvolvimento embrionário foi avaliado pelas taxas de clivagem de embriões nos dias 7 e 8 (D0=dia da inseminação) e eclodidos. Avaliou-se também a velocidade de crescimento dos embriões entre os dias 7 e 10 de cultura e a qualidade dos embriões no dia 8. A suplementação dos embriões com AA aumentou a taxa de clivagem (6,5 e 10,4%). Por outro lado, a presença deste precursor das prostaglandinas e dos leucotrienos com os embriões desde o estágio de 1 célula até a eclosão atrasou sua velocidade de crescimento a partir do dia 7 e reduziu a taxa de eclosão em 20,4%. Estes efeitos negativos desapareceram quando a suplementação do AA foi restringida apenas aos três primeiros dias de co-cultura. A indometacina evitou o efeito positivo do AA na clivagem, tendo o NDGA reduzido esta taxa, mesmo em presença do AA, assim como a taxa de embriões em D7 e a qualidade dos embriões D8. Os resultados sugerem que o ácido araquidônico tem efeito bifásico nos embriões bovinos, promovendo o início do seu desenvolvimento e, após D7, diminuindo as taxas de crescimento e eclosão. Ambas as vias metabólicas da ciclo-oxigenase e lipooxigenase parecem importantes na clivagem.

*Palavras Chave:* ácido araquidônico, embriões bovinos, granulosa, in vitro