

# Avaliação dos efeitos do óxido nítrico no desenvolvimento de embriões de camundongos in vitro e in vivo

## Evaluation of nitric oxide effects on embryo development in mice in vivo and in vitro

Autor: Roberto Pimenta Barroso

Orientador: Prof. Dr. João Lúcio dos Santos Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Área de concentração: Ginecologia e Obstetrícia, para a obtenção do título de Mestre, em 8 de julho de 2005.

**Objetivo:** avaliar os efeitos do óxido nítrico (ON) no desenvolvimento de embriões in vitro e na implantação de embriões in vivo em camundongos. **Métodos:** embriões de camundongos foram incubados em meio contendo diferentes concentrações de dietilenotriamina/óxido nítrico (DETA/ON), um doador de óxido nítrico. A especificidade dos efeitos do ON foram avaliadas usando-se dietilenotriamina (DETA) sem óxido nítrico ou dietilenotriamina/óxido nítrico previamente incubado por 48 horas. No estudo in vivo, os camundongos foram infundidos continuamente, por via subcutânea (após terem sido acasalados), com várias concentrações de DETA/ON ou DETA, através de minibombas osmóticas (começando no primeiro dia de prenhez) e a avaliação da implantação no útero foi avaliada no dia 6. **Resultados:** os resultados mostraram que nenhum dos embriões desenvolveu-se além do estágio de quatro células quando expostos a 0,1 ou 1,0 mM de DETA/ON, comparado com 94,5% no grupo-controle cujos embriões desenvolveram além do estágio de mórula no dia 4. O desenvolvimento embrionário não foi afetado com baixas concentrações (0,001 e 0,01mM) de dietilenotriamina/óxido nítrico, com dietilenotriamina/óxido nítrico pré-incubado por 48 horas ou dietilenotriamina puro. No estudo in vivo, a infusão de dietilenotriamina/óxido nítrico em camundongos fêmeas causou a inibição da implantação embrionária, de maneira dose-dependente. Não foram observados sítios de implantação em animais infundidos com a dose diária de 20mmoles de dietilenotriamina/óxido nítrico, enquanto nos tratados com dietilenotriamina e controle, a taxa de implantação foi de 81,8%. **Conclusão:** este estudo demonstrou que ON inibe o desenvolvimento embrionário in vitro e a implantação in vivo, em camundongos, de maneira dose-dependente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Óxido nítrico; Desenvolvimento embrionário; Camundongos; Implantação

**Objective:** To evaluate the effect of nitric oxide on embryo development in vitro and on implantation of embryos in vivo in mice. **Materials and methods:** Mouse embryos were incubated in media containing different concentrations of diethylenetriamine/NO (DETA/NO), a nitric oxide donor. The cleavage and development was monitored daily for 4 days. Specificity of NO effects was assessed by using diethylenetriamine (DETA) without NO or 48 h preincubated DETA/NO. In in vivo studies, mated mice were continuously infused, subcutaneously, with various concentrations of DETA/NO or DETA through mini-osmotic pumps (from day 1 of pregnancy), and implantation sites in the uterus were assessed on day 6. **Results:** None of the embryos progressed beyond 4-cell stage when exposed to 0.1 or 1.0 mM DETA/NO compared with 94.5% of control embryos that developed beyond the morula stage by day 4. Embryo development was unaffected by lower (0.001 and 0.01 mM) concentrations of DETA/NO, 48 h preincubated DETA/NO, or DETA only. In in vivo study, infusion of DETA/NO to mice caused inhibition of embryo implantation in a dose-dependent manner. No implantation sites were observed in mice infused with a daily dose of 20  $\mu$ mol DETA/NO rate, compared with an implantation rate of 81.8% in control or DETA-treated mice. **Conclusion:** This study demonstrates that NO inhibits the embryo development in vitro and implantation in vivo in an dose-dependent manner.

**KEYWORDS:** Nitric Oxide; Embryo development; Mouse; Implantation