



Efeito do wortmannin, inibidor da PI3K, na congelabilidade de embriões bovinos

Marcella Florencio Fonseca, Maryana de Souza Rocha, Carla Sobrinho Paes Carvalho, Lucas Lopes Horta Monteiro, Angelo José Burla Dias

A maturação *in vitro* (MIV) de ovócitos representa uma etapa importante para o sucesso da produção *in vitro* de embriões bovinos. Diversas quinases participam dessa etapa, estando a fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) envolvida em importantes eventos nucleares e citoplasmáticos da maturação ovocitária. Estudos anteriores do grupo utilizaram o *wortmannin*, inibidor da PI3K, no meio de MIV, o que resultou em aumento na taxa de blastocistos. Esses resultados demonstraram que o tratamento proporcionou uma maturação ovocitária mais eficiente, conferindo melhor competência aos ovócitos, o que pode influenciar a qualidade dos embriões e a sua congelabilidade. Dessa forma, o objetivo deste estudo é determinar o efeito do *wortmannin* na congelabilidade de embriões bovinos. Os ovários serão obtidos de abatedouros locais e transportados ao laboratório em solução salina contendo antibióticos. Os folículos ovarianos serão aspirados com seringa de 10 ml e agulha 18G para obtenção dos complexos *cumulus-oophorus* (COCs). Os COCs (20/gota) serão selecionados e transferidos para gotas de 100 μ L do meio de maturação, acrescido ou não de 20 nM do *wortmannin*, mantidos em incubadora, sob atmosfera de 5% de CO₂, a 38.5°C, por 22 horas. Em seguida serão lavados e co-incubados com os espermatozoides em meio de FIV, por 18 horas. Os ovócitos fertilizados serão desnudados e colocados em meio de cultivo (SOF), sendo mantidos em incubadora durante 7 dias, sendo o dia zero (D0), o dia da fertilização. A avaliação da clivagem será realizada no dia 3 juntamente com o *feeding*. A avaliação da taxa de blastocistos e o congelamento serão realizados 168 horas após a fertilização. Para o congelamento, os blastocistos serão lavados em meio Holding e em seguida expostos a uma solução de 1,5 M de etilenoglicol em meio Holding durante 15 a 20 minutos, à temperatura ambiente. Os embriões serão envasados em palhetas plásticas de 0,25 ml, que serão lacradas e colocadas na máquina TK 3000 onde passarão pelo processo de resfriamento que seguirá uma queda de -0,5°C por minuto até atingir -35°C. As palhetas serão colocadas em botijões criogênicos, permanecendo congeladas até o momento da avaliação, quando serão descongeladas por 10 segundos ao ar, seguido de 20 segundos em banho-maria a 36°C. Após o descongelamento, os embriões serão cultivados por 48 horas para verificar as taxas de re-expansão e eclosão. Devido a melhoria da qualidade da maturação *in vitro* resultante da suplementação do meio de MIV com o *wortmannin*, espera-se que os embriões produzidos dessa maneira tenham uma melhor resistência ao congelamento com consequente aumento das taxas de sobrevivência após o descongelamento.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: IC Nota 10

Fomento da bolsa: UENF