

**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**

Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**U III** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

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

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

A fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) está envolvida em importantes eventos nucleares e citoplasmáticos da maturação ovocitária. Na produção *in vitro* de embriões (PIVE), a maturação *in vitro* (MIV) dos ovócitos é uma etapa determinante, uma vez que realizada de forma eficaz, os ovócitos se tornam mais competentes para serem fertilizados, desenvolverem ao estágio de blastocisto e apresentarem maior resistência a criopreservação. Resultados anteriores do grupo demonstraram que a adição do *wortmannin* no meio de MIV aumentou a taxa de blastocistos. Dessa forma, o objetivo foi determinar o efeito do *wortmannin* na congelabilidade de embriões bovinos. Os ovários foram obtidos de abatedouros e transportados em solução salina contendo antibióticos. Os folículos ovarianos foram aspirados com seringa de 10 ml e agulha 18G para obtenção dos complexos *cumulus-oophorus* (COCs). Os COCs (20/gota) foram selecionados e transferidos para gotas de 100 µL do meio de MIV, acrescido ou não de 20 nM do *wortmannin*, mantidos em incubadora, sob atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, a 38.5°C, por 22h. Em seguida, foram lavados e co-incubados com espermatozoides em meio de FIV, por 8h. Os possíveis zigotos foram desnudados e colocados em meio de cultivo (SOF) durante sete dias, sendo o dia zero (D0), o dia da fertilização. No D3, foi realizada a avaliação da taxa de clivagem, juntamente com o *feeding*. A avaliação da taxa de blastocistos e o congelamento foram realizados 168h após a fertilização. No congelamento, os blastocistos foram lavados em meio Holding e em seguida expostos a uma solução de 1,5 M de etilenoglicol durante 15 minutos, à temperatura ambiente. Os embriões foram envasados e as palhetas colocadas na máquina TK 3000 seguindo uma queda de -0,5°C por minuto, até -35°C. Ao descongelamento, os embriões serão cultivados por 72h para verificar as taxas de re-expansão e eclosão. Os embriões eclodidos serão marcados com Hoescht e Iodeto de Propídeo, a fim de determinar o número de células viáveis e inviáveis. Os resultados preliminares mostraram uma média de 34,7% de blastocistos totais no controle, sendo destes 38,5% congeláveis. No grupo tratado com *wortmannin* a taxa de blastocistos totais foi de 30,2% e destes, 38% foram classificados como congeláveis. No momento estamos programando o descongelamento dos embriões para as demais avaliações propostas.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF  
Eixo temático: Biotecnologia Animal  
Fomento da bolsa (quando aplicável): UENF

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU** Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**  
Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**  
Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**  
Jornada de Iniciação Científica da UFF



**U III** Congresso Fluminense de Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**  
Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Effect of wortmannin, a PI3K inhibitor, on the freezability of bovine embryos

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

Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) is involved in important nuclear and cytoplasmic events of oocyte maturation. In the *in vitro* embryo production (IVEP), the *in vitro* maturation (IVM) of the oocytes is a determining step, since if performed effectively, the oocytes become more competent to be fertilized, develop to the blastocyst stage and present greater resistance to cryopreservation. Previous results from our group demonstrated that the addition of wortmannin in the IVM medium increased the rate of blastocysts. Thus, the objective was to determine the effect of wortmannin on the freezability of bovine embryos. Ovaries were obtained from slaughterhouses and transported in saline solution containing antibiotics. The ovarian follicles were aspirated with a 10 ml syringe and 18G needle to obtain *cumulus-oophorus* complexes (COCs). The COCs (20/drop) were selected and transferred to drops of 100  $\mu$ L of IVM medium, with or without the addition of 20 nM of wortmannin, kept in an incubator, under an atmosphere of 5% CO<sub>2</sub>, at 38.5 °C, for 22 hours. Then, they were washed and co-cultured with spermatozoa in IVF medium for 8 hours. Possible zygotes were stripped and placed in culture medium (SOF) for seven days, with day zero (D0) being the day of fertilization. On D3, the cleavage rate was evaluated along with feeding. The evaluation of blastocyst rate and freezing were performed 168h after fertilization. After freezing, blastocysts were washed in holding medium and then exposed to a 1.5 M ethylene glycol solution, for 15 minutes, at room temperature. The embryos were potted and the straws placed in the TK 3000 machine following a drop of -0.5 °C per minute, down to -35 °C. Upon thawing, the embryos were cultured for 72h to verify re-expansion and hatching rates. The hatched embryos were stained with Hoescht and propidium iodide in order to determine the number of viable and non-viable cells. Preliminary results showed an average of 34.7% of total blastocysts in the control group, 38.5% of which were freezable. In the group treated with wortmannin, the rate of total blastocysts was 30.2% and of these, 38% were classified as freezable. We are currently scheduling the thawing of embryos for the proposed evaluations.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

