INFLUÊNCIA DOS DIAS DE CULTIVO NO ACÚMULO LIPÍDICO, CONTAGEM CELULAR E PORCENTAGEM DE CÉLULAS APOPTÓTICAS

Diego Borba Müller [1]

Roniele Santana Valente [2]

Kelly Annes [3]

Jorge Abrão Pinto Vilela [4]

Mateus Jose Sudano [5]

Fernando Silveira Mesquita [6]

Resumo:

A produção in vitro de embriões (PIV) é uma das biotecnologias que mais cresce atualmente, aumentando rapidamente o número de animais produzidos e ganho genético. Mesmo bem consolidada, ainda possui fatores limitantes para o desenvolvimento embrionário quando comparado com o desenvolvimento in vivo. Um desses fatores, é a quantidade lipídica aumentada em embriões PIV em relação os embriões in vivo. Esse conteúdo lipídico alterado dos embriões PIV está associado com uma reduzida sobrevivência após a criopreservação, dificultando ampla aplicação comercial desta biotecnologia. Outro fator é o número de blastomeros e células apoptóticas que estão diretamente ligadas a viabilidade e qualidade embrionária. Deste modo o objetivo deste trabalho foi avaliar o acúmulo lipídico, a contagem de blastômeros, e a porcentagem de células apoptóticas nos dia 7 (D7) e dia 8 (D8) do cultivo embrionário. Os ovários foram coletados em frigorifíco e transportados em solução fisiológica a 35C de temperatura até o laboratório, foram aspirados folículos 2mm a 8mm de diâmetro, após foram selecionados apenas oócitos grau I e II tendo citoplasma homogêneo e mais de duas camadas de células do cúmulus. Foram maturados por 24 horas em incubadora com 5% de CO2 em ar e umidade saturada. Após, foi realizado a fertilização in vitro (FIV) por 18 horas com posterior transferência para o meio de cultivo. Em seguida, foi avaliada a clivagem no dia 4 do cultivo e a coleta dos embriões no D7 e D8 do cultivo, sendo divido em amostras distintas para a avaliação do conteúdo lipídico através da coloração de Sudan Black e para análise de contagem celular e apoptose pela coloração de Túnel. Os dados foram analisados pelo test t utilizando o GLIMMIX PROC de SAS. O conteúdo lipídico dos blastocistos no D8 foi maior que os blastocistos gerados no D7 do cultivo (P

Palavras-chave: Embriões; lipídeos; Apoptose; qualidade embrionária; bovinos.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

INFLUÊNCIA DOS DIAS DE CULTIVO NO ACÚMULO LIPÍDICO, CONTAGEM CELULAR E PORCENTAGEM DE CÉLULAS APOPTÓTICAS

[1] Aluno de graduação. diegooborbamuller@gmail.com. Autor principal

[2] Aluna de Pós Graduação. ronielevalente@gmail.com. Co-autor

[3] Aluna de Doutorado. keh.annes@gmail.com. Co-autor

[4] Aluno de Graduação. jorgeapvilela@gmail.com. Co-autor

[5] Docente. mjsudano@gmail.com. Orientador

[6] Professor. fermesq@gmail.com. Co-orientador

INFLUÊNCIA DOS DIAS DE CULTIVO NO ACÚMULO DE LIPÍDIOS, CONTAGEM CELULAR E PORCENTAGEM DE CÉLULAS APOPTÓTICAS

A produção *in vitro* de embriões (PIV) é uma das biotecnologias que mais cresce atualmente, visando aumentar de forma rápida o número de animais produzidos e ganho genético alcançado. Apesar de bem consolidada, ainda possui fatores limitantes para o desenvolvimento embrionário adequado quando comparado com o desenvolvimento *in vivo*. Um desses fatores, é a quantidade lipídica aumentada em embriões PIV em relação os embriões *in vivo*. Esse conteúdo lipídico alterado dos embriões PIV vem sendo associado com uma reduzida sobrevivência após a criopreservação, dificultando a uma ampla aplicação comercial desta biotecnologia. Outro fator é o número de blastomeros e células apoptóticas que estão diretamente ligadas a viabilidade e qualidade embrionária. Deste modo o objetivo deste trabalho foi avaliar o acúmulo lipídico, a contagem de blastomeros e a porcentagem de células em apoptose nos dia 7 (D7) e dia 8 (D8) do cultivo embrionário.Os ovários foram coletados em abatedouro comercial e transportados em solução fisiológica a 35^{o}C de temperatura até o laboratório, para a realização do experimento um aspiração de folículos 2mm a 8mm de diametro, após foram selecionados apenas oócitos grau I e II tendo citoplasma homogêneo e mais de duas camadas de células do cúmulus. Estes foram maturados por 24 horas em incubadora com 5% de CO2 em ar e umidade saturada. Após, foi realizado co-cultivo dos oócitos com espermatozoídes por um período de 18 horas com posterior transferência para o meio de cultivo. Posteriormente foi avaliada a clivagem no dia 4 do cultivo e a coleta dos embrioões no dia 7 e 8 do cultivo. Sendo divido em amostras distintas para a avaliação do conteúdo lipídico através da coloração de Sudan Black e para análise de contagem celular e apoptose pela coloração de Túnel, os dados foram analisados por ANOVA utilizando o GLIMMIX PROC de SAS. O conteúdo lipídico dos blastocistos no D8 foi maior que os blastocistos gerados no D7 do cultivo sendo ($P<0,05$). A expansão da blastocele tardia dos embriões foi crucial para o acúmulo maior no dia 8 em relação ao dia 7. Em relação a contagem de blastomeros apresentou-se um contagem de células maior no D7 (105,9 ± 6,205 vs 81,96 ± 6,135) em relação ao D8, deste modo mostrou uma melhor qualidade e viabilidade embrionária. Deste modo, apresentou-se menor o número de células apoptóticas no D7 (6,102 ± 1,137 vs 11,34 ± 1,438) do cultivo quando comparado com o D8, diminuindo deste modo a qualidade embrionária.