

R195 - EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISILOGIA DA REPRODUÇÃO

O ANTAGONISTA DKK1 DA VIA DE SINALIZAÇÃO CELULAR WNT NÃO PREJUDICA O DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES BOVINOS AO ESTÁGIO DE BLASTOCISTO

KYLE B DOBBS¹; ANNA CAROLINA DENICOL²; PETER J HANSEN³

^{1,3}UNIVERSITY OF FLORIDA, GAINESVILLE, ESTADOS UNIDOS; ²EMBRAPA GADO DE LEITE - CAMPO EXPERIMENTAL SANTA MONICA, VALENÇA, RJ, BRASIL

Palavras-chave: wnt; dkk1; embrião

A via de sinalização celular WNT é fundamental no desenvolvimento embrionário e fetal em mamíferos. Antagonistas como *Dickkopf-related protein 1* (DKK1) atuam juntamente com WNT para manter um equilíbrio entre ativação e inativação dessa via durante o desenvolvimento embrionário (Lieven *et al.*, Dev Biol 340, 256-258, 2010). Estudos realizados em nosso laboratório demonstraram que a ativação da via de sinalização WNT em embriões bovinos no dia 5 após a inseminação resultou em diminuição do desenvolvimento de blastocistos no dia 8. O objetivo do presente trabalho foi de avaliar se o antagonista DKK1 melhora o desenvolvimento embrionário e a dinâmica de desenvolvimento. Em caso afirmativo, seria provável que os embriões em cultivo produzam agonistas WNT. DKK1 é um antagonista de co-receptores LRP5/6 da via WNT que, adicionado ao cultivo de embriões bovinos na dose de 100 ng/ml, bloqueou a sinalização celular por essa via. O presente estudo foi realizado em três replicatas utilizando entre 10 e 63 embriões/tratamento. Embriões produzidos *in vitro* foram tratados com concentrações de 0, 50, 100, 200 ou 400 ng/ml de DKK1 a partir do dia 5 ou 6 após a inseminação. O percentual de embriões que atingiram o estágio de blastocisto, bem como o percentual de blastocistos em estágios avançados (expandidos, em eclosão ou eclodidos) foi avaliado no dia 8 após a inseminação; a análise estatística utilizada foi ANOVA, com nível de significância $P < 0.05$. A adição de DKK1 ao cultivo embrionário no dia 5 não afetou o desenvolvimento ao estágio de blastocisto. No dia 8, por exemplo, o percentual de blastocistos foi de 58,6, 33,1, 48,5, 31,2 e 41,8% (EPM = 7,6) para as concentrações de 0, 50, 100, 200 ou 400 ng/ml, respectivamente. DKK1 tampouco afetou o percentual de blastocistos em estágios avançados [dia 8: 89,2, 90,7, 97,2, 77,6 e 94,4% (EPM = 7,7) para as concentrações de 0, 50, 100, 200 ou 400 ng/ml]. Resultados semelhantes foram obtidos com a adição de DKK1 no dia 6. O percentual de blastocistos no dia 8 foi de 32,7, 33,9, 39,3, 31,4 e 41% para as concentrações de 0, 50, 100, 200 ou 400 ng/ml, respectivamente (EPM = 5,0), e o percentual de blastocistos em estágios avançados no dia 8 foi de 72,9, 75,6, 65,4, 79,5 e 72,6% (EPM = 8,4). Em conclusão, a inibição da via de sinalização celular WNT pelo antagonista DKK1 não afetou o desenvolvimento de embriões bovinos cultivados *in vitro* até o estágio de blastocisto e tampouco a continuação de seu crescimento para estágios avançados. Os presentes resultados sugerem que há pouca sinalização através de co-receptores LRP5/6 mediada por agonistas WNT de origem embrionária nesse estágio de desenvolvimento. Suporte para a realização desse estudo: USDA – AFRI Grant No. 2009–65203-05732

R196 - EMBRIOLOGIA, BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO E FISILOGIA DA REPRODUÇÃO

O EFEITO DO FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA-I NA ATIVIDADE MITOCONDRIAL DE OÓCITOS BOVINOS EXPOSTOS AO ESTRESSE TÉRMICO

JÉSSICA ISPADA¹; RAFAELA SANCHEZ LIMA²; PEDRO HENRIQUE BUGALLO RISOLIA³; MAYRA ELENA ASSUMPTIÃO⁴; JOSÉ ANTONIO VISINTIN⁵; FABIOLA FREITAS DE PAULA-LOPES⁶

^{1,6}UNIFESP, DIADEMA, SP, BRASIL; ^{2,3}UNESP, BOTUCATU, SP, BRASIL; ^{4,5}USP, SÃO PAULO, SP, BRASIL

Palavras-chave: oócito; estresse térmico; igf-i

O estresse térmico materno compromete a fertilidade de vacas leiteiras, resultando em prejuízos econômicos para indústria de leite. Já foi demonstrado que o oócito e o embrião no estágio pré-implantacional são alvos principais dos efeitos deletérios causados pelo estresse térmico (Hansen, Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2009 27;364:3341-50). No entanto, os mecanismos celulares desencadeados pela temperatura elevada são pouco conhecidos, assim como os eventos moleculares que acarretam na morte ou sobrevivência oocitária em resposta ao estresse. Estudos anteriores indicaram que o fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I) exerceu efeito termo-protetor reduzindo a apoptose induzida pelo estresse térmico em oócitos bovinos (Ispada *et al.*, III International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2010 7:333). Considerando que vários estresses celulares ativam a via mitocondrial de apoptose, o presente estudo visou determinar o efeito do estresse térmico durante a MIV na atividade mitocondrial de oócitos bovinos e avaliar o papel termo-protetor do IGF-I neste contexto. Os complexos cumulus-oócito (CCOs) foram submetidos aos tratamentos Controle (22 horas a 38,5°C) e Estresse Térmico (14 horas a 41°C seguido de 8 horas a 38,5°C) durante a MIV na presença de 0 ou 100 ng/mL de IGF-I. Após as 22 horas de maturação os oócitos foram desnudados mecanicamente e submetidos ao ensaio MitoTracker Red CMX-Ros (Invitrogen M-7512, Oregon, USA) para a identificação e quantificação de mitocôndrias ativas. Os oócitos foram incubados em meio TCM-199-Hepes contendo 50 µg/ml polivinilálcool e 50 nM de MitoTracker por 15 minutos a 37°C, avaliados em microscópio de fluorescência e imagens digitais de cada oócito foram armazenadas como arquivos tiff. A atividade mitocondrial foi quantificada utilizando o programa livre Image J 1.43. Foram realizadas seis réplicas contendo 97-204 CCOs por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo método dos quadrados mínimos utilizando o programa estatístico SAS. Na ausência do IGF-I o estresse térmico reduziu ($P < 0,001$) a atividade mitocondrial de $64,31 \pm 1,91$ no grupo controle para $56,74 \pm 1,26$ unidades arbitrárias no grupo estresse térmico. A suplementação do meio MIV com IGF-I não afetou a atividade mitocondrial do grupo controle ($66,25 \pm 1,56$), porém o IGF-I resgatou (Temperatura x IGF-I $P < 0,001$) a atividade mitocondrial dos oócitos submetidos ao estresse térmico ($70,32 \pm 1,32$). Em conclusão, o estresse térmico reduziu a atividade mitocondrial em oócitos bovinos, sugerindo que houve ativação da via mitocondrial de apoptose. No entanto, o IGF-I exerceu papel termo-protetor reduzindo este efeito deletério. (Fapesp 2007/53323-0; CNPq 478558/2008-2)

Anais da XXV Reunião Anual
da Sociedade Brasileira
de Tecnologia de Embriões

XXV reunião anual da
sociedade brasileira de
tecnologia de embriões

18 A 20 DE AGOSTO

CUMBUÇUJCE

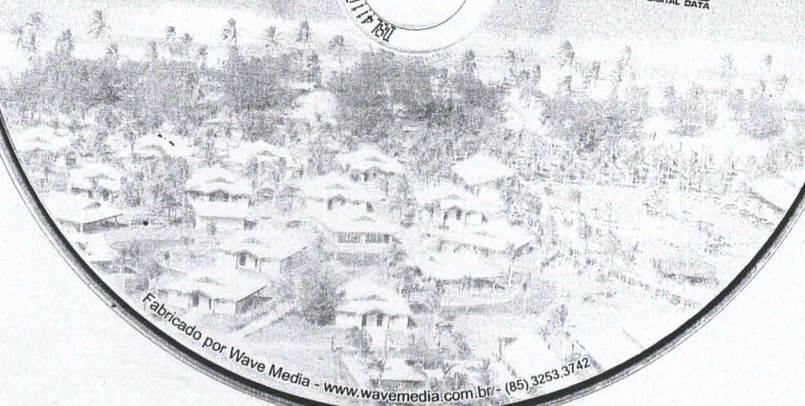
Realização:



SBTE
SOCIEDADE BRASILEIRA DE
TECNOLOGIA DE EMBRIÕES
www.sbte.org.br

SBTE 2007

COMPACT
disc
DIGITAL DATA



Fabricado por Wave Media - www.wavemedia.com.br - (85) 3253.3742