



Efeito do wortmannin, inibidor da PI3K, na permanência das projeções transzonais de ovócitos bovinos

Maryana de Souza Rocha, Marcella Florencio Fonseca, Glaucia Mota Bragança, Angelo José Burla Dias

A fosfatidil inositol 3 quinase (PI3K) atua decisivamente na progressão meiótica em ovócitos bovinos, ativando a fosfodiesterase, o que resulta na diminuição dos níveis intraovocitários do AMPc, nucleotídeo responsável por manter a meiose estacionada, consequentemente estimulando a retomada meiótica. O AMPc alcança o ovócito pelas projeções transzonais (TZPs), que consiste no único meio de comunicação entre as células do *cumulus* e o ovócito. Em condições *in vitro*, a dinâmica dos eventos nucleares da maturação ovocitária ocorre de uma forma mais acelerada que os eventos citoplasmáticos, impactando negativamente a eficiência desse processo. Trabalhos recentes do nosso grupo demonstraram que o *wortmannin*, um inibidor específico da PI3K, reduziu a atividade dessa quinase e diminuiu a velocidade de progressão da meiose (PEREIRA et al., 2020). Porém, são desconhecidos os efeitos desse inibidor sobre o tempo de viabilidade das TZPs. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do *wortmannin* sobre o tempo de permanência das projeções transzonais durante a MIV de complexos *cumulus oophorus* (CCOs) de bovinos. Os CCOs imaturos foram aspirados de ovários de matadouros locais e maturados *in vitro* por 0, 5, 18 e 24h com TCM-199 acrescido de 10% de soro fetal bovino; 0,5 µg/mL FSH (Folltropin), 5,0 µg/mL de LH (Lutropin) e antibióticos, na ausência (controle) ou na presença de 20 nM de *wortmannin*, em condições habituais de MIV (5% de CO₂, e 38.5°C). Para cada tempo analisado foram utilizados 10 ovócitos por grupo em cada repetição (N=60), em um total de duas repetições. CCOs do tempo 0h não foram submetidos ao tratamento. Para determinar a permanência das TZPs, os CCOs foram marcados com calceína-AM após cada tempo de incubação, desnudados, avaliados sob microscópio de fluorescência e classificados quanto ao grau de intensidade de fluorescência: I (fraco), II (médio), e III (forte). As análises preliminares mostraram que o *wortmannin* aumentou o percentual dos ovócitos emitindo fluorescência de maior intensidade (grau III), comparado aos do grupo controle, às 5h (41,2% e 11,7%, respectivamente), 18h (66,6% e 20%, respectivamente) e 24h (45% e 15,38%, respectivamente). Os dados apresentados demonstram que o tratamento dos CCOs bovinos com *wortmannin* durante a MIV, prolonga o tempo de permanência das TZPs, proporcionando um maior período de comunicação, troca de estímulos e de substâncias, entre *cumulus* e ovócito, o que pode contribuir para a maior sincronia entre os eventos nucleares e citoplasmáticos da maturação ovocitária, influenciando positivamente a produção *in vitro* de embriões.

XII Congresso
Fluminense
de Iniciação Científica
e Tecnológica



V Congresso
Fluminense
de Pós-Graduação

Ciência para o Desenvolvimento Sustentável