



EFEITO DO WORTMANNIN, INIBIDOR DA PI3K, NA PERMANÊNCIA DAS PROJEÇÕES TRANSZONAIS DE OVÓCITOS BOVINOS

Maryana de Souza Rocha, Marcella Florencio Fonseca, Gláucia Mota Bragança, Paula Magnelli Mangiavacchi, Angelo José Burla Dias

Na maturação de ovócitos bovinos, os altos níveis de AMPc intraocitários são responsáveis por manter a meiose estacionada na prófase da primeira meiose. A diminuição desse nucleotídeo é influenciada diretamente pela enzima Fosfatidil Inositol 3 Quinase (PI3K) que ativa a fosfodiesterase, hidrolisando o AMPc em AMP e conseqüentemente estimulando a retomada meiótica. O AMPc é transferido das células do *cumulus* para o ovócito por meio das projeções transzonais (TZPs). Na maturação *in vitro* (MIV), os eventos nucleares ocorrem de forma mais acelerada que os eventos citoplasmáticos, impactando negativamente a eficiência desse processo. Trabalhos atuais do nosso grupo constataram que o *wortmannin*, um inibidor específico da PI3K, diminuiu a atividade dessa quinase e reduziu a velocidade de progressão meiótica (PEREIRA et al., 2020). Todavia, é desconhecida a influência desse inibidor sobre o tempo de permanência das TZPs. Diante disso, o vigente estudo tem como objetivo avaliar o efeito do *wortmannin* sobre o tempo de permanência das TZPs durante a MIV de complexos *cumulus oophorus* (COCs) de bovinos. Os COCs imaturos foram aspirados de ovários de matadouros locais e maturados *in vitro* por 0, 5, 18 e 24h em TCM-199 acrescido de 10% de soro fetal bovino; 0,5 µg/mL FSH, 5,0 µg/mL de LH e antibióticos, na ausência (controle) ou na presença de 20 nM de *wortmannin*, em condições habituais de MIV (5% de CO₂, 38,5°C). Para cada tempo analisado foram utilizados 10 ovócitos por grupo em cada repetição (N=60), em um total de duas repetições. COCs do tempo 0h não foram submetidos ao tratamento. Para constatar a permanência das TZPs, os COCs foram marcados com calceína-AM após cada tempo de incubação, desnudados, fotografados sob microscópio de fluorescência e classificados quanto ao grau de intensidade de fluorescência: I (fraco), II (médio), e III (forte). Três rotinas do experimento foram realizadas recentemente, porém, as imagens dos COCs ainda serão analisadas. As análises preliminares demonstraram que o *wortmannin* aumentou o percentual dos ovócitos exibindo 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 relatados demonstram que o tratamento dos COCs bovinos com *wortmannin* durante a MIV, prolonga o tempo de permanência das TZPs, proporcionando maior comunicação, troca de estímulos e de substâncias, entre *cumulus* e ovócito, o que pode contribuir para a sincronia entre os eventos nucleares e citoplasmáticos da maturação ovocitária, influenciando positivamente a produção *in vitro* de embriões.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG:IC
Fomento da bolsa: UENF