



Wortmannin, inibidor da PI3K, aumenta o tempo de permanência das projeções transzonais em COCs bovinos durante a MIV

Maryana de Souza Rocha¹, Marcella Florêncio Fonseca¹, Carla Sobrinho Paes Carvalho¹,
Leonardo S. Glória², Angelo José Burla Dias¹

*¹ Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal – LRMGA, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.; *² Laboratório de Zootecnia – UENF.

As projeções transzonais (PTZs), que constituem um importante canal de comunicação entre células do *cumulus* (CC) e o ovócito são responsáveis por garantir altos níveis intraovocitários de adenosina monofosfato cíclico (AMPC). Porém a literatura não oferece, até o momento, informações sobre a influência da PI3K no tempo de permanência das PTZs. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do wortmannin, inibidor da PI3K, na permanência das PTZs durante a MIV de ovócitos bovinos. Para isso, COCs foram aspirados de ovários de vacas abatidas em matadouros locais, selecionados e incubados em meio de maturação (meio 199 acrescido de 10% de soro fetal bovino; 0,5 µg/mL FSH, 5,0 µg/mL de LH e antibióticos), a 5% de CO₂, 38.5°C, por 5, 18 ou 24 h, na ausência (controle) ou na presença de 20 nM de *wortmannin*. Foram analisados um total de 607 ovócitos, 10 a 20 COCs em 5 repetições. Para verificar a permanência das PTZs, após cada tempo de incubação, os COCs foram marcados com calceína AM (1mM, em meio 199) durante 15 minutos, lavados em poço com 400 µL de PbS/PVA (PP), durante 25 minutos. Foram desnudados mecanicamente por pipetagens sucessivas e em seguida, observados com auxílio de microscópio de fluorescência (TE200 NIKON). e fotografados com uma câmera (NIKON) acoplada ao microscópio. Para a determinação da intensidade de fluorescência, as imagens dos ovócitos foram analisadas no programa ImageJ, utilizando a função *Integrated density*, a qual atribui uma unidade arbitrária a fluorescência emitida por cada ovócito. Os dados foram analisados por ANOVA, seguidos pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5% (P < 0,05). As comparações foram realizadas dentro de cada tempo. As análises dos valores médios de intensidade de fluorescência obtidos dos ovócitos controle e dos tratados com o *wortmannin*, respectivamente demonstraram um efeito significativo (p < 0,05) do *wortmannin* no tempo de 5h de MIV (39.883 e 52.617). Os resultados permitem concluir que o *wortmannin* prolonga a permanência das PTZs evidenciando a participação da via PI3K nesse processo. Tal condição pode contribuir para manter níveis elevados de AMPC por maior período de tempo dentro do ovócito, que contribui para a maior sincronia entre os eventos nucleares e citoplasmáticos da maturação. Permitindo melhoria na qualidade da MIV de COCs, com impacto positivo na produção *in vitro* em bovinos.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Iniciação Científica
Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPQ