



EFEITO DA INIBIÇÃO DA PI3K NA CONGELABILIDADE DO SÊMEN EQUINO

Bernard Brum de Rezende, Aline de Oliveira Felix, Raphael Farruk, Fausto Paes de Carvalho, Angelo José Burla Dias.

Devido à grande redução do tempo de vida dos espermatozoides equinos, causada pela criopreservação, essa biotécnica ainda não é utilizada rotineiramente nessa espécie. O aumento no tempo de vida de espermatozoides humanos foi conseguido com a ativação da enzima glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) (Nauc et al., 2004), a qual é regulada negativamente pela ativação da fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K). Tem sido demonstrado que a GSK-3 e suas quinases reguladoras têm uma importante participação na sinalização de enzimas envolvidas na regulação da motilidade espermática. A GSK-3 juntamente com outras proteínas sinalizadoras estão presentes nos espermatozoides, desempenhando uma função na regulação da glicólise e conseqüentemente na produção de ATP. Dessa forma a inibição da atividade da PI3K, pelo tratamento dos espermatozoides com um inibidor seletivo dessa enzima, e a conseqüentemente ativação da GSK-3 poderá contribuir para melhorar a crioresistência dos espermatozoides equinos. O objetivo desse trabalho é verificar o efeito do wortmannin, um inibidor seletivo da PI3K, sobre a congelabilidade do sêmen equino. As coletas de sêmen serão realizadas em animais em plena atividade reprodutiva, e o sêmen será coletado pelo método da vagina artificial. Imediatamente após a coleta serão realizadas avaliações macroscópicas (volume, cor, aspecto e odor) e microscópicas (motilidade, vigor e concentração) do sêmen. No experimento 1 o sêmen será incubado em soluções com diferentes concentrações do inibidor. As amostras permanecerão por 3h, à 37 °C, em banho-maria. A cada 30 min. serão feitas avaliações de motilidade e vigor. No segundo experimento o sêmen será congelado em diluente contendo o wortmannin na concentração de melhor resultado obtido no experimento 1. As amostras de sêmen serão diluídas, envasadas em palhetas plásticas, criopreservadas e armazenadas em botijão criogênico. Após o descongelamento serão realizadas as avaliações dos parâmetros físicos (motilidade e vigor), além da determinação da



atividade mitocondrial, pela marcação com JC1, e da reação acrossômica, pela marcação com a lectina *Pisum sativum* – FITC. Os dados obtidos serão lidos pelo SAS (Statistical Analysis System, 1996), onde será realizada a análise de consistência dos dados, em seguida, para todas as características estudadas, será realizada a análise de variância para verificar o efeito do tratamento.

Palavras-chave: Criopreservação, Espermatozóides, Gsk-3.

Fomento: CNPq, FAPERJ.