

Influência da contratilidade celular na formação do domínio apical e na segregação de linhagens celulares no embrião bovino

Anjos, S.A.A.¹; Assumpção, M.E.O.A²., Visintin, J.A.², Goissis M.D.²

¹Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo; ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

sam_aanjos@usp.br

Objetivos

O objetivo do presente trabalho foi verificar se a inibição farmacológica da contratilidade celular impede a formação de um domínio apical e consequentemente bloqueia a primeira diferenciação celular durante o desenvolvimento embrionário bovino. Este estudo visa fornecer subsídios para compreensão dos processos que levam a formação dos dois primeiros tipos celulares embrionários: a massa interna celular e o trofotoderma.

Métodos e Procedimentos

Embriões bovinos produzidos in vitro foram tratados com 25 µM de blebbistatin(-) ou seu enantiômero inativo blebbistatin(+) (Cayman Chemical, Ann Arbor, USA) a partir de 90 horas pós fecundação (hpi), além de um grupo controle não tratado. Os embriões foram coletados 186hpi e então foram submetidos a análises de morfologia e imunofluorescência para identificar possíveis diferenças entre o grupo tratado e o grupo controle.

Resultados

Análise morfológica revelou que nos três grupos houve a formação de blastocistos, em taxas de desenvolvimento similares. Já a análise de imunofluorescência revelou que no grupo de embriões tratados com blebbistatin (-) não foi identificado a presença do marcador de polaridade EZR e houve alteração na

expressão das proteínas YAP e CDX2, que estão envolvidas na diferenciação celular e consequente formação dos blastocistos.

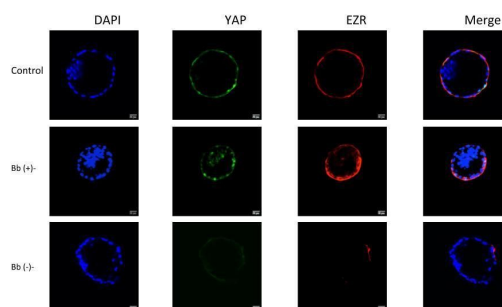


Figura 1: Imagens representativas de embriões submetidos à imunofluorescência após tratamento com blebbistatin (-).

Conclusões

Este estudo testou a hipótese que o bloqueio da contratilidade celular impede a formação do domínio apical e consequentemente inibirá a correta formação do trofotoderma em embriões bovinos. A hipótese foi negada parcialmente, visto que os embriões tratados com blebbistatin (-) foram capazes de se desenvolver e formar blastocistos. Entretanto, houve inibição da formação do domínio polar e alteração na expressão de fatores de transcrição relacionados ao trofotoderma. Estes resultados indicam que a diferenciação celular em embriões bovinos pode não ser dependente de polaridade.

Influence of cellular contractility on apical domain formation and cell lineage segregation in bovine embryos

Anjos, S.A.A.¹; Assumpção, M.E.O.A², Visintin, J.A.², Goissis M.D.²

¹Institute of Biosciences - University of São Paulo; ²College of Veterinary Medicine and Animal Science - University de São Paulo

sam_aanhos@usp.br

Objectives

The objective of the present work was to verify if the pharmacological inhibition of cellular contractility prevents the formation of an apical domain and consequently blocks the first cellular differentiation during bovine embryonic development. This study aims to provide insights into the processes leading to the formation of the first two embryonic cell types: the internal cell mass and the trophectoderm.

Methods and Procedures

In vitro produced bovine embryos were treated with 25 µM blebbistatin (-) - or its inactive blebbistatin (+) - enantiomer (Cayman Chemical, Ann Arbor, USA) from 90 hours post fertilization (hpi), in addition to an untreated control group. Embryos were collected at 186hpi and then subjected to morphology and immunofluorescence analysis to identify possible differences between the treated group and control groups.

Results

Morphological analysis revealed that in the three groups blastocyst formation occurred at similar developmental rates. Immunofluorescence analysis revealed that in embryos treated with blebbistatin (-) - the presence of the polarity marker EZR was not identified and there were alterations in the expression of YAP and CDX2 proteins, which

are involved in cell differentiation and consequent formation of blastocysts.

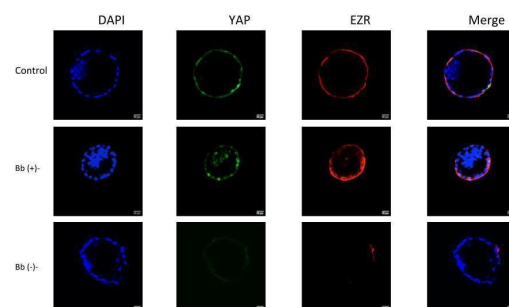


Figure 1: Representative images of embryos submitted to immunofluorescence following treatment with blebbistatin (-) -.

Conclusions

This study tested the hypothesis that blockage of cellular contractility prevents the formation of the apical domain and consequently inhibits the correct formation of the trophectoderm in bovine embryos. The hypothesis was partially denied, since blebbistatin (-) - treated embryos were able to develop and form blastocysts. However, there was inhibition of polar domain formation and alteration in the expression of trophectoderm-related transcription factors. These results indicate that cell differentiation in bovine embryos may not be polarity-dependent.