

Título: AVALIAÇÃO DOS GENES NORMALIZADORES PARA CULTIVO PRIMÁRIO DE CÉLULAS FOLICULARES LUTEINIZADAS

Autores: Júlia Schneider^{1,2}, Amanda de Barros Machado^{1,2}, Helena von Eye Corleta^{2,3}, Diego Duarte Alcoba^{1,2}, Ilma Simoni Brum^{1,2}

Instituições: ¹Laboratório de Biologia Molecular Endócrina e Tumoral, Departamento de Fisiologia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS – BR; ²Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia Molecular, Centro de Pesquisa Experimental – Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS – BR; ³Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS – BR.

Resumo: Atualmente, as estratégias de avaliação e de seleção de oócitos destinados à maturação *in vitro* (MIV) dependem principalmente da morfologia do complexo *cumulus*-oócito (CCO). Porém, este método possui precisão menor do que a desejada, visto que oócitos não competentes muitas vezes são selecionados. Portanto, técnicas *in vitro* não invasivas de avaliação da qualidade do oócito para maturação e posterior fertilização *in vitro* (FIV) estão em desenvolvimento. Dentre estas, destaca-se a seleção de oócitos através da utilização do corante de vitalidade Azul Cresil Brillante (BCB). Em várias espécies animais a utilização do BCB já está consolidada; no entanto, os efeitos causados por este corante em embriões humanos provenientes de oócitos submetidos a esta técnica ainda não foram elucidados. Visto que a utilização de oócitos humanos para pesquisa é bastante restrita e que as células murais da granulosa (GC) e do *cumulus oophorus* (CC) apresentam íntima relação com o oócito na formação do folículo ovariano, a utilização do BCB nestas células permite elucidar de forma indireta, o possível efeito do BCB sobre oócitos humanos. A análise da expressão gênica de genes alvo que possam ter sido alterados após utilização do BCB é uma importante metodologia para identificar presença ou ausência de efeitos causados por este corante nos oócitos. Para que os resultados do perfil de expressão gênica sejam confiáveis é necessária a utilização de uma estratégia de normalização. O uso de genes normalizadores é tido como padrão-áureo para a normalização de resultados de RT-qPCR até o momento; porém, uma vez que não há um gene de referência universal, este deve ser determinado conforme o tipo de amostra utilizado. Desta forma, este estudo buscou avaliar e validar, dentre cinco candidatos, os genes normalizadores mais adequados para estudos de expressão gênica com cultura primária de GC e CC. Utilizando *software* específico para a determinação de genes normalizadores, este trabalho apresenta ACTB e HPRT-1 como sendo os mais adequados genes normalizadores dentre os analisados, para estudos de expressão gênica em cultura primária de células murais da granulosa e do *cumulus oophorus*, respectivamente.

Palavras-chaves: Genes normalizadores, expressão gênica, PCR em tempo real, células da granulosa, células do *cumulus oophorus*