



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	TEMPO DE EQUILIBRIO E CRIOPROTETORES NA VIABILIDADE CELULAR PÓS-VITRIFICAÇÃO DE TECIDO OVARIANO DE ZEBRAFISH: DADOS PRELIMINARES
Autor	THALES LYSAKOWSKI FLORES MACHADO
Orientador	DANILO PEDRO STREIT JUNIOR

TEMPO DE EQUILIBRIO E CRIOPROTETORES NA VIABILIDADE CELULAR PÓS-VITRIFICAÇÃO DE TECIDO OVARIANO DE ZEBRAFISH: DADOS PRELIMINARES

Thales Lysakowski Flores Machado (aluno), Danilo Pedro Streit Junior (orientador)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O Zebrafish (*Danio rerio*) é atualmente um modelo experimental mundialmente estudado. Essa espécie carrega consigo características biológicas interessantes para laboratório, como seu tamanho pequeno e de fácil manejo e excelente reprodução com intervalo de geração de 3 meses. Além disso, a espécie possui homologia genética de cerca de 70% com os humanos, sendo assim um modelo biológico amplamente utilizado em laboratórios de medicina humana. Dessa forma, estudos que visem a preservação do material genético de diferentes espécies é uma importante estratégia para reserva genética, especialmente para espécies em vulnerabilidade populacional. Para isso, a técnica de criopreservação de gametas, usando como modelo experimental o ebrafish, é uma ferramenta interessante, visando a manutenção da viabilidade celular em baixas temperaturas por tempo indeterminado. O presente estudo avaliou protocolos de vitrificação de tecido ovariano, utilizando diferentes tempos de equilíbrio e soluções de vitrificação. A solução de equilíbrio utilizada foi L-15 e metanol 1,5M associado Me₂SO 2,75M. As soluções de vitrificação utilizadas foram L-15 (90%, pH 9,0) e Metanol 1,5M associados com Me₂SO 5,5M (SV1), Me₂SO 5,5M+Sacarose 0,5M (SV2) e Me₂SO 5,5M + Alginato 2% (SV3) nos tempos de equilíbrio de 1, 7 e 15/4°C. Para isso coletou-se as gônadas de fêmeas de zebrafish, produzido fragmentos de tecido ovariano (2x2mm). Os fragmentos foram expostos a solução de equilíbrio no protocolo: L-15 e metanol (1,5M) associado com Me₂SO (2,75M) em três tempo 1, 7 e 15/4°C. Na sequencia os fragmentos foram expostos nas soluções de vitrificação: Me₂SO 5,5M (SV1), Me₂SO 5,5M+Sacarose 0,5M (SV2) e Me₂SO 5,5M + Alginato 2% (SV3) durante 90s e imediatamente imersos em nitrogênio líquido. O aquecimento foi realizado em banho maria à 38°C. O teste de viabilidade celular utilizado foi o ensaio de MTT. O teste do MTT é um teste colorimétrico usado para avaliar a viabilidade celular. Logo após o descongelamento os fragmentos de tecido foram expostos a solução de MTT e incubados à 28°C/2h. A fim de equalizar os dados em função de uma possível variação no tamanho dos fragmentos os dados foram analisados por grama de tecido. Aplicou-se análise de variância de duas vias, levando em consideração como fatores as soluções de vitrificação e tempo de equilíbrio, além da interação entre os fatores. Quando observado diferença ($p < 0,05$) na ANOVA, utilizou-se o teste de Tukey para comparação de médias. Houve efeito do tempo de equilíbrio ($p = 0,0002$), das soluções de vitrificação ($p = 0,0412$) e da interação dos fatores ($p = 0,0365$). Observamos diferença nos resultados de MTT entre os tempos de equilíbrio com a solução de vitrificação SV1 e SV3. Para o grupo criopreservado com a solução SV1 os tempos de equilíbrio de 1 e 7 min os valores de MTT, foram mais altos em comparação com o tempo de equilíbrio de 15 min. Para o grupo criopreservado com a solução SV3 o tempo de equilíbrio em 7 min apresentou maior valor de MTT, em comparação com os tempos de 1 e 15 min. O grupo criopreservado com a solução SV2, não houve diferença nos resultados de MTT entre os diferentes tempos de equilíbrio. Entre as soluções crioprotetoras, observamos diferença significativa nos tempos de 1 e 7 min. Para o tempo de equilíbrio de 1 minuto, o grupo SV1 apresentou melhor resultado em comparação ao grupo SV3, enquanto para o tempo de equilíbrio de 7 min a solução SV1 apresentou o maior valor de MTT, comparando ao SV2. Com os dados preliminares apresentados, de maneira geral a solução SV1 apresentou os melhores resultados, quando utilizada após o tempo de equilíbrio de até 7 minutos.