



|                   |  |
|-------------------|--|
| <b>Evento</b>     | Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS   |
| <b>Ano</b>        | 2015   |
| <b>Local</b>      | Porto Alegre - RS  |
| <b>Título</b>     | Avaliação da segurança da utilização do corante Azul Cresil Brilhante em modelo de cultura primária de células foliculares |
| <b>Autor</b>      | VANIA MARISIA SANTOS FORTES DOS REIS   |
| <b>Orientador</b> | HELENA VON EYE CORLETA   |

**Título:** Avaliação da segurança da utilização do corante Azul Cresil Brilhante em modelo de cultura primária de células foliculares

**Autora:** Vânia Marisia Santos Fortes dos Reis

**Orientadora:** Profa. Dra. Helena von Eye Corleta

**Instituição:** Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Introdução:** A seleção de oócitos destinados à maturação *in vitro* (MIV) baseia-se na morfologia do complexo *cumulus*-oócito, apesar de este método não ser preciso. Portanto, técnicas não invasivas de seleção de oócitos estão em desenvolvimento. Dentre estas, destaca-se a utilização do corante Azul Cresil Brilhante (BCB), já consolidada em espécies animais, mas ainda não em humanos. Uma das restrições da utilização do BCB em humanos é à falta de conhecimento do protocolo de aplicação do BCB que apresente-se seguro. Visto que a utilização de oócitos humanos para pesquisa é restrita e que as células murais da granulosa (GC) e do *cumulus oophorus* (CC) apresentam íntima relação com o oócito, a utilização do BCB nestas células permite elucidar, de forma indireta, o possível efeito do BCB sobre oócitos humanos e indicar o protocolo de aplicação do BCB mais seguro. Dessa forma, este estudo avaliou a viabilidade das GCs e CCs expostas a diferentes protocolos de aplicação do BCB.

**Métodos:** GCs e CCs foram coletadas de 24 pacientes submetidas a punção ovariana. Estas células foram cultivadas separadamente por 48 horas e então expostas a: DMEM com vermelho fenol (controle), DMEM sem vermelho fenol, DPBS ou DPBS modificado (mDPBS) – a fim de avaliar o melhor diluente para o BCB (primeira etapa experimental); a 13, 20 ou 26  $\mu\text{M}$  de BCB, a fim de avaliar concentração mais apropriada do BCB (segunda etapa experimental); ou a 13  $\mu\text{M}$  de BCB diluído em mDPBS por 60, 90 ou 120 minutos, a fim de determinar o melhor tempo de exposição (terceira etapa experimental). Após exposição aos tratamentos as células foram cultivadas por 48 horas e a proliferação (contagem celular com azul de tripan) e a viabilidade celular (ensaio de MTT) foram avaliadas.

**Resultados:** Os diferentes diluentes não promoveram diferença na viabilidade e na proliferação das células, quando comparado com o grupo controle. Da mesma forma, não houve diferença na proliferação celular quando as células foram expostas a diferentes concentrações de BCB. Porém GCs expostas à 26  $\mu\text{M}$  demonstraram menor viabilidade celular em relação aos grupos controle e 13  $\mu\text{M}$ . Igualmente, a viabilidade foi menor nas CCs tratadas com 26  $\mu\text{M}$  e 20  $\mu\text{M}$ , quando comparados com o grupo 13  $\mu\text{M}$ . Aquelas tratadas com 26  $\mu\text{M}$  tiveram menor viabilidade em relação àquelas com 13  $\mu\text{M}$  de BCB. Desta forma, a concentração 13  $\mu\text{M}$  foi utilizada na terceira etapa experimental. Quanto ao melhor tempo de exposição, GCs expostas ao corante por 90 minutos apresentaram menor proliferação em comparação ao grupo 60 minutos (contagem celular), não havendo diferença na viabilidade celular. As CCs demonstraram menor proliferação no grupo 120 minutos e menor viabilidade no grupo 90 minutos, comparado com o controle.

**Conclusão:** A viabilidade e a proliferação das células foliculares não foram comprometidas, quando expostas ao BCB 13  $\mu\text{M}$  diluído em mDPBS por 60 minutos, demonstrando a segurança da aplicação deste protocolo, e levantando a hipótese de que sua aplicação não irá interferir com a qualidade de oócitos humanos.