



Evento	Salão UFRGS 2019: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Avaliação da viabilidade celular por Trypan Blue usando como modelo fragmentos de tecido ovariano de zebrafish
Autores	JOSÉ DE BITENCOURT MARTINS GABRIELA THAIS PINHEIRO
Orientador	DANILO PEDRO STREIT JUNIOR

RESUMO

[máximo duas páginas]

TÍTULO DO PROJETO: Avaliação da viabilidade celular por Trypan Blue usando como modelo fragmentos de tecido ovariano de zebrafish.

Aluno: José de Bitencourt Martins

Orientador: Prof. Dr. Danilo Pedro Streit Jr.

RESUMO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS PELO BOLSISTA

O zebrafish (*Danio rerio*) é um teleósteo tropical de água doce, pertencente à família Cyprinidae. Esta espécie é utilizada como modelo animal em função do pequeno porte (4-5 cm de comprimento), fácil manejo, baixo custo de produção, completa embriogênese em 72h e o curto intervalo entre gerações, em torno de três meses, além de compartilhar mais de 70% de seu DNA com humanos, características que o tornam um excelente modelo experimental para estudos de reprodução assistida. Neste contexto, o Trypan blue (TB) é um corante comumente utilizado em estudos em que se faz necessária a avaliação da integridade de membranas, uma vez que, havendo a coloração interna da célula sabe-se que a membrana está danificada.

Buscou-se avaliar o efeito dos diferentes diluentes do TB em fragmentos de tecido ovariano de zebrafish, quanto a sua capacidade de contribuir para a geração de danos na membrana, assim produzindo um resultado falso de morte celular.

As fêmeas foram eutanasiadas por meio de imersão em dose letal de tricáína metano sulfonato (6 mg/L; 27°C ±0,5; pH 7,0 a 7,4. Os ovários foram coletados através da dissecação com auxílio de um bisturi e pinça, e então seccionados em fragmentos de 2x2mm numa placa de Petri e divididos aleatoriamente para as diferentes soluções contendo o TB a 0,4%. Foram utilizadas quatro soluções diluidoras: água destilada (MEDIR pH); L-15 (meio Leibovitz 90%; pH 9,0); PBS (pH 7,2) e solução salina 0,9% (pH 7,2). Os fragmentos ovarianos foram mantidos nas soluções corantes durante três minutos em temperatura ambiente e então lavados três vezes com suas respectivas soluções diluidoras sem a adição do corante. A partir disso, os fragmentos foram dispostos em lâminas de microscopia, e então avaliados em microscopia óptica de luz no aumento objetivo de 40x para contagem de oócitos com membranas íntegras (não corados) e com alteração (corados).

Para cada lâmina foram avaliados mais de duzentos oócitos e classificados como íntegros ou danificados. Não houve diferença significativa entre os tratamentos pela análise de Kruskal-Wallis ($p=0,2667$).

Para uma análise preliminar, todos os meios podem ser utilizados para a avaliação de integridade de membranas de oócitos de zebrafish. Porém, é importante considerar que o material utilizado não foi submetido à criopreservação. Portanto, novos testes devem ser realizados em oócitos pós-descongelamento. Provavelmente, os oócitos pós-descongelamento possuem maior fragilidade de membrana, sendo suscetíveis às diferenças de osmolaridade das soluções base que podem levar a resultados imprecisos de morte celular.