

UTILIZAÇÃO DO CORANTE AZUL CRESIL BRILHANTE COMO MÉTODO DE SELEÇÃO DE OÓCITOS HUMANOS DESTINADOS À MATURAÇÃO *IN VITRO*

Maiara Conzatti¹, Diego Duarte Alcoba¹, Ilma Simoni Brum da Silva¹, Edimarlei
Gonzalez Valério², Helena von Eye Corleta²

¹ Laboratório de Biologia Molecular Endócrina e Tumoral – ICBS – UFRGS

² Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução

Atualmente muitos casais necessitam de técnicas de Reprodução Assistida para tratamento da Infertilidade. Para procedimentos de fertilização *in vitro*, utilizam-se oócitos maduros coletados. Uma das novas técnicas propõe a coleta de gametas imaturos, com posterior maturação *in vitro* (MIV) de oócitos. A heterogeneidade dos gametas coletados dos ovários representa um obstáculo para fertilização, sendo necessário o desenvolvimento de técnicas que selecionem os gametas mais aptos à sofrerem a MIV. Uma dessas técnicas de seleção dos oócitos utilizada em animais é a aplicação do corante Azul Cresil Brilhante (BCB). Nesse método, oócitos imaturos, não capacitados, metabolizam o corante devido à alta atividade específica da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PDH) e, por isto, não são corados. Os oócitos mais capacitados se coram pelo BCB, como representado na Figura 1. Foi demonstrado que a identificação de oócitos aptos a MIV pelo BCB não apenas aumenta as taxas de maturação nuclear, mas também as taxas de nascidos vivos. Apesar da ampla utilização em espécies animais, não há descrição da aplicação do BCB em humanos.

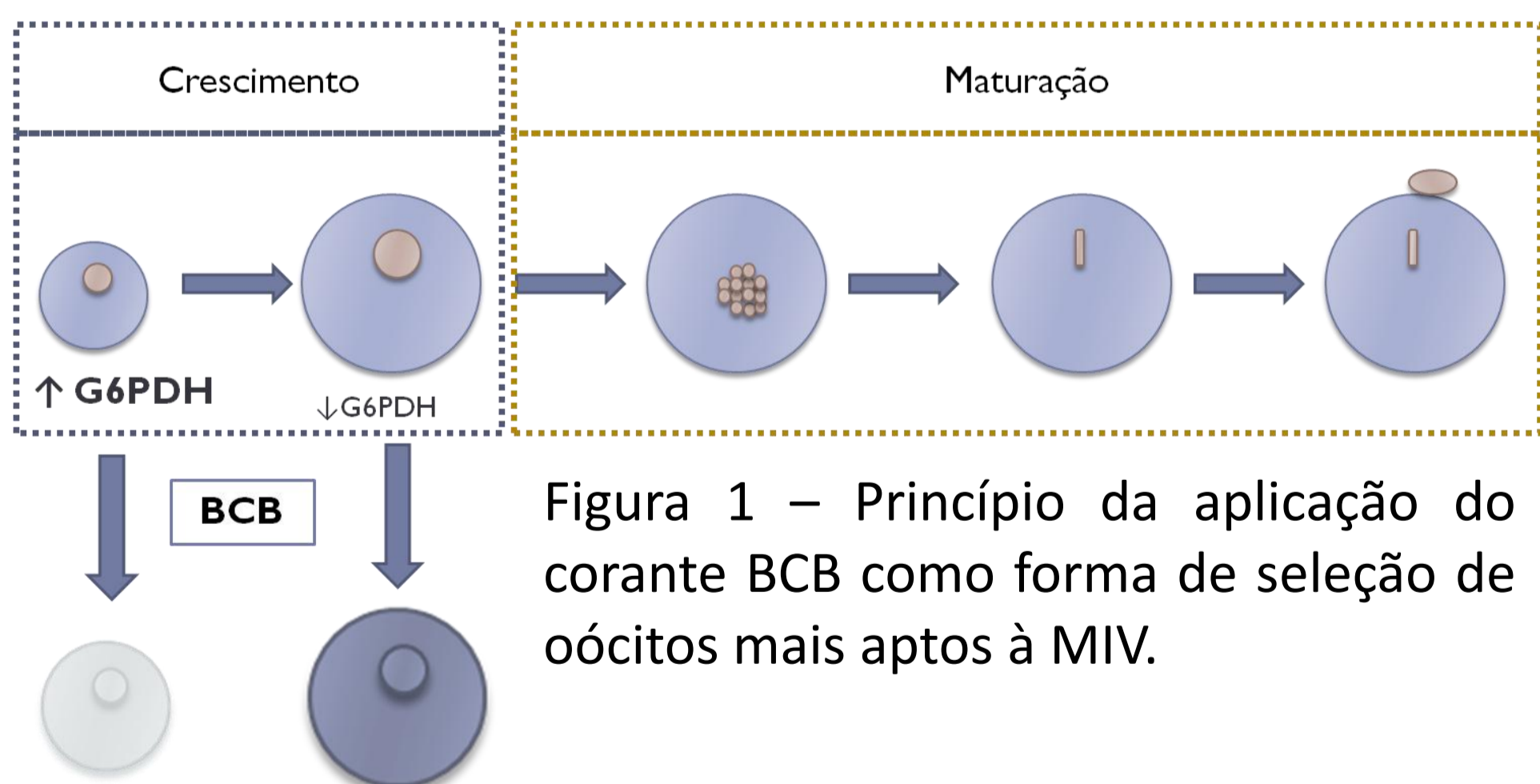


Figura 1 – Princípio da aplicação do corante BCB como forma de seleção de oócitos mais aptos à MIV.

Objetivo

Determinar se o BCB permite selecionar oócitos imaturos de humanos com maior potencial de desenvolvimento *in vitro*.

Materiais e Métodos

Estudo experimental *in vitro* no qual os complexos *cumulus oócito* foram coletados durante a cesareana de 32 gestantes no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (número do projeto aprovado: 110341).

Apoio Financeiro: CAPES/FIPE-HCPA/PIBIC CNPq - UFRGS

Os oócitos imaturos foram divididos em dois grupos: controle e experimental – exposto a 26 μ M de BCB por 90 minutos. Após a coloração, o grupo experimental foi classificado de acordo com a coloração do seu citoplasma em BCB positivo (citoplasma azulado) ou negativo (citoplasma incolor); posteriormente os oócitos foram destinados à MIV por até 48 horas. Após 24 horas de MIV as células do *cumulus oophorus* foram removidas para aferição do grau de maturação nuclear e da retomada de meiose do oócito.

Resultados

As taxas de maturação nuclear (MII) e de retomada de meiose (RM) estão representadas nas tabelas 1 e 2, respectivamente. A taxa de maturação nuclear foi maior no BCB positivo comparado ao BCB negativo, após 24 e 48h de MIV. Não houve diferença entre os grupos ao avaliar as taxas de retomada de meiose e de degeneração.

Tabela 1 – Taxa de maturação nuclear (MII);

^{A,B} Letras diferem estatisticamente entre as colunas ($P \leq 0.05$)

	n	MII 24 h	MII 48 h
Controle	38 (41.3)	12/38 (31.6) ^A	16/38 (42.1)
BCB +	17 (18.5)	8/17 (47.1) ^A	10/17 (58.8) ^A
BCB -	37 (40.2)	3/37 (8.1) ^B	8/37 (21.6) ^B
Total	92	23/92 (25.0)	34/92 (37.0)

Tabela 2 – Taxa de retomada de meiose (RM).

	RM 24 h	RM 48 h	Degeneração
Controle	16/38 (42.1)	17/38 (44.7)	15/38 (39.5)
BCB +	11/17 (64.7)	11/17 (64.7)	4/17 (23.5)
BCB -	16/37 (43.2)	16/37 (43.2)	20/37 (54.1)
Total	43/92 (46.7)	44/92 (47.8)	39/92 (42.3)

Conclusão

É possível recuperar oócitos durante procedimentos de cesárea e maturá-los *in vitro*. O BCB pode ser um bom marcador na seleção de oócitos humanos competentes e, aparentemente, não é tóxico para o gameta.