



FINOVA 2013

Feira de Inovação Tecnológica



Evento	Salão UFRGS 2013: Feira de Inovação Tecnológica UFRGS – FINOVA2013
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA CRIOPRESERVAÇÃO DE FOLÍCULOS OVARIANOS DE PEIXES USANDO VITRIFICAÇÃO
Autor	PEDRO HENRIQUE SALOMÃO
Orientador	DANILO PEDRO STREIT

Resumo

A criopreservação de embriões de peixes vem sendo investigada há mais de duas décadas, entretanto todos os protocolos testados até o momento falharam. A utilização de oócitos, mais recentemente, foi relatada como uma alternativa, no entanto, a maioria dos estudos foram realizados utilizando uma única técnica - o congelamento lento controlado – que ainda não se mostrou eficiente. A vitrificação, por outro lado, é um método de criopreservação ultrarápido que ocorre sem a formação de cristais de gelo, apresentando um melhor potencial para superar algumas das dificuldades relacionadas com a criopreservação de oócitos de peixes. No presente estudo desenvolveu-se um protocolo de vitrificação para folículos ovarianos de zebrafish em estágio III, onde a minha participação foi focada na coleta e seleção dos folículos ovarianos. Para tal os animais foram anestesiados utilizando óleo de cravo (Eugenol), numa diluição de 1:10 (Eugenol- Etanol). Após a localização dos folículos foi feita a retirada dos mesmos e em seguida foram conservados no meio L-15 (Leibovitz). Os oócitos foram avaliados e selecionados pelo seu tamanho e coloração. No projeto também faz parte a investigação do efeito do protocolo de vitrificação sobre os folículos em nível sub-celular, através da medição da concentração de ATP citoplasmático e da distribuição e atividade mitocondrial, utilizando sonda fluorescente JC-1 e microscopia confocal. Ao final observou-se que a integridade mitocondrial das células da camada da granulosa foi claramente prejudicada pelo protocolo de vitrificação e o nível de ATP nos folículos diminuiu significativamente ($P < 0,05$) após o aquecimento. A vitrificação de folículos ovarianos de zebrafish em estágio III e seu efeito em nível de subcelular são relatados aqui pela primeira vez. As informações obtidas a partir deste estudo serão muito úteis para guiar o desenvolvimento e otimização de um protocolo para a criopreservação de oócitos de peixes no futuro.