

## A VITRIFICAÇÃO IMPLICA EM ALTERAÇÕES NO TRANSCRIPTOMA OVARIANO ACARRETANDO EM MODIFICAÇÕES ULTRAESTRUTURAIS

Luiza Aparecida Ansaloni Chagas Pereira<sup>1</sup>, Íris Jhenifer de Almeida Assis<sup>1</sup>, Fernando Otávio Coelho<sup>1</sup>, Tânia Mara Segatelli<sup>2</sup>, Érika Cristina Jorge<sup>2</sup>, Luiz Lehmann Coutinho<sup>3</sup>, Paulo Henrique Almeida Campos-Junior<sup>1</sup>

1-Fertility Preservation Research Group, Universidade Federal de São João del Rei

2-Laboratório de Biologia Oral e do Desenvolvimento, Universidade Federal de Minas Gerais

3-Laboratório de Biotecnologia Animal, Departamento de Zootecnia, ESALQ/Universidade de São Paulo

Palavras Chave: Ovário; vitrificação; transcriptoma; extração; RNA-seq.

Tratamentos oncológicos são, em quase sua totalidade, gonadotóxicos e podem causar a infertilidade pela destruição da reserva folicular ovariana, seja por provocar a apoptose dos folículos em crescimento ou recrutamento dos folículos primordiais com posterior apoptose. Estudos previamente realizados pelo nosso grupo de pesquisa estabeleceram um protocolo para a vitrificação ovariana, que vêm sendo, de forma crescente, uma opção para as pessoas que almejam a preservação da fertilidade. No entanto, pouco se sabe sobre a expressão global dos genes que podem influenciar diretamente os resultados desse procedimento. O presente trabalho, por sua vez, teve como objetivo a avaliação do efeito da vitrificação no transcriptoma de ovários murinos bem como, validar esses achados através de análises morfofuncionais. Para isso as amostras obtidas foram separadas em dois grupos, CONTROLE com n=3 e VITRIFICADO também com n=3, os quais, após terem sido transplantados, passaram pelo processo de extração do RNA. Em seguida, foram obtidas bibliotecas com o *Illumina TruSeq*, e o sequenciamento feito no *HiSeq* utilizando-se a opção de leituras pareadas. Foi feita a mensuração dos dados brutos obtidos através do FASTQC e, posteriormente, o mapeamento foi realizado pelo STAR e as *reads* obtidas foram quantificadas pelo *HTseq count* e a análise da expressão diferencial realizada pelo Deseq2 ( $p < 0,05$ ). Também foi realizado o enriquecimento funcional através da plataforma DAVID, utilizando-se o termo de ontologia gênica para componentes celulares (GO-CC). Finalmente, os dados foram validados por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Foram detectados 16.602 genes no grupo vitrificado e 13.527 no controle, sendo 332 *up-regulated* e 291 *down-regulated* (vitrificados/controle). Dentro da GO-CC, o top 10 genes *up-regulated* foram: Krt13, Kif12, Gjb2, Areg, Sprr1a, 1110017d15rik, Misp, Ktr8, Lama3 e Gjb4, sendo que a maioria se relaciona ao citoesqueleto, à manutenção da integridade estrutural, às junções celulares, transporte e divisão celular. Dessa forma, a validação dos dados pela MET revelou abundância de componentes do citoesqueleto e juncionais, sugerindo, que a indução gênica pode ser um mecanismo compensatório para a manutenção da estrutura celular após a vitrificação. O top 10 *down-regulated* foi: Chrm4, Gbp5, Cyp4v3, Papln, Ugt1a6a, Sybu, Trabd2b, Bmper, Enpp1 e Scube2, dentre os quais foram detectados genes com funções associadas à sinalização celular, peptidases de componentes de membrana, retículo endoplasmático e complexo de Golgi. A MET revelou que as amostras vitrificadas apresentaram menor quantidade de componentes de membrana, prolongamentos citoplasmáticos, e organelas. Assim, de maneira geral, os resultados obtidos através desse trabalho apontam que a vitrificação implica em modificações na expressão de genes no tecido ovariano que acarretam em modificações ultraestruturais desse tecido.