

Resumo de tese para Mestrado

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA ATRAVÉS DA MICROSCOPIA ÓTICA DOS EFEITOS DA CRIOPRESERVAÇÃO EM TECIDO OVARIANO DE BOVINOS

Mestranda: Rívia Mara Lamaita
Orientador: Aroldo Fernando Camargos.

OBJETIVO: o objetivo deste estudo foi demonstrar os efeitos do congelamento e descongelamento em tecido ovariano de bovino através da análise histológica por microscopia ótica, desde que exista a necessidade de novas pesquisas para tentar preservar as funções reprodutivas e a reposição de oócitos.

DESENHO: estudo animal

MATERIAL E MÉTODOS: 18 vacas foram sacrificadas em um frigorífico aprovado pelo Ministério da Saúde e seus ovários foram coletados e transferidos imediatamente para o meio Leibovitz (Sygma). 10 amostras corticais (com 2-4 mm de diâmetro) foram obtidas de cada ovário acima mencionado por biópsia tipo tru-cut. 90 fragmentos frescos da cortical foram examinados por análise histológica como grupo controle foram congelados lentamente usando DMSO como crioprotetor, acrescentando também sucrose e permanecendo as amostras em nitrogênio líquido a -196° C por 2 semanas. Após este período eles foram descongelados rapidamente. Estas amostras também foram analisadas histologicamente. A média de folículos normais entre as amostras foram comparadas usando teste t student.

RESULTADOS: a análise histológica de todos os fragmentos não demonstrou danos histológicos à microscopia ótica em folículos primordiais, primários e na estrutura do órgão.

CONCLUSÃO: nossos dados sugerem que os procedimentos de criopreservação aplicados ao tecido ovariano podem não danificar a morfometria dos ovários à microscopia ótica. Assim, um banco de tecido ovariano é possível de ser estabelecido, embora maiores estudos posteriores devam ser feitos antes de oferecer este método como uma rotina.

PALAVRAS-CHAVE: Infertilidade, criopreservação, descongelamento, tecido ovariano, bovino, banco de tecidos.

ABSTRATO:

Uma nova linha de pesquisa preocupada com a preservação da capacidade funcional endócrina do ovário e seu potencial de fertilidade vem sendo desenvolvida como alternativa para mulheres jovens e portadoras de doença cancerígena, ou com história familiar para a instalação de menopausa precoce ou aquelas com desejo próprio em protelar a maternidade. Para tanto foi desenvolvido em nosso centro um estudo experimental, envolvendo o congelamento de 90 fragmentos de tecido ovariano obtido de fêmeas bovinas. Esses pequenos cortes foram comparados histologicamente através da microscopia ótica quanto a manutenção e morfologia dos folículos primordiais e primários após seu descongelamento, com 90 fragmentos de tecido ovariano à fresco. Foi utilizado o método lento de congelamento, tendo como crioprotetor o DMSO e o *seeding* manual a -6° C. O processo de descongelamento foi rápido, com queda progressiva nas concentrações do crioprotetor durante as lavagens do material. Observou-se não ter havido diferenças estatisticamente significativas na recuperação dos folículos entre os grupos congelado e a fresco. Concluiu-se assim que o método de congelamento de tecido ovariano é possível de ser realizado, porém um protocolo ideal e sua

extensão como um procedimento de rotina entre as técnicas de reprodução assistida em humanos necessita de maiores pesquisas.

SUMMARY

OBJECTIVE: The aim of this study was to show the effects of freezing and thawing in cow ovarian tissue by histological analysis, since there is a need for new approaches to preserve reproductive functions and to replace the oocytes.

DESIGN: Animal study.

MATERIAL AND METHODS: 18 cows were sacrificed in an appropriated place, approved by the Health's Ministry and their ovaries were collected and transferred immediately to Leibovitz medium (Sigma). 10 cortical slices (2-4 mm in diameter) were obtained from each above-mentioned ovary by tru-cut biopsy. 90 cortical fresh fragments were examined by histological analysis as a control tissue and 90 fragments were slowly frozen using DMSO as a cryoprotector plus sucrose during two weeks and then they were fastly thawed. After that these pieces were also studied by histological examination. The mean proportions of normal follicles within the tissue samples were compared using Student t test.

RESULTS: histological examination of all fragments showed no damage on primordial and secondary follicles or on organ structure.

CONCLUSION: Our data has suggested that the cryopreservation procedure applied to ovarian tissue may not cause any damage to the functional structure of the ovaries. So an ovarian tissue banking are feasible although further studies should be done before offering this methodology as a routine.

KEYWORDS: Infertility, cryopreservation, thawing, ovarian tissue, bovine, tissue bank.