



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Análises histológicas de fragmentos ovarianos preparados em diferentes tamanhos e cultivados pós-vitrificação em uma cápsula metálica com grau clínico.
<b>Autor</b>	DOUGLAS DE CAMPES AQUINO
<b>Orientador</b>	GERALDO PEREIRA JOTZ

**Objetivo:** testar um novo método de criopreservação de tecido ovariano que permita a vitrificação de fragmentos de tamanho maior do que o padrão, em vista de reestabelecer a função ovulatória e hormonal normal da mulher que por algum motivo se tornou infértil, como por exemplo, pelo dano quimio/radioterápico. Nesse trabalho, como continuação de nosso estudo anterior, mantém-se o método com o uso de uma cápsula metálica vedada que impede o contato com o nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>L), permitindo a manutenção da esterilidade do procedimento quando aplicado com grau clínico. As análises foram realizadas em microscópio óptico voltadas à morfologia dos componentes foliculares assim como do estroma, responsável pela revascularização num futuro transplante. Dois tamanhos de fragmentos foram testados.

**Material & Métodos:** ovários bovinos chegaram ao laboratório uma hora após o abate, transportados em garrafa térmica com soro fisiológico à temperatura ambiente. Fragmentos de 1mm<sup>3</sup> (1x1x1mm) e fragmentos de 10mm<sup>3</sup> (1x1x10mm) foram cortados manualmente com auxílio de bisturi e pinça e posteriormente vitrificados ou fixados (controle). Os tecidos que foram vitrificados passaram por soluções preparatórias à vitrificação: SE e SV.

A técnica de vitrificação consiste na acomodação dos fragmentos no fundo de uma cápsula metálica que é hermeticamente fechada e jogada no N<sub>2</sub>L. Para desvitrificação a cápsula é exposta à temperatura ambiente por 30-40 seg e ao banho Maria a 37°C por até 1min. Os tecidos foram então transferidos para as soluções de desvitrificação compostas de 1M, 0.5M e 0.25M de sacarose, por 1,3 e 5min em cada, respectivamente, antes de serem postos em cultura em meio HTF, em incubadora de CO<sub>2</sub> a 38.5°C ou fixados.

**Resultados:** análises histológicas confirmaram não haver diferenças significativas na morfologia folicular e do estroma entre os fragmentos pequenos criopreservados nas cápsulas e o controle. Os fragmentos maiores apresentaram queda proporcional no número de folículos intactos. A cultura de 24 horas dos fragmentos de 1mm<sup>3</sup> vitrificados demonstrou que os folículos primordiais e primários não perderam a viabilidade após criopreservação na cápsula metálica. Em todos os tecidos analisados, as células do estroma mantiveram núcleos fusiformes, heteropicnóticos e as fibras colágenas compactadas e íntegras, preenchendo espaços em torno dos folículos e vasos.

**Conclusões:** estes resultados indicam que ambos os tamanhos de tecido testados para vitrificação utilizando a cápsula metálica, são válidos e apropriados para criopreservação de tecido ovariano visando terapias com grau clínico. Estes resultados foram reforçados com os resultados obtidos com os fragmentos que foram cultivados após a desvitrificação. Deve-se enfatizar, ainda, a manutenção da integridade dos folículos primordiais e primários representantes da reserva ovariana feminina e seu potencial reprodutor. Para uma resposta mais definitiva, testes com vitrificação e posterior reimplante ainda serão executados.