

MEDIÇÕES DE GLUTATIONA EM TECIDO OVARIANO APÓS CRIOPRESERVAÇÃO

Maitê Ferreira ^{*1}; Eloisa Massignam ², Eduardo Sanginet³, Fabio Klant², Lucia Meirelles ²,
Isabel Saorin Conte¹; Nivia Lothhammer ³, Adriana Bos-Mikich ³

1 Faculdade de Medicina, UFRGS, Porto Alegre, Brasil. 2 Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

3 Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

*e-mail main author: maiteferreira16@gmail.com

Introdução: A criopreservação de tecido ovariano humano é uma opção atraente para mulheres jovens que enfrentam um tratamento oncológico, não apenas porque elas poderão ter seus filhos biológicos, mas também porque elas poderão ter restabelecida sua função ovariana. A vitrificação é um método de criopreservação do tecido ovariano. Nosso grupo desenvolveu um sistema fechado em aço inox, o qual apresenta as vantagens de promover a criopreservação com grau clínico e taxas muito rápidas de resfriamento. Análises histológicas demonstraram que a morfologia do tecido ovariano não é alterada após vitrificação na capsula metálica. Antes de podermos extrapolar estes resultados para testes clínicos é necessário acessar a viabilidade tecidual em termos fisiológicos. A glutathione reduzida (GSH) tem importante papel em proteger as células contra o estresse oxidativo. Suas concentrações representam um fator importante na sobrevivência tecidual após criopreservação. **Objetivo:** Determinar as concentrações de GSH em tecido ovariano fresco e após vitrificação. **Material e Métodos:** Tecido ovariano bovino foi cortado em dois tamanhos: pequeno (1 x 1 x 3mm) e grande (1 x 1 x 5mm). Fragmentos foram expostos às soluções de vitrificação e vitrificados na cápsula metálica. Após reaquecimento, amostras foram colocadas em tampão de lise ou cultivadas por 48 hrs. Após, os tecidos foram colocados no mesmo tampão e armazenados a -80°C. As concentrações de GSH foram determinadas utilizando um método de espectrofotometria. Valores finais foram corrigidos para a concentração proteica das amostras obtida pelo método Bradford. **Resultados:** GSH pode ser detectado em todos os grupos experimentais. Após reaquecimento e cultura, os níveis de GSH apresentaram um aumento significativo em comparação aos valores observados em tecidos frescos ou vitrificados sem cultura. **Conclusão:** O metabolismo do GSH em tecido ovariano é mantido sugerindo assim, que a vitrificação não é deletéria para a sobrevivência tecidual e sua atividade fisiológica.

Número do registro do projeto no comitê de ética: 25088

MEASUREMENT OF GLUTATHIONE IN OVARIAN TISSUE AFTER CRYOPRESERVATION

Maitê Ferreira ^{*1}; Eloisa Massignam ², Eduardo Sanginet ³, Fabio Klant ², Lucia Meirelles ²,
Isabel Saorin Conte ¹; Nivia Lothhammer ³, Adriana Bos-Mikich ³

1 Faculdade de Medicina, UFRGS, Porto Alegre, Brasil. 2 Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 3

Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

*e-mail main author: maiteferreira16@gmail.com

Introduction: Human ovarian tissue cryopreservation is an attractive option for young women facing an oncological treatment, not only because they may have their biological children in the future, but also because they may have reestablished their ovarian function. Vitrification is an effective means of cryopreserving ovarian tissue. Our group developed a closed system made of stainless steel, which has the advantages of providing clinical grade cryopreservation and very fast cooling rates. Histological analyses have shown that the morphology of bovine ovarian tissue remains unaltered after vitrification in the metal cryovial. Before extrapolating these results to a human clinical trial, there is the need to assess tissue viability with physiological parameters. Reduced glutathione (GSH) has a key role in protecting cells against oxidative stress. Thus, its concentrations represent an important factor on cell and tissue survival after cryopreservation. **Aim:** The purpose of the present study was to measure the concentrations of the GSH in fresh and vitrified/rewarmed ovarian tissue. **Material and Methods:** Bovine ovarian tissue was cut in two fragment sizes: small (1 x 1 x 3 mm) and large (1 x 1 x 5). Tissues were exposed to vitrification solutions and vitrified in the metal cryovial. After rewarming, samples were either placed in lysis buffer or cultured in HTF medium for 24 or 48 hrs. Following culture, tissue fragments were placed in the buffer and stored at -80°C. GSH contents were determined using a spectrophotometry-based assay. Values were corrected for protein concentration determined by the Bradford assay. **Results:** GSH could be detected in all experimental groups. After rewarming and culture GSH levels present a significant increase compared to values observed in fresh or vitrified tissues without culture. **Conclusion:** GSH metabolism in vitrified rewarmed bovine ovarian tissue is maintained, suggesting that vitrification is not detrimental to tissue survival and physiological activity.

Ethics committee approval no. 25088