

Análise da Integridade dos Elementos da Matriz Extracelular após Criopreservação de Tecido Ovariano



Betina Iser¹

Adriana Bos-Mikich²

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

²Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Introdução

Em tecnologias de Reprodução Assistida, a criopreservação de embriões e oócitos humanos já está bem estabelecida. Porém, para pacientes que potencialmente podem perder a sua capacidade reprodutiva, a criopreservação de tecido germinativo é uma alternativa mais atraente, a qual tem apresentado avanços significativos na última década.

Na gônada feminina, junto com as estruturas foliculares e o oócito existe uma grande quantidade de estroma caracterizado por matriz extracelular (MEC) contendo fibras colágenas e células associadas. A manutenção do estroma é de fundamental importância para a sobrevivência das estruturas foliculares e do gameta feminino quando o tecido é re-transplantado pós-criopreservação. Dessa forma, neste estudo procuramos avaliar a integridade de fragmentos ovarianos bovinos cortados em dois tamanhos diferentes, vitrificados, reaquescidos e corados com a técnica histológica de Gomori, específica para visualização dos componentes da matriz extracelular presentes no estroma ovariano.

Materiais e Métodos

Os ovários bovinos foram trazidos ao laboratório após o abate, em garrafa térmica, à temperatura ambiente.

Cortes do córtex ovariano foram fragmentados em amostras de aproximadamente 1x1x1 mm³ e 1x1x10 mm³, considerados fragmentos pequenos e grandes, respectivamente. Os tecidos foram expostos à solução de equilíbrio e solução de vitrificação, ambas contendo etilenoglicol e dimetilsulfóxido. Os fragmentos foram armazenados em uma cápsula metálica e imersos em nitrogênio líquido.

Após cerca de duas semanas, os fragmentos foram desvitrificados em soluções contendo diferentes concentrações de sacarose. Os tecidos foram fixados e preparados para análises histológicas utilizando-se a coloração tricrômica (Gomori), para visualização das fibras colágenas presentes na matriz extracelular.

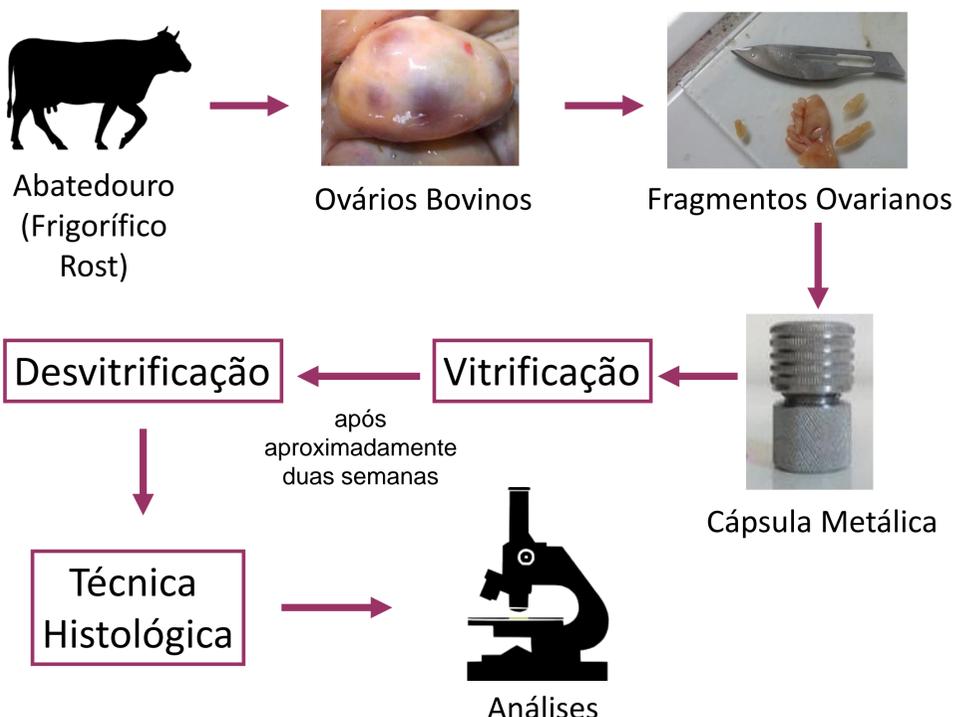
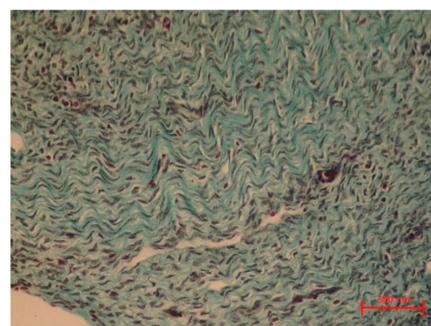


Figura 1: Esquema ilustrativo de metodologia de vitrificação e análise histológica do tecido ovariano bovino.

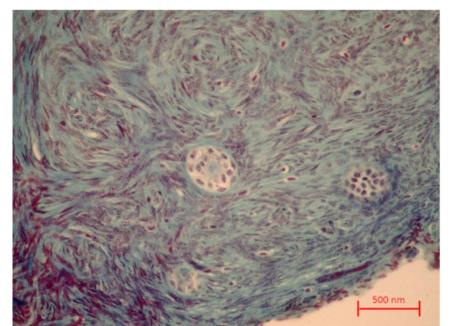
Resultados

Os cortes foram avaliados qualitativamente (figura 2).

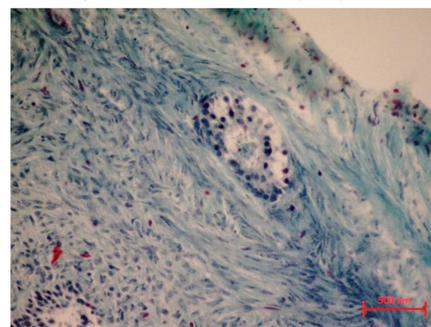
Os fragmentos pequenos vitrificados tiveram pouca retração em comparação ao controle. Os fibroblastos apresentaram núcleos morfolologicamente normais, sugerindo a manutenção de sua viabilidade. As fibras colágenas não apresentaram danos. Os fragmentos grandes apresentaram maior retração no tecido vitrificado, porém acredita-se que tais danos não impossibilitem a reimplantação do tecido, uma vez que também não houve rompimento significativo da matriz extracelular nestas amostras.



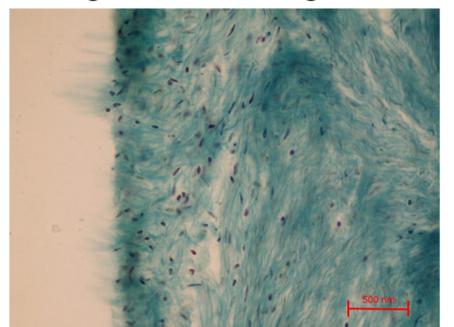
A- Fragmento controle pequeno 400x



B- Fragmento controle grande 400x



C- Fragmento vitrificação pequeno 400x



D- Fragmento vitrificação grande 400x

Figura 2: Fotos microscópicas (A, B, C e D) de lâminas coradas com coloração de Gomori em aumento de 400x.

Conclusão

A partir do presente estudo podemos sugerir que a técnica de vitrificação empregada é capaz de preservar com melhor eficiência fragmentos ovarianos pequenos. Os eventuais danos encontrados durante a análise não impediriam o sucesso na reimplantação deste tecido e portanto a preservação da fertilidade feminina.