

A capacidade de defesa antioxidante em tecidos ovarianos após a vitrificação

Autor: Eduardo Sanguinet Orientador: Adriana Bos-Mikich

Departamento de Ciências Morfológicas do Instituto de Ciências Básica da Saúde (ICBS) – UFRGS

Departamento de Bioquímica do Instituto de Ciências Básica da Saúde (ICBS) – UFRGS

Introdução

A criopreservação de tecido ovariano representa uma opção para restaurar a função hormonal e reprodutiva de meninas e mulheres com câncer. Contudo, a criopreservação de tecido ovariano pode induzir estresse oxidativo nas amostras, o que pode causar prejuízo às células e comprometer a viabilidade e função do tecido após o retransplante. A capacidade de defesa antioxidante das amostras pós-vitrificação pode ser comprometida pelo procedimento de criopreservação. O presente estudo tem como objetivo avaliar se a capacidade de defesa antioxidante e a viabilidade do tecido pós-criopreservação.

Materiais e Métodos

Os fragmentos de ovários bovinos foram vitrificados em solução de HTF contendo 15% de DMSO, 15% de etilenoglicol (EG) e 0,5 M de sacarose. As amostras foram vitrificadas em uma cápsula de metal. Após o aquecimento os fragmentos foram postos em tampão de lise ou cultivados durante 48 horas. Depois do cultivo as amostras foram postas no tampão de lise para a medição de glutathiona (GSH) e proteína -SH e o teste de potencial antioxidante total (TRAP). O meio de cultura foi coletado para análise de LDH. Os experimentos foram realizados em triplicada.

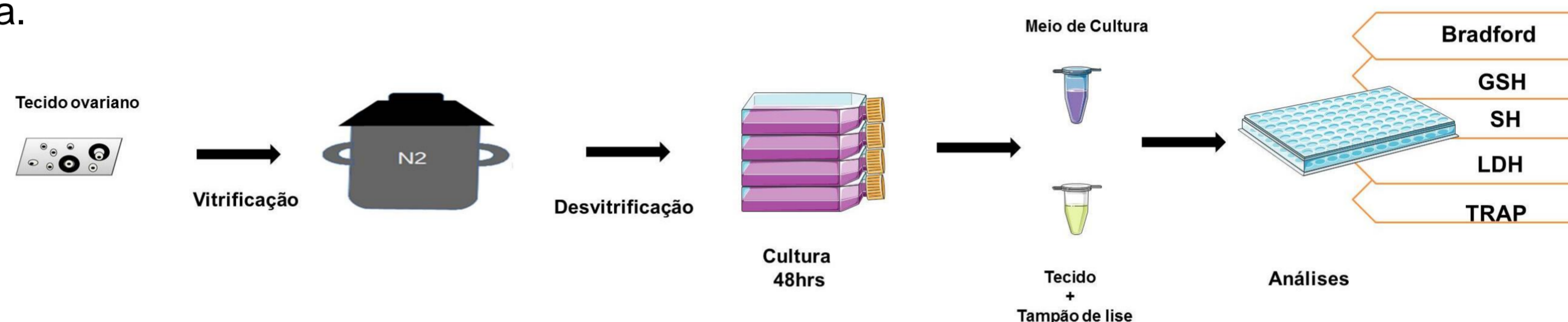


Figura 1: Figura esquemática da realização do fluxograma dos experimentos.

Resultados

Nossos resultados mostraram que não houve diferenças significativas de GSH e -SH entre os grupos vitrificados reaquecidos quando comparados aos grupos controles frescos. A análise de TRAP também não mostrou diferença entre o material vitrificado e o fresco. O mesmo foi visto para o LDH, onde não se observou um aumento do mesmo nos meios de cultura dos grupos experimentais e os controles.

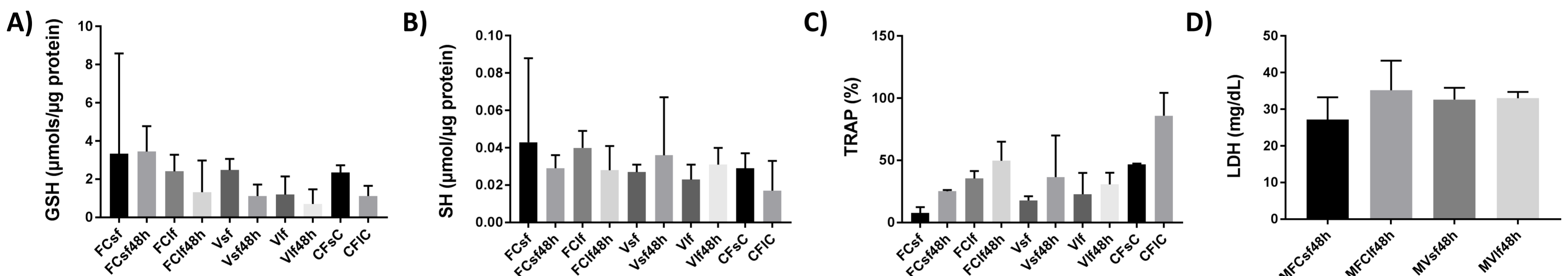


Figura 2: Resultados dos parâmetros bioquímicos das análises realizadas nos grupos controles e vitrificados com ou sem cultura. **A** Os níveis de GSH em fragmentos fresco controle, vitrificado sem cultura, vitrificado com cultura e fresco sem cultura controle de tecido ovariano ($P=0,750$). **B** Níveis de proteínas portadoras de grupamento tiol (-SH) sem diferença significativas entre os grupos experimentais ($p=0,915$). **C** Níveis do TRAP em todos os grupos experimentais e controles ($P=0,060$). **D** Os níveis de LDH nos meios de cultivos dos fragmentos controles e vitrificados após 48 hrs ($P=0,371$). FCsf: Fresh control small fragments; FCsf 48h: Fresh control small fragments 48 hrs culture; FClf: Fresh control large fragments; FClf48h: Fresh control large fragments 48 hrs culture; Vsf: Vitrified small fragments; Vsf48h: Vitrified small fragments 48 hrs culture; Vlf: Vitrified large fragments; Vlf48h: Vitrified large fragments 48 hrs culture; CfsC: Culture fresh small control; CffC: Culture fresh large control; MFCsf 48h: Medium of Fresh Control samll fragments cultured 40 hrs; MFClf48h: Medium of Fresh Control large fragments cultured 48hrs; MVsf48h: Medium from vitrified small fragments cultured 48hrs; MVlf48h: Medium from vitrified large fragments cultured 48 hrs.

Conclusão

Nossos resultados mostraram que o presente protocolo de vitrificação, usando DMSO e EG como crioprotetores e a cápsula metálica não prejudicam a capacidade de defesa antioxidante após o reaquecimento e não existe aumento nos níveis de LDH após o período de cultura. Estes resultados permitem sugerir a aplicação desta metodologia de criopreservação para a vitrificação de de tecido ovariano humano com grau clínico.

Apoio:

 NILO FRANTZ
Centro de Reprodução Humana

Frigorífico Rost