

# Avaliação funcional do transplante autólogo heterotópico de ovários: estudo experimental em ratas

## *Functional assessment of autologous heterotopic transplant of ovaries: An experimental study on female mice*

Guilherme Velloso Diniz<sup>1</sup>, Ishabella Karla Drumond Soares<sup>2</sup>, Karina Miranda Brunelli<sup>2</sup>, Laura Torres da Costa<sup>2</sup>, Luiza Monteiro Rodrigues Magalhães<sup>2</sup>, Taiane Nunes Barcellos<sup>2</sup>

### RESUMO

**Introdução:** nas últimas décadas, dois fatos têm sido constantemente relatados na literatura, o aumento de mulheres em idade reprodutiva com o diagnóstico de câncer e o aumento de idade das primíparas. Esses fatos têm estimulado estudos sobre estratégias de preservação da fertilidade feminina. **Objetivos:** avaliar, por meio de esfregaço vaginal e estudo morfológico, a viabilidade funcional do tecido ovariano transplantado. **Métodos:** foram usadas 30 ratas *Wistar albinus*, com função hormonal preservada, distribuídas aleatoriamente em seis grupos: G1. Controle – laparotomia; G2. Ooforectomia bilateral; G3. Ooforectomia bilateral, com implantação de um ovário íntegro na região femoral; G4. Ooforectomia bilateral, com implantação de um ovário fatiado na região femoral; G5. Ooforectomia bilateral, com implantação de um ovário íntegro no grande epiplon; G6. Ooforectomia bilateral, com implantação de um ovário fatiado no grande epiplon. Com 35 e 120 dias de pós-operatório, foram feitos esfregaços vaginais e retirada, para estudo morfológico, dos ovários transplantados. Com 150 dias, os grupos G3 a G6 foram submetidos a novo esfregaço vaginal. **Resultados:** todos os animais do grupo G1 apresentaram função hormonal. Todo o grupo G2 manteve-se em diestro. No grupo G3, quatro animais tinham padrão compatível com a fase estral no esfregaço de 35 dias e um animal manifestou ovulação com 120 dias. No grupo G4, apenas um animal permaneceu em diestro pós-transplante. No G5 todos tinham ovário funcionando. No grupo G6, quatro apresentaram função hormonal com 35 dias e apenas três com 120 dias. Todos os esfregaços de 150 dias foram classificados como diestro. **Conclusões:** o transplante autólogo de ovários é tecnicamente viável e a utilização do esfregaço vaginal para avaliar a função hormonal desse ovário também é viável, em ratas.

**Palavras-chave:** Transplante Autólogo; Ovário; Ratos; Ovariectomia; Esfregaço Vaginal.

### ABSTRACT

**Introduction:** Two facts have been constantly reported in the literature over the last decades, namely: the increased number of reproductive-age women with cancer and the increased age of primiparas. Both facts have encouraged studies on strategies to preserve women's fertility. **Objectives:** To perform vaginal swab and morphological study to assess the functional viability of transplanted ovarian tissue. **Methods:** 30 female *Wistar albinus* mice with preserved hormonal function were randomly distributed in six groups: G1. Control – laparotomy; G2. Bilateral oophorectomy. G3. Bilateral oophorectomy with intact ovarian implant in the femoral region; G4. Bilateral oophorectomy, with sliced ovarian implant in the femoral region; G5. Bilateral oophorectomy with intact ovarian implant in the great omentum; G6. Bilateral oophorectomy with sliced ovarian implant in the great omentum. Vaginal swab and removal for morphological study of the transplanted ovaries were carried out on the 35th and 120th days after surgery. Groups G3 and

<sup>1</sup> Professor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina de Barbacena, Assistente Efetivo da II Clínica Cirúrgica de Mulheres – Santa Casa de Belo Horizonte; Cirurgião Titular da Fundação Hospitalar de Minas Gerais – FHEMIG. Belo Horizonte, MG – Brasil.

<sup>2</sup> Acadêmicas do 6º ano do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Barbacena. Barbacena, MG – Brasil.

Recebido em: 22/06/2011  
Aprovado em: 04/11/2011

**Instituição:**  
Faculdade de Medicina de Barbacena  
Barbacena, MG – Brasil

**Endereço para correspondência:**  
Dr. Guilherme Velloso Diniz  
Rua Ceará 195, sl 701  
Belo Horizonte, MG – Brasil  
CEP: 30150.310  
Email: guilhermevelloso.cir@terra.com.br

*G6 were submitted to new vaginal swab on the 150th day. Results: All G1 mice had hormonal function. All G2 mice remained in diestrus. The patterns of four G3 mice were consistent with estrus on the 35th day, and one mouse ovulated on the 120th day. Only one G4 mouse remained in diestrus after transplantation. All G5 had functioning ovary. Four G6 mice manifested hormonal function on the 35th day and only three on the 120th day. All the 150th-day swabs were classified as diestrus. Conclusions: Autologous ovarian transplant is technically feasible in female mice as much as vaginal swab for hormonal function assessment.*

*Key words: Autologous Transplant; Ovary; Mice; Ovariectomy; Vaginal Swab.*

## INTRODUÇÃO

Define-se menopausa como a interrupção permanente da menstruação acompanhada de falência ovariana. Ela ocorre fisiologicamente em mulheres com idade média de 51 anos, nas quais há declínio dos níveis de estrogênio, progesterona e androgênios.<sup>1</sup> A menopausa também decorre da retirada dos ovários – procedimento frequente no tratamento do câncer dessas gônadas – e da inibição da função ovariana por tratamento oncológico coadjuvante, associado ou não à radioterapia.<sup>2</sup>

A diminuição ou falta de hormônios sexuais femininos atuando em diferentes partes do organismo produz sinais e sintomas próprios, conhecidos no seu conjunto por síndrome climatérica.<sup>3-6</sup> A ausência de progesterona está associada à redução de sintomas pré-menstruais. Níveis reduzidos desse hormônio afetam órgãos que respondem aos hormônios gonadais, como o endométrio e a mama. O estrogênio é essencial a certos processos metabólicos, inclusive não relacionados à fertilidade, e níveis suficientemente baixos são capazes de repercutir no estado geral, além de causar diversos sintomas.<sup>1,6</sup> O declínio dos níveis estrogênicos são acompanhados por altos níveis de FSH, que comprovam a resistência ovariana e a falência dos mecanismos ovulatórios, ou pelo fim da capacidade reprodutiva.<sup>3,6,7</sup>

O aumento de mulheres em idade reprodutiva com o diagnóstico de câncer e o aumento de idade das primíparas são frequentemente relatados na literatura.<sup>8-10</sup> Sua coexistência estimula o estudo sobre estratégias de preservação da fertilidade feminina.

A preservação de embriões e ovócitos, a preservação total ou parcial dos ovários, a transposição ovariana e o transplante – autólogo ou heterólogo – de ovário são estratégias estudadas que apresentam, ainda, resultados contraditórios quanto à recuperação da função ovariana.<sup>4,10,11</sup>

Novos estudos ainda são necessários para melhor compreensão do processo de preservação, transposição e transplante do ovário. O presente trabalho pretende determinar a efetividade da técnica de auto-transplante de tecido ovariano para região femoral e peritoneal de ratas, pelo estudo indireto da produção hormonal, feita pela avaliação da citologia de esfregaços vaginais e do estudo direto da viabilidade tecidual, realizado por meio da análise histológica.

## MÉTODOS

O presente estudo seguiu as normas de pesquisa animal e os princípios éticos na experimentação definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as resoluções sobre pesquisa animal definidas pela Convenção de Helsinki (1965) e suas revisões de Tóquio (1975), Veneza (1983), África do Sul (1996) e Escócia (2000). Seguiu, ainda, as Resoluções 196/96 e 251/97 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIPAC (protocolo nº 080/06) e realizada entre março de 2009 e fevereiro de 2010.

Foram estudadas 30 ratas da raça *Wistar albinus*, com peso variando entre 150 e 300 g, expostas a ciclos de claro e escuro e à temperatura ambiente e alimentadas com dieta normal de ração industrializada e água filtrada, sem restrição.

Inicialmente, todos os animais foram submetidos ao primeiro esfregaço vaginal para determinação do padrão hormonal da amostra. Os esfregaços vaginais, com base no desenvolvimento da citologia esfoliativa, foram colhidos em *swab*, o qual foi introduzido até o fundo vaginal, fazendo-se rotação de 360 graus para obter-se a descamação das células epiteliais.

O material coletado foi estendido em lâminas de vidro, fixadas em álcool 95% e coloradas pela técnica de Papanicolau. Segundo Montes e Luque, identificou-se a fase estral segundo o tipo e o aspecto das células presentes nos esfregaços (proestro, metaestro, estro e diestro) e a quantidade de células epiteliais descamadas, de leucócitos e da presença de muco.<sup>6,12,13</sup> Caracterizou-se como diestro os esfregaços vaginais com predominância de leucócitos e com algumas células epiteliais em permeio – fase pré-ovulatória ou em menopausa. Considerou-se como proestro os esfregaços vaginais com predomínio de células polimorfonucleadas, dispersas ou acumuladas – fase

ovulatória. A fase estro – pós-ovulatória – foi caracterizada pela predominância de células epiteliais, escamosas e corneificadas.

Somente as ratas que apresentavam função hormonal preservada – proestro, metaestro e estro – foram incluídas no estudo.

Os animais foram distribuídos em seis grupos, sendo o grupo 1 (n=5) o controle no qual as ratas foram submetidas à laparotomia e à identificação dos ovários; o grupo 2 (n=5), ratas submetidas à laparotomia e ooforectomia bilateral; grupo 3 (n=5) ratas submetidas à laparotomia e ooforectomia bilateral e implantação de um ovário íntegro na região femoral; grupo 4 (n=5) ratas submetidas à laparotomia e à ooforectomia bilateral e à implantação de fragmento de ovário na região femoral; grupo 5 (n=5) ratas submetidas à laparotomia e à ooforectomia bilateral e à implantação de ovário íntegro no grande epiplon; grupo 6 (n=5) ratas submetidas a laparotomia, à ooforectomia bilateral e à implantação de fragmento de ovário no grande epiplon.

Todos os animais foram submetidos à anestesia com ketamina (10 mg/kg) antes da laparotomia xifumbilical.

A ooforectomia foi realizada por pinçamento, secção e ligadura das tubas uterinas no nível cornual, com hemostasia do meso-ovário e retirada dos ovários bilateralmente. A peça retirada e não reimplantada foi enviada para estudo histopatológico. No grupo-controle, todas as estruturas foram expostas para identificação e confirmação de sua integridade *in situ*.

A laparorráfia, em todos os animais, foi feita por planos, com fio *nylon* 4.0. Os materiais retirados por biópsia foram analisados macroscópica e microscopicamente no laboratório patológico da Faculdade de Medicina de Barbacena.

Após 35 e 120 dias de laparotomia, os animais dos grupos 1 a 6 foram submetidos a esfregaço vaginal para: confirmação da menopausa nas ratas do grupo 2, da permanência de função hormonal ovariana das ratas do grupo 1 e avaliação do função hormonal ovariana das ratas dos grupos transplantados (G3-6). Com 120 dias, ainda, os animais dos grupos 3, 4, 5 e 6 realizaram uma segunda laparotomia para retirada dos ovários implantados, fixando-os em formol a 10% e enviando-os para estudo histopatológico, seguindo os mesmos critérios descritos.

Com 150 dias foi realizado um último esfregaço para confirmar a menopausa e, em seguida, a eutanásia foi feita com dose letal de ketamina (80 mg/kg).

Os grupos foram comparados em relação à ausência e presença de função hormonal a partir de tabelas de contingência. Como existiam casos em que pelo menos uma frequência esperada era inferior a cinco, foi utilizado o teste exato de Fisher para a comparação de proporções.<sup>14</sup> O nível de significância estatística adotado na análise foi de 5%.

O poder do teste, definido como a capacidade de um teste identificar diferenças que realmente existem, foi calculado para os casos em que não se observou significância estatística. Geralmente espera-se obter poder superior a 0,8, o que indica que há probabilidade de 80% de detectar diferença entre os grupos comparados. Se o poder é inferior a 80%, há indicações de que a amostra em estudo é pequena.<sup>14</sup>

## RESULTADOS

Apenas um animal, pertencente ao grupo G6, foi a óbito antes dos 35 dias de pós-operatório; assim, outra rata foi operada para substituir a mesma. Todos os outros sobreviveram aos 120 dias de pós-operatório, sem complicações.

No grupo G1, as ratas mantiveram a função hormonal ovariana preservada, tanto com 35 dias quanto com 120 dias de pós-operatório.

No grupo G2, nos dois períodos de análise, todas as ratas permaneceram na fase pré-ovulatória – diestro, considerando-as como não produtoras de hormônio ovariano.

No grupo G3, quatro ratas apresentaram características compatíveis com a fase estral no esfregaço de 35 dias e a quinta rata exibiu característica compatível com a fase estral, no esfregaço de 120 dias.

No grupo G4 apenas uma rata foi considerada portadora de ovário transplantado não funcionante. Em todas as outras a função era hormonal.

No grupo G5 todas as ratas foram consideradas produtoras de hormônio ovariano.

No grupo G6, quatro ratas tinham função hormonal ovariana preservada aos 35 dias de pós-operatório e apenas três com 120 dias de pós-operatório.

Com 150 dias, observou-se ausência de função hormonal ovariana em todos os grupos, uma vez que o tecido ovariano havia sido retirado.

A Tabela 1 representa os resultados dos esfregaços vaginais aos 35 dias, 120 dias e 150 dias em relação à função hormonal.

**Tabela 1 - Avaliação dos esfregaços vaginais em relação a função hormonal: 35,120 e 150 dias**

Ratas	Dias																	
	G1			G2			G3			G4			G5			G6		
	35	120	150	35	120	150	35	120	150	35	120	150	35	120	150	35	120	150
1	P	P	A	A	A	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A
2	P	P	A	A	A	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A
3	P	P	A	A	A	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A
4	P	P	A	A	A	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A
5	P	P	A	A	A	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A	P	P	A

P: Função hormonal preservada; A: Função hormonal Ausente.

As Tabelas 2 e 3 apresentam as comparações entre a função hormonal preservada e função hormonal ausente no período de 35 e 120 dias, respectivamente. Comparando o grupo 1, controle, e os demais transplantados – G3 a G6 –, não se verificou significância estatística, o que significa que a função hormonal do grupo-controle e a dos grupos transplantados são equivalentes. Ou seja, o transplante de ovário é eficaz em manter a função hormonal ovariana. Em relação ao grupo 2, ooforectomizado, e os demais, houve significância estatística (valor-p ≤ 0,05) em todas as comparações realizadas, ou seja, quando o transplante de ovário foi realizado, o mesmo preservou a função hormonal.

**Tabela 2 - Comparação entre a função hormonal preservada e ausente no período de 35 dias dos grupos 1 e 2 em relação aos demais**

Grupos	Função Hormonal				Valor-p	Poder
	Preservada		Ausente			
	n	%	n	%		
G1	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	–
G3	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	–
G1	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G4	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G1	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	–
G5	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	–
G1	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G6	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G2	0	0,0	5	100,0	0,008 <sup>1</sup>	...
G3	5	100,0	0	0,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G2	0	0,0	5	100,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G4	4	80,0	1	20,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G2	0	0,0	5	100,0	0,008 <sup>1</sup>	...
G5	5	100,0	0	0,0	0,008 <sup>1</sup>	...
G2	0	0,0	5	100,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G6	4	80,0	1	20,0	0,048 <sup>1</sup>	...

<sup>1</sup>: Teste Exato de Fisher; –: não calculado, proporções iguais; ...: resultado com significância estatística.

**Tabela 3 - Comparação entre a função hormonal preservada e ausente no período de 120 dias dos grupos 1 e 2 em relação aos demais**

Grupos	Função Hormonal				Valor-p	Poder
	Preservada		Ausente			
	n	%	n	%		
G1	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G3	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G1	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G4	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G1	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	–
G5	5	100,0	0	0,0	1,000 <sup>1</sup>	–
G1	5	100,0	0	0,0	0,444 <sup>1</sup>	0,085
G6	3	60,0	2	40,0	0,444 <sup>1</sup>	0,085
G2	0	0,0	5	100,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G3	4	80,0	1	20,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G2	0	0,0	5	100,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G4	4	80,0	1	20,0	0,048 <sup>1</sup>	...
G2	0	0,0	5	100,0	0,008 <sup>1</sup>	–
G5	5	100,0	0	0,0	0,008 <sup>1</sup>	–
G2	0	0,0	5	100,0	0,167 <sup>1</sup>	0,222
G6	3	60,0	2	40,0	0,167 <sup>1</sup>	0,222

<sup>1</sup>: Teste Exato de Fisher; –: não calculado, proporções iguais; ...: resultado com significância estatística.

A Tabela 4 apresenta as comparações entre presença e ausência de função ovariana no período de 120 dias entre grupos, dois a dois, que se distinguem pelo local de implantação e técnica utilizada. Não se apurou significância estatística em qualquer das comparações, demonstrando que o local do implante – região femoral ou grande epiplon – e o tipo de técnica utilizada – se ovário íntegro ou fatiado – não influenciaram na viabilidade dos ovários (valor-p > 0,05). Entretanto, é importante ressaltar que a igualdade de resultados entre os grupos 3 a 6 pode ser um achado casual decorrente de amostragem pequena, pois nesses casos em que não se observou significância foi verificado poder inferior a 0,8.

**Tabela 4** - Comparação entre presença e ausência de função ovariana no período de 120 dias entre os grupos dois a dois

Grupos	Função				Valor-p	Poder
	Presente		Ausente			
	n	%	n	%		
G3	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	-
G4	4	80,0	1	20,0		
G3	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G5	5	100,0	0	0,0		
G3	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,022
G6	3	60,0	2	40,0		
G4	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,019
G5	5	100,0	0	0,0		
G4	4	80,0	1	20,0	1,000 <sup>1</sup>	0,022
G6	3	60,0	2	40,0		
G5	5	100,0	0	0,0	0,4441	0,085
G6	3	60,0	2	40,0		

<sup>1</sup>: Teste Exato de Fisher; -: não calculado, proporções iguais.

Por fim, a Tabela 5 mostra as comparações entre a função hormonal preservada e função hormonal ausente no período de 150 dias entre o grupo 2 – ooforectomizado – em relação aos demais. Não se constatou significância estatística nas comparações, o que demonstra que, se retirado o ovário transplantado, a função hormonal não se perpetua. Esse resultado também reforça que o transplante ovariano era capaz de manter a função hormonal ovariana.

**Tabela 5** - Comparação entre a função hormonal preservada e ausente no período de 150 dias do grupo 2 em relação aos demais

Grupos	Função Hormonal				Valor-p	Poder
	Preservada		Ausente			
	n	%	n	%		
G2	0	0,0	5	100,0	1,000 <sup>1</sup>	-
G3	0	0,0	5	100,0		
G2	0	0,0	5	100,0	1,000 <sup>1</sup>	-
G4	0	0,0	5	100,0		
G2	0	0,0	5	100,0	1,000 <sup>1</sup>	-
G5	0	0,0	5	100,0		
G2	0	0,0	5	100,0	1,000 <sup>1</sup>	-
G6	0	0,0	5	100,0		

<sup>1</sup>: Teste Exato de Fisher; -: não calculado, proporções iguais.

O estudo anatomopatológico realizado nos ovários do grupo-controle revelou folículos em diferentes estágios de desenvolvimento e maturação, isto é, folículos primordiais, antrais e corpo lúteo. Já nos ovários transplantados, revelaram-se infiltrado infla-

matório, neoformação vascular, fibrose discreta, corpos lúteos e cistos foliculares, semelhantes aos dos ovários do grupo-controle.

Durante a relaparotomia observou-se que a cavidade abdominal manteve-se com aspecto normal e os ovários implantados apresentaram-se aderidos, porém sem sinais flogísticos.

## DISCUSSÃO

A possibilidade da utilização do transplante para preservação da função endócrina dos ovários foi levantada no século passado.<sup>12</sup> Em estudos analisados sobre autotransplante ovariano, o rato foi o animal mais utilizado para comparação de resultados morfológicos e, por essa razão, foi escolhido para a realização do presente trabalho. Além de ser um animal de obtenção barata e manuseio fácil, possui ciclo ovariano curto, que se completa em torno de quatro ou cinco dias – ideal para estudar-se a recuperação da função ovariana após período bem curto de avaliação pós-operatória.<sup>15,16</sup>

As ratas foram aleatorizadas para os seis grupos e emparelhadas quanto à idade e à habilidade do cirurgião, variáveis que precisam ser controladas nesse tipo de experimento.

Camillieri *et al.*<sup>13</sup>, em 1976, encontraram evidências histológicas de funcionamento de um implante ovariano no folheto posterior do ligamento largo de um porco-da-índia (*Guinea pig*) após 30 semanas de pós-transplantes sem reanastomose vascular, verificando-se folículos em várias fases de desenvolvimento e de maturação. Callejo *et al.*<sup>17</sup>, em 1999, realizaram autotransplante intraperitoneal e subcutâneo em ratas sem reanastomose vascular, demonstrando, a partir de dosagens de FSH, estradiol e de citologia vaginal funcional, atividade ovariana presente pelo período de seis meses.<sup>17</sup> Baseando-se nesses estudos, optou-se por realizar transplante ovariano sem reanastomose vascular. Os locais escolhidos para o implante dos ovários foram as regiões peritoneal e femoral, por serem de fácil acesso, evitando a utilização de técnicas complicadas e de material específico para microcirurgia.

A citologia vaginal funcional seriada mostra, indiretamente, a função ovariana a partir dos efeitos dos esteroides ovarianos em um órgão-alvo, no caso, o epitélio vaginal. Goldman *et al.*<sup>18</sup> e Butcher *et al.*<sup>19</sup> mostraram correlação boa entre a citologia vaginal e os níveis hormonais de esteroides ovarianos, gonadotrofinas e prolactina durante o ciclo estral da rata.<sup>18,19</sup> Somada



a essa prova indireta da função endócrina do ovário, encontrou-se no presente estudo evidência histológica de ovulação e de desenvolvimento folicular normal. A presença de folículos nos seus estágios avançados de desenvolvimento, incluindo folículos antrais grandes, e o encontro de corpos lúteos nos implantes, após intervalo mínimo de 30 dias, descartam a possibilidade de que esses elementos estivessem presentes desde o momento da primeira cirurgia. O crescimento folicular, na rata, dura entre oito e 14 dias e a permanência máxima do corpo lúteo é de 19 dias.<sup>21</sup>

No presente estudo, aguardaram-se 35 dias de pós-operatório para a coleta da citologia vaginal, para que houvesse tempo de ocorrer a revascularização do implante e a retomada da função ovariana, que demora em torno de sete dias, segundo estudo de Dissen *et al.*<sup>20</sup>

O transplante de ovário – íntegro e fragmentado – permitiu comparar a eficácia de ambas as técnicas. No presente estudo não foi referida diferença significativa entre as duas técnicas. Em alguns trabalhos analisados, verificou-se reduzida chance de isquemia do órgão quando utilizados volumes menores de tecido – ovário fragmentado.<sup>22-24</sup>

Apesar do sucesso obtido no presente estudo, o tempo de seguimento foi de apenas 120 dias (em média, 60 ciclos estrais), não sendo possível definir a duração da função do implante ovariano após esse período. Nos estudos avaliados não foi demonstrado tempo padrão adequado para seguimento, logo, o tempo foi determinado visando respeitar as fases de desenvolvimento e maturação folicular.

## CONCLUSÃO

Os ovários implantados apresentam citologia vaginal e características morfológicas de ovários viáveis, indicando que a implantação autóloga e heteróloga de ovários mostrou ser uma técnica viável que preserva a funcionalidade do tecido ovariano transplantado.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Professor Luiz Mauro Andrade da Fonseca e sua equipe do Laboratório de Patologia da FAME, por todo apoio e suporte durante a realização do mesmo. À Professora Dr<sup>a</sup>. Maria Suzana de Lemos Souza, pela leitura do estudo e auxílio na de-

finição da metodologia. E à Luciana Mara dos Santos, pela colaboração na análise estatística dos dados.

## REFERÊNCIAS

1. Hurd WW, Amesse LS, Randolph Jr JF. Menopausa. In: Berek JS, Novak ER, editors. Novak tratado de ginecologia. 13<sup>th</sup> ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.1035-64.
2. Ribeiro ER. Evolução da sexualidade: climatério, menopausa, senectude. In: Ribeiro ER. Ginecologia básica. São Paulo: Sagra-Luzzato; 1981. p.55.
3. Lobo RA. Menopausa. In: Goldman L, Ausiello D, editors. Cecil tratado de medicina interna. 22<sup>th</sup> ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p.1788-95.
4. Speroff T, Dwason NV, Speroff L, Haber RJ. A risk-benefit analysis of elective bilateral oophorectomy. Am J Obstet Gynecol. 1991;164:165-74.
5. Stiff PJ, Bayer R, Kerger C, *et al.* High-dose chemotherapy with autologous transplantation for persistent/relapsed ovarian cancer. J Clin Oncol. 1997;15:1309-17.
6. Davis SR, Buerger HG. Androgens and postmenopausal woman. J Clin Endocrinol Metab. 1996;81:2759-63.
7. Bastos AC. Períodos da evolução genital e funções dos órgãos genitais. In: Ginecologia. 10<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu; 1998. p.34-6.
8. Giordano MG, Abe CK, Reinders J. Climatério. In: Giordano MG. Ginecologia endócrina e da reprodução. São Paulo: BYK; 1998. p.257-60.
9. Bedaiwy MA, Shahin AY, Falcone T. Reproductive organ transplantation: advances and controversies. Fertil Steril. 2008; 90(6):2031-55.
10. Bromer JG, Patrizio P. Preservation and postponement of female fertility. Placenta. 2008; 29 (Suppl B):200-5.
11. Qi S, Ma A, Xu D, Daloz P, Chen H. Cryopreservation of vascularized ovary: an evaluation of histology and function in rats. Microsurgery. 2008; 28(5):380-6.
12. Morris RT. Clinical report on transplantation of ovaries. New York Med. 1995; 62:436-37.
13. Camilieri AP, Micallef T, Ellui J, Said J. Homograft transplantation of the ovary. Transplantation. 1976; 22:308-11.
14. Soares JF, Siqueira AL. Introdução à Estatística Médica. 2<sup>nd</sup> ed. Belo Horizonte: Coopmed; 2002.
15. D'Acampora AJ, Tramonte R, Manoel FS, *et al.* Análise histológica da viabilidade do transplante autólogo de hemi-ovário em retroperitônio de ratos. Acta Cir Bras. 2004; 9(4):360-9.
16. Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 11<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006.
17. Callejo J, Járegui MT, Valls C, Fernandez ME, Cabrer S, Laila JM. Heterotopic ovarian transplantation without vascular pedicle in syngeneic Lewis rats: six-month control of estradiol and follicle-stimulating hormone concentrations after intraperitoneal and subcutaneous implants. Fertil Steril. 1999; 72:513-17.

18. Goldman BD, Kamberi IA, Siiteri PK, Porter JC. Temporal relationship of progesterin secretion, LH release and ovulation in rats. *Endocrinology*. 1969; 85:1137-44.
  19. Butcher RL, Collins WE, Fugo NW. Plasma concentrations of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 b throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology*. 1974; 94:1704-9.
  20. Dissen GA, Lara HE, Fahrenbach WH, Costa ME, Ojeda R. Immature rat ovaries become revascularized rapidly after autotransplantation and show a gonadotropin-dependent increase in angiogenic factor gene expression. *Endocrinology*. 1994; 134:1146-54.
  21. Vergara P. Fisiologia de la reproduction en los animales de laboratorio. In: Curso de capacitacion para el uso del animal de laboratorio. Barcelona: Universidade Autonoma de Barcelona; 1994.
  22. Von Theobald P, Roffé JL, Berrocal J, Le Porrier GL, Muller G. Auto-transplantation ovarienne hétérotopique chez la femme. *Presse Méd*. 1987; 16:1239-41.
  23. Newton H, Aubard Y, Rutherford A, Sharma V, Gosden RG. Low temperature storage and grafting of human ovarian tissue. *Hum Reprod*. 1996; 11:1487-91.
  24. Von Eye Corleta H, Corleta O, Capp E, Edelweiss MI. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in Wistar rats maintains hormone secretion. *Fertil Steril*. 1998; 70:16-9.
-