

# 3D na cultura de tecido ovárico, uma tecnologia acessível?

Reis, Sandra Almeida<sup>1,3</sup>; Sousa, Ana Paula<sup>1,3</sup>; Pais, Ana Sofia<sup>1,2</sup>; Ramalho-Santos, João<sup>3,4</sup>; Almeida-Santos, Teresa<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Serviço de Medicina da Reprodução - Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, <sup>2</sup> Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, <sup>3</sup> Biologia da Reprodução e Células Estaminais – Centro de Neurociências e Biologia Celular, Universidade de Coimbra, <sup>4</sup> Departamento de Ciências da Vida da Universidade de Coimbra

## Introdução

O diagnóstico e o tratamento atempados dos doentes oncológicos resultou no aumento da sua sobrevivência. No entanto, é sabido que estes tratamentos comprometem o potencial reprodutivo dos doentes oncológicos.

A criopreservação do tecido ovárico (TO) antes da quimio/radioterapia parece ser a melhor opção terapêutica, não só para a reposição da fertilidade mas também da função endócrina das doentes. É, contudo, ainda uma abordagem experimental.

A criopreservação de TO permite o “armazenamento” de folículos primordiais e primários; contudo sabe-se que a viabilidade e o tempo de vida de transplante é curto devido ao processo de isquemia, que afeta o TO.

O modelo de cultura tem um papel crucial na sobrevivência do TO. Nos modelos mais utilizados, o modelo a 2D, o TO perde a sua organização, enquanto que no modelo a 3D, em que o tecido é colocado numa matriz que fornece suporte ao tecido, este mantém a sua organização e arquitetura.

## Objetivo

O nosso trabalho tem como objetivo:

- estabelecer um modelo de cultura de TO a 3D, utilizando uma matriz de alginato, que fornece suporte ao TO em cultura.

## Métodos

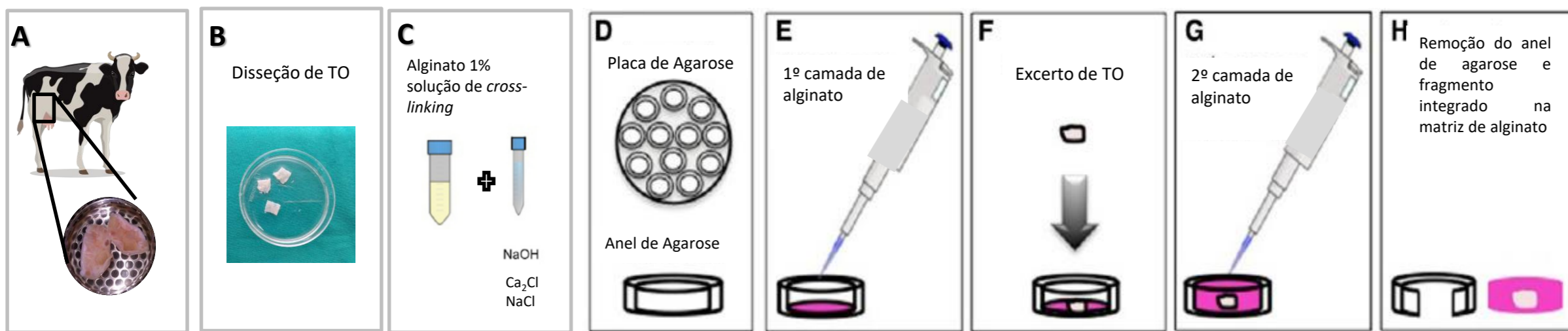


Figura 1 – Encapsulamento de um enxerto de TO numa matriz de Alginato. A – Obtenção dos ovários de vacas (*Bos Tarus*). B – Dissecção de Fragmentos de TO (5x5x1 cm). C – Preparação da Matriz de Alginato (1% (m/v) em DH<sub>2</sub>O) e solução de cross-linking (Ca<sub>2</sub>Cl, NaCl). D – Preparação dos anéis de agarose (1,5% (m/v)). E – Adição da 1ª camada de Alginato. F – Colocação do fragmento de TO. G – Adição da 2ª camada de Alginato e solução de cross-linking. H – Polimerização e remoção do bloco TO-matriz.

## Resultados

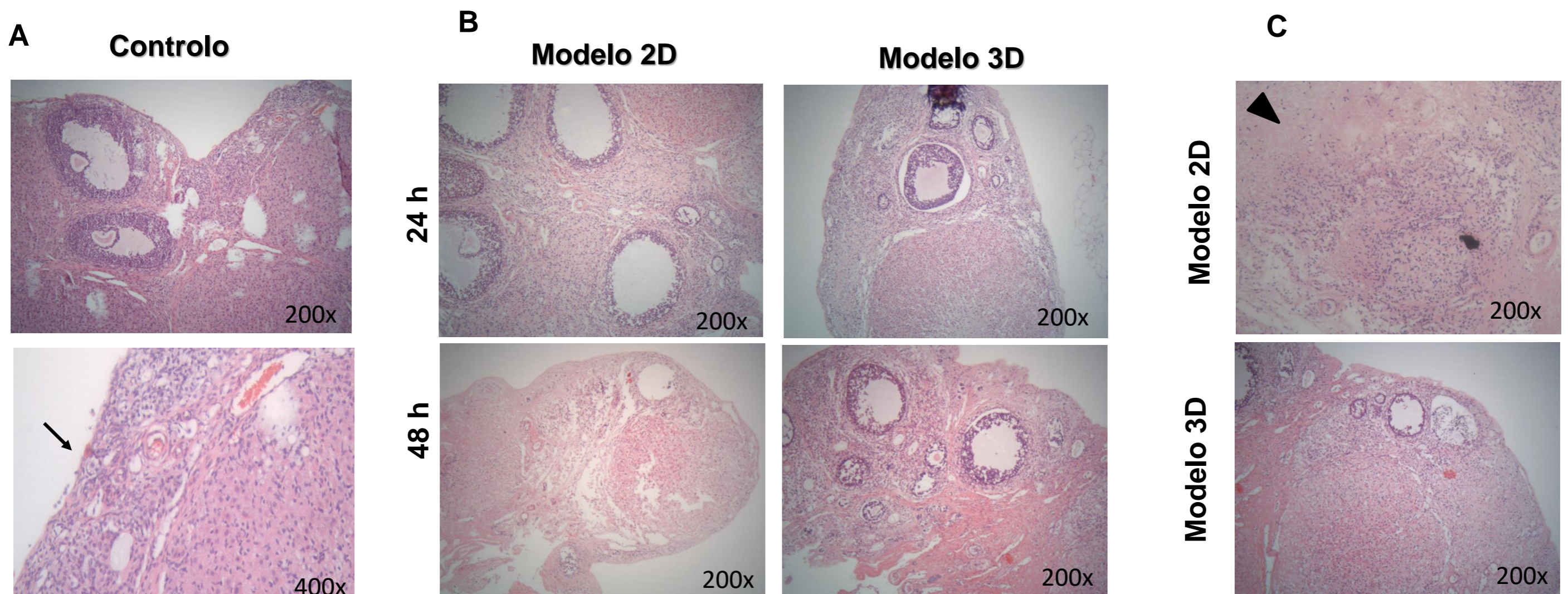


Figura 2 – Avaliação morfológica do estroma e folículos do TO. Fragmentos de TO, mantidos em cultura a 2D e 3D durante 24h e 48h, corados com a técnica de Hematoxilina&Eosina. A – TO condição controlo (0h); seta indica folículo primário normal com ovócito. B – Avaliação folicular do TO mantido em cultura 2D e 3D, após 24 e 48 horas de cultura. C – Avaliação do estroma adjacente do TO em cultura a 2D e 3D, após 48 horas de cultura; a cabeça da seta indica zona de edema com perda da densidade celular. Ampliação total de 200x e 400x.

No modelo a 3D, o TO apresenta uma maior proporção de folículos morfológicamente normais, em comparação com o modelo 2D. Neste modelo a 2D também se verifica uma perda da estrutura geral do TO.

O estroma adjacente apresenta menores áreas de edema no modelo a 3D comparativamente ao modelo a 2D.

## Conclusão

Os resultados morfológicos sugerem que a cultura de TO num sistema a 3D, aumenta a sua viabilidade em cultura.

O modelo de cultura a 3D parece poder superar as limitações do transplante, pois permite a transferência do enxerto de TO minimizando os efeitos da isquemia.

No entanto mais estudos são precisos para reforçar estes achados.