



## CULTIVO *IN VITRO* DE FOLÍCULOS PRÉ-ANTRAIS COMO POTENCIAL MODELO PARA O ESTUDO DA INSUFICIÊNCIA OVARIANA

Camila Bizarro-Silva<sup>1\*</sup>, Larissa Zamparone Bergamo<sup>1</sup>, Denis Vinicius Bonato<sup>1</sup>,  
Isabela Búfalo<sup>1</sup>, Andressa Guidugli Lindquist<sup>1</sup>, Mateus Anastacio da Silva<sup>1</sup>, Emilly  
Pitman de Castro<sup>1</sup>, Marcelo Marcondes Seneda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Londrina; Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal. \*E-mail: camilabizarros@gmail.com.

O ovário exerce funções essenciais para o sistema reprodutivo feminino, sendo responsável pela produção e secreção de hormônios, os quais são encarregados pelo desenvolvimento folicular, manutenção do trato reprodutivo e outras funções hormonais. A falência ou insuficiência ovariana é a interrupção da função ovariana caracterizado pela diminuição da reserva ovariana, ocasionando a infertilidade. A falência ovariana pode ser desencadeada por diversos fatores, entre esses, danos autoimunes, anomalias no cromossomo X, causas genéticas ou idiopáticas. Em mulheres, a incidência é de aproximadamente 1 em 250 mulheres com idade de 35 anos e de 1 em 100 com 40 anos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a técnica de cultivo *in vitro* de folículos pré-antrais na espécie bovina, considerada um modelo eficiente para o estudo da insuficiência ovariana. Ovários (n=54) foram coletados de abatedouro local a partir de 27 fêmeas Nelore, adultas e cíclicas. Após coleta, os ovários foram lavados em etanol 70% e solução tampão. O córtex do ovário foi dividido em fragmentos (n=2) de aproximadamente 3x3x1 mm e um fragmento por animal foi imediatamente fixado em Bouin (controle reserva ovariana – D0). O fragmento remanescente foi cultivado individualmente em MEM+ (suplementado com ITS, piruvato, glutamina, hipoxantina e BSA) durante 6 dias (D6). Após o cultivo, todos os fragmentos foram fixados em Bouin por 24 horas e processados para histologia clássica. Para a análise e classificação da reserva ovariana baseou-se na avaliação do estágio de desenvolvimento folicular (primordial, primário ou secundário). Os dados foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade de variância, posteriormente submetidos ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Foram avaliados 2049 folículos pré-antrais, sendo 967 primordiais e 1082 em desenvolvimento. O tecido ovariano cortical não cultivado (D0) continha predominantemente folículos pré-antrais nos estágios primordiais, alguns primários e raramente folículos secundários, sendo 59% (725/1035) folículos primordiais. Após seis dias de cultivo, a proporção de folículos primordiais foi reduzida, em consequência, ocorreu um aumento na proporção de folículos em desenvolvimento. As porcentagens médias de folículos primordiais viáveis no controle da reserva ovariana e aos seis dias de cultivo foram de 75% (725/967) e 25% (242/967), respectivamente. De tal modo, foi possível observar diferença estatística na quantidade de folículos primordiais após o cultivo *in vitro* em comparação com a reserva folicular (controle;  $p < 0,05$ ). Os processos *in vivo* que desencadeiam a disfunção ovariana e a infertilidade em mulheres são poucos esclarecidos, sabe-se que ocorre a diminuição do *pool* de folículos primordiais e aumento da atresia, devido a apoptose ou fracasso da maturação folicular. Por outro lado, a técnica de cultivo *in vitro* proporciona a retomada do desenvolvimento dos folículos presente na reserva ovariana pela ativação *in vitro* forçada simulando a ocorrência de distúrbios na foliculogênese. Assim, podemos enfatizar a importância da utilização do cultivo *in vitro* como modelo de estudo da reserva de folicular, pois esta técnica colabora para uma melhor compreensão dos processos *in vivo* que desencadeiam a ativação em massa dos folículos pré-antrais, além de auxiliar na escolha do tratamento para mulheres que necessitem retomar a função ovariana normal.

**Palavras-chave:** Foliculogênese. Falência ovariana. Infertilidade.

**Fonte de Financiamento:** Bolsa pós-graduação financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).