

AVALIAÇÃO ENDÓCRINA, MORFOLÓGICA E GESTACIONAL APÓS TRANSPLANTE HOMÓGENO ORTOTÓPICO DE OVÁRIOS ÍNTEGROS E FATIADOS SEM ANASTOMOSE VASCULAR

Endocrinologic, morphologic, and pregnancy assessment of intact and sliced ovarian orthotopic transplantation without a vascular pedicle

Andy Petroianu ¹, Luiz Ronaldo Alberti ², Leonardo de Souza Vasconcelos ³

RESUMO

Objetivo: Avaliar a fertilização, aspectos endócrinos e histológicos ovarianos após seu transplante ortotópico, sem anastomose vascular. **Método:** Foram utilizadas 32 coelhas da raça Nova Zelândia Branca e Califórnia. No Grupo 1 (n=8)- controle: laparotomia e laparorráfia. No Grupo 2A (n=8), transplantaram-se ortotopicamente os ovários de uma coelha de uma raça para o da outra raça e vice-versa, na forma íntegra, no Grupo 2B (n=8) na forma fatiada e no Grupo 2C (n=8), de um lado, o ovário íntegro e, do outro lado, fatiado. Todas as coelhas do Grupo 2 foram imunossuprimidas com ciclosporina. A partir do 3º mês pós-operatório, cada coelha foi colocada para cópula. Dosou-se o estradiol, a progesterona, o FSH e o LH no 9º mês pós-operatório. Estudaram-se as morfologias macro e microscópicas dos ovários, tubas e útero, de todas os animais. O número de gestações e filhotes foi avaliado por meio do teste qui-quadrado e as dosagens hormonais pelo one-way ANOVA e teste de Tukey-Kramer. **Resultados:** Todas as coelhas do Grupo controle engravidaram, entre o 2º e o 3º meses após início da cópula. No Grupo 2, as gestações ocorreram entre o 4º e o 8º meses pós-operatórios. A porcentagem de gravidez observada foi de 37,5% no Grupo 2A, 50% no Grupo 2B e 62,5% no Grupo 2C. Os níveis hormonais e o estudo morfofuncional dos ovários, tubas e úteros não apresentaram alterações. **Conclusão:** O transplante ovariano homogêneo ortotópico sem pedículo vascular foi eficaz para a manutenção de hormônios ovarianos em níveis normais e permitiu a fertilização natural.

Descritores: Hormônios ovarianos, Transplante de ovário, Histologia ovariana, Ciclosporina, Fertilização.

INTRODUÇÃO

Muitas pacientes com câncer sofrem perda iatrogênica da função ovariana, mesmo sem o ovário estar envolvido na doença, em decorrência de tratamento radioterápico e quimioterápico.^{1,2} Em outras situações, o ovário sem evidência de doença é retirado, em decorrência de dificuldade técnica em procedimentos operatórios na pelve. Essa conduta resulta em menopausa precoce e distúrbios funcionais, tais como disfunção sexual, níveis alterados de lipoproteínas, além de maior risco de osteoporose e de doenças cardíacas.^{1,2,3,4}

Uma alternativa fisiológica de manter a função hormonal em mulheres que precisam se submeter à retirada de ovários normais, nas quais a função regulatória do eixo hipotálamo-hipofisário está intacta e na ausência de doença auto-imune é o enxerto ovariano. Diversas técnicas experimentais de auto-implante ovariano vêm sendo pesquisadas.^{5,6} A multiplicidade de espécies animais e de métodos estudados para a preservação da função ovariana resulta em informações conflitantes quanto à eficácia da preservação hormonal.^{7,8,9}

Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

1. Professor Titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina - UFMG, Docente Livre da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, Docente Livre da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP, Doutor em Fisiologia e Farmacologia, Pesquisador IA do CNPq;
2. Cirurgião Geral, Mestre em Medicina pelo Departamento de Cirurgia - UFMG, Doutorando em Medicina pela UFMG, Residente de Cirurgia Pediátrica do Hospital das Clínicas da UFMG;
3. Patologista Clínico, Professor do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG.

Endereço para correspondência: Prof. Andy Petroianu - Av. Afonso Pena, 1626 - Apto 1901 - CEP 30130-005 - Belo Horizonte - MG - Telefax: (31) 3274-7744
E-mail: petroian@medicina.ufmg.br

Recebido em: 10/12/2004

Aceito em: 05/01/2005

A utilização de tecidos ovarianos criopreservados e reimplantados em posição heterotópica é uma alternativa mais fisiológica de manter a função hormonal no pós-operatório tardio da retirada de ovários normais.^{9,10,11,12} A maioria dos estudos sobre preservação de tecido ovariano restringe-se aos transplantes autógenos. Transplantes homogêneos ortotópicos ou heterotópicos foram pouco investigados, principalmente devido às dificuldades de imunossupressão.¹³

A ciclosporina (CyA) é um peptídeo derivado de fungos, utilizado no tratamento de pacientes submetidos a transplantes de órgãos. Sua atividade imunossupressora baseia-se na inibição da resposta imune celular e na diminuição da produção de linfócitos T dependentes de anticorpos.¹⁴ Por outro lado, verificou-se que a CyA provoca disfunções do sistema endócrino,⁷ tendo sido descritas alterações na função gonadal de ratos e humanos.^{7,8} Esse efeito é provavelmente devido à interação entre a CyA e a prolactina sobre o mesmo receptor linfocítico em ratos.¹⁴

O objetivo do presente trabalho foi verificar a ocorrência de gestação natural em coelhas e avaliar aspectos morfológicos e endócrinos de transplantes ovarianos homogêneos, fixados em posição ortotópica (no mesmo local onde o ovário foi retirado), na forma íntegra e fatiada, sem anastomose vascular, em animal imunodeprimido por ciclosporina.

MÉTODO

Este trabalho experimental foi realizado de acordo com as recomendações das Normas Internacionais de Proteção aos Animais e da Declaração de Helsinki,^{15,16} e do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, tendo sido aprovado pelo processo 02/01.

Foram estudadas 32 coelhas (*Oryctogalus cuniculus*) das raças Nova Zelândia Branca (n = 16) e Califórnia (n = 16) e dez machos sabidamente férteis da raça Nova Zelândia Branca. Os animais, provenientes do Biotério Central da Escola de Veterinária da UFMG, foram mantidos em gaiolas individuais, onde receberam ração para coelhos e água à vontade. Eles permaneceram em adaptação e observação do estado de saúde por 20 dias. Realizou-se um exame minucioso em cada coelho a fim de garantir a ausência de sinais de doença.

No início do experimento, todos os coelhos estavam com 4 meses de idade, sexualmente maduros e com peso variando de 2450g a 2700g. No pré-operatório, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas.

As coelhas foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos, com metade dos animais pertencentes a cada uma das raças:

Grupo 1: (n = 8), animais submetidos apenas a laparotomia mediana e laparorráfia.

Grupo 2: transplante homogêneo ortotópico dos dois ovários
Subgrupos

2A: (n=8): íntegro bilateral

2B: (n=8): fatiado bilateral

2C: (n=8): íntegro de um lado e fatiado do outro lado

Todos os procedimentos foram feitos nas dependências do Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da UFMG, obedecendo às normas técnicas de assepsia e anti-sepsia.

Todos os animais receberam antibioticoprofilaxia com cefadroxila (Cefamox®; Bristol-Myers-Squibb, São Paulo) na

dose de 50mg/kg dissolvida em 10 ml de leite, trinta minutos antes do procedimento cirúrgico.

A anestesia foi induzida com injeção intramuscular na região glútea de cloridrato de quetamina (Ketalar®, Pfizer, São Paulo) a 5%, na dose de 50mg/kg. Quando necessário, foi aplicado adicionalmente um quarto da dose inicial do anestésico. Durante todo o período anestésico, foram observadas as frequências cardíaca e a respiratória, além da movimentação voluntária dos coelhos, com vista a detectar possíveis complicações.

Após tricotomia do abdome, realizou-se anti-sepsia com solução de polivinilpirrolidona (PVPi®) degermante seguida por solução alcoólica de iodo a 2% e colocação de campos operatórios.

Os animais do Grupo 1 foram submetidos a laparotomia mediana infra-umbilical, identificação do útero, das tubas uterinas e dos ovários. Em seguida, realizou-se laparorráfia com suturas contínuas em dois planos, aponeurose, com fio de poliglactina 2-0 (Vicryl®, Ethicon, São Paulo) e pele, com náilon 3-0 (Nylon®, Ethicon, São Paulo).

No Grupo 2, além da antibioticoprofilaxia, uma hora antes do procedimento cirúrgico, as coelhas foram pesadas e receberam ciclosporina em solução na dose de 10 mg/kg. Ambas as drogas foram dissolvidas em 10 ml de leite e administradas através de cateter orogástrico de 12 Fr. Um par de coelhas - uma Califórnia e outra Nova Zelândia Branca - foram operadas simultaneamente. Através de laparotomia mediana infra-umbilical, realizou-se ooforectomia total bilateral, preservando a integridade tubária. Ambos os ovários de cada coelha foram retirados. Em seguida, os ovários de uma coelha foram transplantados ortotopicamente na outra coelha e vice-versa, de forma que cada animal foi doador e ao mesmo tempo receptor. Todos os implantes ovarianos foram feitos sem reconstituição vascular e fixados com apenas um ponto de náilon 5-0, de acordo com os subgrupos seguintes:

A - transplante bilateral dos ovários íntegros,

B - os ovários foram cortados longitudinalmente em três fatias de 2 mm de espessura com bisturi e, em seguida, foram transplantados,

C - transplantou-se aleatoriamente, de um lado o ovário íntegro e do outro o fatiado.

Em seguida, realizou-se laparorráfia com suturas contínuas em dois planos, aponeurose, com fio de poliglactina 2-0 (Vicryl®, Ethicon, São Paulo) e pele, com náilon 3-0 (Nylon®, Ethicon, São Paulo).

Após o ato cirúrgico e durante todo o período de acompanhamento, as coelhas receberam ração e água previamente filtrada em recipientes próprios, ad libitum e foram mantidas em gaiolas individuais, em condições adequadas de higiene, ventilação e iluminação.

Nos três primeiros dias pós-operatórios, os animais receberam antibioticoprofilaxia com cefadroxila, na dose de 50mg/kg dissolvida em 10 ml de leite, através de cateter orogástrico.

As coelhas do Grupo 2 receberam diariamente, durante nove meses, 10 mg/kg de ciclosporina dissolvidos em 10 ml de leite, através de cateter orogástrico com calibre de 12 Fr. Os animais foram semanalmente pesados para ajuste das doses de ciclosporina. Esse procedimento foi facilitado pelo uso de caixa de contenção para coelhos.

Decorridos três meses da cirurgia, as fêmeas foram colocadas diariamente com um macho diferente sabidamente fértil para cópula, durante outros seis meses. A troca dos machos foi aleatória e ininterrupta até perceber-se a gravidez na coelha. Nessa situação

a fêmea era mantida sem companhia em sua gaiola até o término da gestação. Registraram-se o número de gestações e o número de filhotes em cada grupo, bem como qualquer complicação gestacional que pudesse ser observada. As coelhas do Grupo controle foram expostas ao acasalamento, seguindo a mesma conduta descrita para as fêmeas com ovários transplantados.

No nono mês após o procedimento cirúrgico, foram colhidas amostras sanguíneas para dosagens de estradiol, progesterona, hormônio folículo-estimulante e hormônio luteinizante. As amostras sanguíneas foram processadas rotineiramente em aparelhagem específica. A quantificação hormonal seguiu o método de imunofluorimetria para os hormônios gonadais e hipofisários.

Ao final do período de acompanhamento, todas as coelhas foram mortas com dose inalatória letal de éter, após anestesia profunda com quetamina (50mg/kg). Através de toracolaparotomia mediana, as cavidades torácica e abdominal, bem como seus órgãos foram cuidadosamente estudados. Retiraram-se o útero, os ovários e as tubas uterinas de todas as coelhas. Após a fixação dos fragmentos em solução de Bouin, eles foram processados para histologia. Secções de 5 µm de espessura foram montadas em lâmina e coradas com hematoxilina e eosina.

Foram utilizados os testes qui-quadrado com correção de Yates para pequenas amostras para comparar o número de gestações bem sucedidas e o número de filhotes, e os testes one-way ANOVA seguido pelo teste de Tukey-Kramer para comparar as dosagens hormonais (estradiol, progesterona, hormônio folículo-estimulante e hormônio luteinizante). As diferenças foram consideradas significativas para valores correspondentes a $p < 0,05$.

RESULTADOS

Todos os animais recuperaram-se espontaneamente das cirurgias e sobreviveram durante os nove meses do experimento, sem intercorrências.

A Tabela 1 mostra os valores hormonais de ambos os grupos obtidos no final do experimento. Observou-se a presença de hormônios ovarianos em todas as coelhas transplantadas. Os valores hormonais de ambos os grupos mantiveram-se semelhantes, exceto o estradiol, que foi mais elevado no Grupo 2C ($p < 0,05$). Não houve diferença quanto aos níveis hormonais entre as duas raças de coelhas estudadas.

À segunda laparotomia, a cavidade abdominal do Grupo 1 manteve-se com aspecto normal. O exame macroscópico dos órgãos reprodutores do Grupo 2 mostrou ovários transplantados com preservação de sua parte externa e ausência de fibrose ou reações aparentes ao fio cirúrgico em todas as coelhas. Os úteros e as tubas de seis coelhas não apresentaram alterações anatômicas aparentes. Em duas coelhas (uma da raça Nova Zelândia Branca e outra da raça Califórnia) houve aderências entre a tuba e o ovário, assim como entre o ovário e alças intestinais adjacentes.

Ao estudo histológico, verificou-se que os ovários tanto dos animais controle quanto dos transplantados estiveram preservados, não havendo diferenças entre esses grupos. Também não foram encontradas diferenças entre os ovários transplantados íntegros ou fatiados. A viabilidade ovariana foi confirmada pela presença de angiogênese satisfatória, vários folículos em diferentes estádios de maturação, bem como corpos lúteos e cistos foliculares em proporções variáveis. Não foram identificados sinais de isquemia

Tabela 1: Níveis hormonais (média e desvio padrão da média) e número de gestações nas coelhas controle e nas submetidas ao transplante ovariano ortotópico.

GRUPOS	ESTRADIOL (pg/ml)	PROGESTERON A (pg/ml)	FSH (UI/l)	LH (UI/l)	NÚMERO DE COELHAS QUE FICARAM GRÁVIDAS
1	2.801±762	104.200±2.348	0,13±0,05	0,16±0,07	7
2A	4.063±927	102.906±962	0,13±0,04	0,18±0,07	3
2B	3.844±821	103.172±1.938	0,14±0,07	0,18±0,07	4
2C	4.510±1.246*	103.713±2.413	0,13±0,04	0,16±0,07	5

ou necrose. Em uma coelha Nova Zelândia Branca, identificou-se hemorragia multifocal junto à cápsula e calcificação subcapsular em um dos ovários.

A histologia tubária das coelhas do Grupo 1 foi normal, com microvilosidades bem desenvolvidas, trofismo preservado e ausência de sinais inflamatórios ou degenerativos. No Grupo 2, encontrou-se em uma coelha foco de infiltrado mononuclear na mesossalpinge e hipotrofia tubária. Uma outra coelha apresentou reação do tipo corpo estranho na mesossalpinge, além de salpingite crônica discreta e hidrossalpinge. Os demais animais apresentaram histeroarquitectura tubária conservada.

A histeroarquitectura uterina de todas as coelhas foi mantida. O endométrio evidenciou diversas fases de proliferação, compatíveis com as fases do ciclo estral, indicando adequada produção hormonal.

Quanto à fertilidade, todas as coelhas do Grupo 1 (controle) engravidaram, metade após dois meses e a outra metade três meses após o início dos cruzamentos. O número de filhotes variou entre 6 a 10 animais.

Três coelhas do Grupo 2A (37,5%) levaram sua gestação a termo. Os partos ocorreram em uma coelha no quarto mês pós-operatório com o nascimento de dois filhotes, no quinto mês pós-operatório em uma outra coelha, com o nascimento de três filhotes e em uma coelha no sexto mês, com o nascimento de um filhote.

Das oito coelhas de Grupo 2B, quatro (50%) levaram sua gestação a termo. Os partos ocorreram em uma coelha no quinto mês pós-operatório com o nascimento de três filhotes, no sexto mês pós-operatório em uma outra coelha com o nascimento de dois filhotes e no sétimo mês pós-operatório nas outras duas coelhas, com o nascimento de um e dois filhotes, respectivamente.

No Grupo 2C, cinco coelhas (62,5%), duas Nova Zelândia Branca e três Califórnia, levaram sua gestação a termo. Os partos ocorreram no quinto mês pós-operatório, em duas coelhas, dois meses após o início da cópula, com o nascimento de um filhote, no sexto mês pós-operatório em uma outra coelha com o nascimento de três filhotes e no oitavo mês pós-operatório nas outras duas coelhas com o nascimento de um e dois filhotes respectivamente. Não houve diferença no tempo entre o início da cópula e o nascimento dos filhotes em relação às duas raças estudadas ($p > 0,05$).

Não houve diferenças entre o Grupo 1- controle e os demais subgrupos 2 em relação ao número de gestações 2A ($p = 0,121$), 2B ($p = 0,28$) e 2C ($p = 0,563$).

DISCUSSÃO

O transplante ovariano em pacientes com falência ovariana é análogo ao transplante de ilhotas de Langerhans nos casos de diabetes melito ou de neurônios dopaminérgicos na doença de Parkinson. Todas essas entidades patológicas podem ser tratadas com suplementação farmacológica. Entretanto, a terapia tecidual tem a vantagem de manter a atividade fisiológica da secreção hormonal e neuronal.¹⁷ As possibilidades e vantagens da terapia tecidual estão sendo gradualmente conhecidas.

Optou-se pelo emprego de coelha como animal de experimentação a partir da observação de sua boa capacidade reprodutiva e da simplicidade do procedimento cirúrgico sem a necessidade de material especial, considerando também uma linha de pesquisa desenvolvida por nós no Departamento de Cirurgia da UFMG referente a transplante de órgãos e tecidos.

Utilizou-se a quetamina pelas suas características de induzir estado de sedação, imobilidade e analgesia acentuada com efeito de anestesia dissociativa com larga margem de segurança e fácil controle do plano anestésico.

Na natureza, o número de filhotes por gestação em coelhas varia entre três e oito filhotes. No presente estudo, não houve diferença entre o número de filhotes em relação ao Grupo-controle e os submetidos a transplante dos ovários. Não houve diferença entre o tempo para engravidar em relação aos subgrupos estudados e nem desses com o habitual em animais em cativeiro. Além disso, o estudo microscópico não mostrou evidências que sugerissem uma disfunção hormonal, como por exemplo, hipotrofia ou hiperplasia endometrial, fato esse comprovado pelas dosagens de estradiol e progesterona, que se mantiveram dentro da faixa de normalidade.

O presente estudo mostra que os ovários transplantados sem anastomose vascular em coelhos são viáveis e preservam sua função endócrina em todos os casos. Não foram detectadas adversidades decorrentes da falta de vascularização inicial, pois nenhum dos animais apresentou sinais de isquemia ovariana. Esses achados contradizem alguns autores que consideram fundamental a revascularização cirúrgica dos enxertos ovarianos.^{17,18} Entretanto, os resultados deste trabalho estão em acordo com alguns estudos que também verificaram ser a anastomose do pedículo vascular desnecessária para a manutenção da viabilidade e função ovariana. A intensa neovascularização que se forma em torno do ovário parece ser suficiente para conservar sua vitalidade.^{19,20} De acordo com a literatura, o tecido ovariano é uma rica fonte de fatores angiogênicos que estimulam a rápida migração de células endoteliais nos casos de transplantes, o que leva ao restabelecimento da circulação sanguínea.^{19,21,22,23,24,25} A revascularização do implante de córtex ovariano adjacente à veia jugular, 48 horas após o procedimento, acompanha-se de um aumento na expressão de agentes angiogênicos específicos, principalmente do fator de crescimento derivado do endotélio e sugere o papel das gonadotropinas na resposta vascular.²⁶ Dentre as gonadotropinas hipofisárias, o FSH parece ser o mais importante, devido ao estímulo à mitose celular da granulosa e à inibição de sua apoptose. O tratamento de folículos antrais de ratos com doses crescentes de FSH causam supressão da fragmentação do DNA dose-dependente, atingindo a supressão máxima de 60%.¹⁷ Em decorrência da privação de fatores mitogênicos e tróficos, como as gonadotropinas e os esteróides ovarianos há lesão por apoptose das células do ovário. A dosagem de FSH manteve-se dentro dos limites da normalidade nos grupos estudados.

A vitalidade dos ovários transplantados também pode ser confirmada pela manutenção de sua função endócrina mediante a presença de estradiol e progesterona circulantes, bem como suas interações com os hormônios hipofisários (FSH e LH). Embora as concentrações dos demais hormônios fossem semelhantes em ambos os grupos, os animais transplantados apresentaram maiores concentrações de estradiol. Uma possível explicação seria uma coincidência de todas as coelhas do Grupo 1 estarem na fase pré-ovulatória no momento da coleta de sangue, período em que a concentração de estradiol seria normalmente mais baixa. Contudo, não encontramos nos dados do presente trabalho, nem na literatura, outras informações que pudessem esclarecer melhor esse achado.

Um fator descrito como de importância para a sobrevida e desenvolvimento folicular após a retirada cirúrgica dos ovários é a temperatura média de conservação do tecido. Ao contrário de outros modelos de transplante de órgãos, o tecido ovariano à temperatura em torno de 37°C mostra melhor conservação do órgão, se comparado ao armazenamento em gelo. É possível que os oócitos primordiais e folículos primários tenham a mesma sensibilidade a temperaturas baixas, assim como os oócitos e folículos maduros.¹⁰ Durante o ato operatório, tomou-se o cuidado de realizar o transplante dos ovários logo após a ooforectomia, com o intuito de manter a temperatura ovariana próxima da fisiológica.

A administração diária de ciclosporina foi efetiva para prevenir rejeição ao ovário transplantado. Tal fato foi sugerido pela ausência de sinais indicativos de rejeição, tanto no ovário quanto na trama vascular periovariana. Além disso, não houve evidências histológica ou funcional de que a ciclosporina tivesse levado a alterações de formação folicular ou nos fenômenos ovulatórios. Apesar de alguns autores terem indicado doses maiores de ciclosporina (15 mg/kg/dia),^{22,23,24} a dose de 10 mg/kg/dia, utilizada no presente estudo, segundo nossa linha de pesquisa,²⁵ manteve a vitalidade e a função ovariana, sem os possíveis inconvenientes decorrentes da imunossupressão em altas doses. Também não foi constatado o efeito inibitório da ciclosporina na ovulação, embora outros autores afirmem que esse fármaco tem propriedades anovulatórias.²²

Em estudo piloto, a influência da ciclosporina na manutenção da vitalidade dos ovários transplantados foi testada. Após 30 dias de total privação desse fármaco, foram constatados sinais de rejeição do tecido transplantado, com degeneração e fibrose no local de implantação dos ovários. Houve também alterações macroscópicas importantes nos demais órgãos reprodutores, como atrofia uterina e tubária, provavelmente pela ausência de estímulos dos hormônios gonadais.

CONCLUSÃO

Concluindo, foi registrada, com sucesso, fertilização natural em coelha submetida a transplante ortotópico de ovários homogêneos, de raças diferentes. Esses ovários preservaram sua função endócrina e morfológica. A ciclosporina foi eficaz em manter a vitalidade e função dos ovários durante todo o período de estudo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Décio de Vasconcelos Filho, pela gentil dosagem dos hormônios e ao CNPq e FAPEMIG, pelos auxílios financeiros que permitiram a realização deste trabalho.

ABSTRACT

Objective: The purpose of the present work was to assess endocrine and histological ovarian aspects following allogeneic ovarian transplantation without vascular pedicle. **Method:** 32 female New Zealand White and California rabbits were studied. In Group 1- Control (n=8), only laparotomy and laparorrhaphy was carried out. In Group 2A (n=8) ovarii were orthotopically transplanted from the rabbit of one race to one of the other race and vice-versa integer in both sides. In Group 2B (n=8) the ovarii were sliced and orthotopically transplanted. In Group 2C (n=8), in one side the ovary was transplanted integer and in the other side it was sliced. Cyclosporine was administered every day in all animals of group 2. 3 months later, the animals were paired with sexually mature males for copulation. Estradiol, progesterone, FSH and LH levels were assessed. Histologic study of the transplanted ovaries, tubes and uterii were carried out. Chi-square test compared the occurrence of pregnancy and the birth of litters. One-way ANOVA and Tukey-Kramer Test compared the hormonal dosages. **Results:** Pregnancies occurred in all rabbits of Group 1, between the second and third months after copulation. In Group 2, the pregnancies were verified between the fourth and eighth postoperative months. Pregnancies were present in 37.5% of rabbits in Group 2A, 50% in group 2B and 62.5% in group 2C. The hormone levels and histology confirmed the vitality of all ovaries. **Conclusions:** Allogeneic orthotopic ovarian transplantation without vascular pedicle was effective to preserve normal level of ovarian hormone and to allow natural pregnancy.

Keywords: Ovarian Hormones, Ovary Transplantation, Ovarian Histology, Cyclosporine, Fertilization.

REFERÊNCIAS

- Marmor D. Fertility after antimetabolic treatments. *Bull Cancer* 1994; 84: 764-9.
- Mackie EJ, Radford JA, Shalet SM. Gonadal function following chemotherapy for childhood Hodgkin's disease. *Med Pediatr Oncol* 1996; 27: 74-8.
- Resende CAL, Gobbi H, Geber S. Aspectos embriológicos, Histológicos, Anatômicos e Fisiológicos dos Ovários. In: Coronho V, Petroianu A, Santana EM, Pimenta LG, editors. *Tratado de Endocrinologia e Cirurgia Endócrina*, Ied. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 1060-95.
- Simões PM, Machado JÁ. Complicações das cirurgias sobre os ovários. In: Coronho V, Petroianu A, Santana EM, Pimenta LG, editors. *Tratado de Endocrinologia e Cirurgia Endócrina*, Ied. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 1126-8.
- Corleta HVE, Corleta O, Capp E, Edelweiss MI. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in Wistar rats maintains hormone secretion. *Fertil Steril* 1998; 70: 16-9.
- Baber R, Adbella H, Studd F. The premature menopause. *Prog Obstet Gynaecol* 1991; 9: 209-26.
- Seethalakshmi L, Flores C, Carboni AA, Bala R, Diamond DA, Menon M. Cyclosporine, its effects on testicular function and fertility in the prepubertal rat. *J Androl* 1990; 11: 17-24.
- Ramírez G, Navarte J, Bittle PA, Ayers-Chastain C, Dean SE. Cyclosporine-induced alterations in the hypothalamic hypophyseal gonadal axis transplant patients. *Nephron* 1991; 58: 27-32.
- Speroff T, Dwason NV, Speroff L, Haber RJ. A risk-benefit analysis of elective bilateral oophorectomy. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 165-74.
- Aubard Y, Newton H, Scheffer G, Gosden R. Conservation of the follicular population in irradiated by the cryopreservation and orthotopic autografting ovarian tissue. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 79: 83-7.
- Von Eye CH, Corleta O, Capp E, Edelweiss MI. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in wistar rats maintains hormone secretion. *Fertil Steril* 1998; 70: 16-9.
- Parks JE, Ruffing NA. Factors affecting low temperature survival of mammalian oocytes. *Theriogenology* 1992; 37: 59-72.
- Lara HE, Hiney JK, Dissen GA, Rivier C, Ojeda SR. Functional recovery of the developing rat ovary after transplantation. *Endocrinology* 1991; 129: 1849-60.
- Cornier E, Sibella P, Chatelet F. Études histologiques et devenir fonctionnel des greffes de trompe et d'ovaire chez la rate. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1985; 14: 567-73.
- Cooper JE. Ethics and laboratory animals. *Vet Rec* 1985; 116: 594-5.
- Petroianu A Pesquisa experimental. In: Petroianu A. Ética, Moral e Deontologia Médicas. Ied Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. 185-90.
- Callejo J, Jáuregui MT, Valls C, Fernandes ME, Cabré S, Laila J. Heterotopic ovarian transplantation without vascular pedicle in syngenic Lewis rat. *Fertil Steril* 1999; 72: 513-7.
- Namba Y, Yamamoto M, Atrishima K, Eguchi Y. Suppressive effect of perinatal tests on the differentiation of fetal ovaries transplanted into adult males in the rat. *J Anat* 1997; 191: 31-8.
- Weissman A, Gotlieb L, Colgan T, Jurisicova A, Greenblatt EM, Casper RF. Preliminary experience with subcutaneous human ovarian cortex transplantation in the NOD-SCID mouse. *Biol Reprod* 1999; 60: 1462-7.
- Rone JD, Halvorson LM, Goodman AL. Ovarian angiogenesis in rabbits. *J Reprod Fertil* 1993; 97: 359-65.
- Nisolle M, Casanas-Roux F, Qu J, Motta P, Donnez. Histologic and ultrastructural evaluation of fresh and frozen-thawed human ovarian xenografts in nude mice. *J Fertil Steril* 2000; 74: 122-9.
- Gallagher AC, Chambers TJ, Tobias JH. Distinct effects of ovarian transplantation and exogenous 17B estradiol on cancellous bone of osteopenic ovariectomized rats. *Eur J Endocrinol* 1995; 133: 483-8.
- Esquifino AI, Moreno ML, Agrasal C, Villanúa MA. Effects of cyclosporine on ovarian function in sham-operated and pituitary-grafted young female rats. *Soc Exp Biol Med* 1995; 208: 397-403.
- Harp R, Leibach J, Black J, Keldahl C, Karow A. Cryopreservation of murine ovarian tissue. *Cryobiology* 1994; 31: 336-43.
- Petroianu A, Vasconcellos LS, Alberti LR, Castro LPF, Leite JM. Natural pregnancy in rabbit that underwent oophorectomy and orthotopic allogeneic or autologous ovarian transplantation. *Fertil Steril* 2002; 77: 1289-99.
- Dissen GA, Lara HE, Fahrenbach WH, Costa ME, Ojeda SR. Immature rat ovaries become revascularized rapidly after autotransplantation and show gonadotropin-dependent increase in angiogenic factor gene expression. *Endocrinology* 1994; 134: 1146-54.