Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.39, n.1, p.109-110, jan./mar. 2015. Disponível em www.cbra.org.br

Criopreservação de tecido testicular

Criopreservation of testicular tissue

Erika Christina Santos *Oliveira*

Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE, Recife, PE, Brasil.
Correspondência: erikacsoliveira@gmail.com

Resumo

O uso da criobiologia tem sido importante ferramenta para a preservação dos gametas. Atualmente, um dos desafios da área consiste na preservação do tecido ovariano e testicular por tempo prolongado e a criobiologia tem se mostrado como parte inerente no processo. Embora existam relatos sobre a criopreservação de tecido ovariano e obtenção de nascimentos em diferentes espécies, a criopreservação de tecido testicular ainda encontra-se limitada ao nível da experimentação. O desafio é promover um protocolo de criopreservação capaz de manter o potencial do tecido de completar a espermatogênese. A criopreservação de tecido testicular pode vir a ser um método utilizado quando técnicas como a congelação do ejaculado não é possível.

Palavras-chave: criopreservação, espermatogênese, testículo.

Abstract

The use of cryobiology has been extremely important for gametes preservation. Nowadays, the challenge is the study of long-term preservation of ovarian and testicular tissue and the use of cryobiology is an important tool in this process. Although ovarian cryopreservation has successfully produced live births in different species, cryopreservation of testicular tissue is still restricted to a limited experimental level. The challenge is to provide a successful cryopreservation protocol for testis tissue capable of maintaining the potential of the tissue for completion spermatogenesis. Cryopreservation of testicular tissues theoretically offers a practical method when other techniques such as cryopreservation of ejaculated sperm are not available or applicable.

Keywords*: cryopreservation, dog, spermatogenesis, testis.*

Introdução

Um dos desafios atuais na área da criobiologia consiste na preservação do tecido ovariano/testicular por tempo prolongado. Particularmente em relação ao tecido testicular, a heterogenicidade deste deve ser levada em consideração na escolha de um protocolo de congelação adequado. As espermatogônias, células de Sertoli e Leydig possuem um citoplasma rico e, consequentemente, mais vulnerável ao processo de congelação e descongelação. Estas células possuem grande quantidade de água no seu interior, o que aumenta o risco de formação de cristais intracitoplasmáticos que causam a destruição das organelas. Contudo, outras alterações também podem ocorrer, quais sejam, desidratação celular excessiva causada pelo choque osmótico após a formação de cristais de gelo extracelulares e ruptura do citoesqueleto após a exposição a baixas temperaturas (Woelders e Chaveiro, 2004).

Para controlar as crio-injúrias, três fatores principais devem ser levados em consideração num protocolo de congelação: (i) o diluidor de criopreservação onde as amostras serão equilibradas antes da congelação, (ii) tempo e temperatura de incubação da amostra e (iii) o tipo de protocolo de congelação: controlado ou não-controlado, lento ou rápido, com ou sem *seeding* (Oliveira et al., 2006; Travers et al., 2011).

Há muitos relatos sobre a criopreservação de tecido testicular em humanos (Wyns et al., 2008), camundongos, hamster e macacos (Schlatt et al., 2002; Jahnukainen et al., 2007; Travers et al., 2011), porco (Abrishami et al., 2010) e gatos (Mota et al., 2012). Entretanto, a validação de um protocolo de congelação para uma espécie não é necessariamente aplicada para outra. Além disso, a resposta da criopreservação é bastante variada, e vai desde a não observação de efeitos adversos em roedores (Schlatt et al., 2002) até a redução da viabilidade celular, aumento dos túbulos seminíferos apresentando apenas células de Sertoli e redução do número de espermatogônias (Jahnukainen et al., 2007; Mota et al., 2012) nas outras espécies.

Apesar da variedade de espécies que vêm sendo utilizadas nos estudos que envolvem cultura e criopreservação de tecido testicular, não há relatos de criopreservação de tecido testicular ou recuperação de espermatozoides a partir de tecido testicular congelado na espécie canina. A congelação dos testículos poderia ser utilizada em casos onde o cão vem a óbito repentinamente; neste caso, o animal seria castrado e o tecido testicular criopreservado poderia ser uma fonte em potencial de espermatozoides (Abrishami et al., 2010). A

Recebido: 12 de março de 2015
Aceito: 01 de abril de 2015

congelação de tecido testicular também pode ser uma alternativa nos programas de conservação de espécies ameaçadas de extinção. Entre os canídeos, o Lobo Etiopiano (*Canis simemsis*), por exemplo, é considerado o canídeo mais ameaçado na África, com apenas 400 sobreviventes (Gottelli et al., 1994). No Brasil, o Cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*) e Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) são considerados vulneráveis na lista de animais ameaçados do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2015). A sobrevivência destas espécies ameaçadas depende da conservação da biodiversidade existente.

Há relatos da preservação da viabilidade do tecido testicular após a criopreservação, bem como da comprovação da capacidade fértil dos espermatozoides observada após a produção *in vitro* de oócitos via ICSI em humanos (Wu et al., 2005), camundongo (Ohta et al., 2008) e gatos (Buarpung et al., 2013).

Perspectivas

Existem várias aplicações para a utilização do tecido testicular criopreservado em protocolos experimentais e clínicos na área da medicina/ciência reprodutiva. Essa tecnologia permite a recuperação de espermatozoides existentes de material de doadores adultos e, o mais importante, oferece esperança para a produção de espermatozoides de amostras criopreservadas de tecido testicular imaturo. Se o tecido testicular preservado possui espermatogênese ativa, este pode ser utilizado para a extração de espermatozoides, ou espermátides alongadas que serão utilizadas para fertilização de oócitos por meio de ICSI.

Referências

Abrishami M, Anzar M, Yang Y, Honaramooz A. Cryopreservation of immature porcine testis tissue to maintain its developmental potential after xenografting into recipient mice. Theriogenology, v.73, p.86-96, 2010.

Buarpung S, Tharasanit T, Comizzoli P, Techakumphu M. Feline spermatozoa from fresh and cryopreserved testicular tissues have comparable ability to fertilize matured oocytes and sustain the embryo development after intracytoplasmatic sperm injection. Theriogenology, v.79, p.149-158, 2013.

Gottelli D, Sillero-Zubiri C, Appelbaum GD, Roy MS, Girman DJ, Garcia-Moreno J, Ostrander EA, Wayne RK. Molecular genetics of the most endangered canid: the Ethiopian wolf *Canis simensis*. Mol Ecol, v.3, p.301-312, 1994.

Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Lista de animais ameaçados de extinção. Disponível em: www.ibama.gov.br. Acesso em: 30 de mar. de 2015.

Jahnukainen K, Ehmcke J, Hergenrother SD, Schlatt S. Effect of cold storage and cryopreservation of immature non-human primate testicular tissue on spermatogonial stem cell potential in xenografts. Hum Reprod, v.22, p.1060-1067, 2007.

Mota PC, Ehmcke J, Wesernstroer B, Gassei K, Ramalho-Santos J, Schlatt S. Effects of different storage protocols on a cat testis tissue potential for xenografting and recovery of spermatogenesis. Theriogenology, v.77, p.299-310, 2012.

Ohta H, Sakaide Y, Wakayama T. Long-term preservation of mouse spermatozoa as frozen testicular sections. J Reprod Dev, v.54, p.295-298, 2008.

Oliveira ECS, Juliani GC, Marques Jr AP, Henry M. In vitro evaluation of canine spermatozoa cryopreserved in different extenders. Arq Bras Med Vet Zootec, v.58, p.116-122, 2006.

Schllat S, Kim SS, Gosden R. Spermatogenesis and steroidogenesis in mouse, hamster and monkey testicular tissue after cryopreservation and heterotopic grafting to castrated hosts. Reproduction, v.124, p.339-346, 2002.

Travis A, Milazzo JP, Perdrix A, Metton C, Bironneau B, Macé B, Rives N. Assessment of freezing procedures for rat immature testicular tissue. Theriogenology, v.76, p.981-990, 2011.

Wu B, Wong D, Lu S, Dickstein S, Silva M, Gelety TJ. Optimal use of fresh and frozen-thawed testicular sperm for intracytoplasmatic sperm injection in azoospermic patients. J Assist Reprod Genet, v.22, p.389-394, 2005.

Woelders H, Chaveiro A. Theoretical prediction of optimal freezing programmes. Cryobiology, v.49, p.258-271, 2004.

Wyns C, Van Langendonckt A, Wese FX, Donnez J, Curaba M. Long-term spermatogonial survival in cryopreserved and xenografted immature human testicular tissue. Hum Reprod, v.23, p.2402-2414, 2008.