

## TRANSPLANTE OVARIANO: APLICAÇÕES NA REPRODUÇÃO DE ANIMAIS DOMÉSTICOS, SILVESTRES E HUMANOS\*

[Ovarian transplantation: applications for reproduction of domestic and wild animals, and humans]

Michelly Fernandes de Macedo<sup>1</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>2</sup>, Wilter Ricardo Russiano Vicente<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluna do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP/JABOTICABAL, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal-SP.

<sup>2</sup>Departamento de Ciências Animais, UFERSA, BR 110, Km 47, Costa e Silva, Mossoró-RN.

<sup>3</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV-UNESP, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal-SP.

**RESUMO** - O transplante ovariano constitui-se numa técnica em que um ovário ou parte dele é transferido de um doador para receptoras que podem ser o mesmo indivíduo, outro ser da mesma espécie ou ainda de espécie diferente, para locais próximos ou distantes da posição anatômica original. A presente revisão aborda conceitos importantes para a elucidação dos principais eventos da foliculogênese e maturação folicular bem como, as aplicações dos transplantes ovarianos e perspectivas dessa técnica na reprodução de animais domésticos, silvestres e humanos. Outros estudos ainda são necessários para a melhor compreensão dos eventos relacionados ao desenvolvimento do tecido ovariano, da interação entre tecidos doadores e receptores, seus locais de transplante, assim como indivíduos e espécies envolvidas.

**Palavras-Chave:** Transplante, ovário, reprodução, foliculogênese.

**ABSTRACT** - Ovarian transplantation constitutes a technique in which one ovary or part of this is transferred from a donor to recipients that may be the same individual, other recipient of the same specie or no, near or far from the original anatomical site. This review covers important concepts for the elucidation of the main events of folliculogenesis and follicular maturation as well as the applications of ovarian transplantation and prospects of this technique in the breeding of domestic animals, wildlife and humans. Other studies are still necessary to better understanding of the events regarding to the ovarian development, interactions between donor and receptor tissues, their site of transplantation as well as individuals and involved species.

**Keywords:** Transplantation, ovary, reproduction, folliculogenesis.

### INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de um sistema de cultivo que promova o crescimento dos folículos pré-antrais (FOPA) a um estágio no qual possam ser maturados e fecundados *in vitro*, pode possivelmente, permitir a obtenção de uma grande população de oócitos homogêneos evitando ainda, que eles tornem-se atresícos (McCaffery et al., 2000; Saha et al., 2000). O cultivo desses folículos pode ser realizado *in vivo* pelo transplante de ovários inteiros ou de seus

fragmentos (Salle et al., 2002). Esta técnica visa, além do cultivo, à manutenção da função endócrina e restauração da capacidade reprodutiva (Petroianu et al., 2004a), podendo também ser usada para restaurar a fertilidade de fêmeas com infertilidade adquirida (Campbell et al., 2000). As perspectivas de aplicação desta técnica vão desde a manutenção da fertilidade em mulheres portadoras de câncer (Donnez et al., 2004) até a preservação da diversidade genética necessária à conservação de animais ameaçados de extinção (Demirci et al., 2003) ou ainda após a sua morte.

\* Parte da dissertação de mestrado intitulada "Avaliação cirúrgica e histopatológica da viabilidade do auto-enxerto de tecido ovariano na região subcapsular do rim de ratas", elaborada com apoio financeiro da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Apesar dos recentes avanços nestas áreas, condições ótimas para o cultivo de FOPA utilizando transplante ovariano ainda não foram estabelecidas, uma vez que o sucesso da técnica depende de uma série de fatores (Dissen et al., 1995; Campbell et al., 2000; Israely et al., 2003).

Neste contexto, pesquisas experimentais estão sendo executadas com o objetivo de conhecer e avaliar comparativamente qual técnica cirúrgica é mais adequada e oferece o melhor desenvolvimento ao tecido transplantado (Israely et al., 2003; Yang et al., 2006).

Na presente revisão serão abordados os principais aspectos da foliculogênese em mamíferos e de que forma os transplantes podem ser aplicados no suporte à reprodução de animais domésticos, silvestres e humanos.

## CONCEITOS E CLASSIFICAÇÃO

Transplantar consiste em transferir por meios cirúrgicos para um indivíduo, partes de tecido ou órgão retirado dele mesmo ou de um doador. Os transplantes ovarianos são classificados de acordo com a espécie receptora como: auto (mesmo indivíduo), iso (animal geneticamente idêntico), alo (outro ser da mesma espécie) ou xenotransplante (de outra espécie) (Andrade et al., 2004). Quanto à localização, podem ainda ser classificados em ortotópicos, quando reimplantados próximos à posição anatômica original, ou heterotópicos, se o transplante ocorre para um tecido longe desta posição anatômica de origem (Donnez et al., 2006).

## HISTÓRICO

Os conceitos de transplantes ovarianos não são novos na medicina reprodutiva. Os primeiros relatos constam de Morris (1895) e Knauer (1896), que visavam o rejuvenescimento mediante a manutenção dos níveis hormonais após o climatério. A partir da década de 40, com o advento das pílulas de reposição hormonal, houve uma diminuição das investigações sobre o transplante ovariano. Entretanto, foi apenas no final do século XX que se retomou o interesse pelo assunto, graças aos conceitos emergentes de endocrinologia e imunologia, possibilitando assim, estudos mais aperfeiçoados em transplantes experimentais (Petroianu et al., 2004a).

## MORFOFISIOLOGIA OVARIANA E FOLICULAR

De acordo com Hafez & Hafez (2004), o ovário tem duas funções principais, a produção cíclica de oócitos fertilizáveis e hormônios esteróides, em proporções balanceadas. Tais hormônios atuam no desenvolvimento do trato genital, facilitando a migração de embriões nas fases iniciais, e assegurando sua implantação e crescimento no útero. O folículo é a estrutura ovariana que permite ao ovário exercer suas duas funções: a gametogênese e a esteroidogênese. Eles estão presentes aos milhares no córtex ovariano em estádios pré-antrais e antrais.

Para que fosse estimado o número de folículos ovarianos existentes num ovário Gougeon & Chainy (1987) utilizaram métodos estereológicos baseados no número total de folículos observado para cada categoria, total de secções histológicas feitas e observadas, na espessura dos cortes ( $\mu\text{m}$ ), e no diâmetro médio do núcleo de cada tipo de folículo, ou seja, em função da sua classificação folicular. Para Hirshfield & Rees Midgley Jr (1978) e Lintern-Moore & Everitt (1978), a classificação folicular pode ser feita de duas formas: uma baseada no tamanho folicular e a outra, no tipo celular ou estágio de desenvolvimento. Segundo Pedersen & Peters (1968), os folículos ovarianos são classificados de acordo com o tipo e o número de camadas de células da granulosa que circundam o oócito. Sendo os primordiais aqueles contendo um oócito circundado por uma camada parcial ou completa de células pavimentosas da granulosa; folículos intermediários ou de transição, contendo uma camada de células da granulosa, tanto pavimentosas quanto cúbicas; os primários mostrando uma camada simples de células da granulosa cúbicas; folículos secundários, sendo assim classificados, quando possuem mais de uma camada de células da granulosa cúbicas sem antro visível e, por fim, folículos antrais iniciais aqueles com uma, ou mais, pequenas áreas de fluido folicular (antro), os antrais mostrando uma única e grande cavidade antral e o pré-ovulatório, aquele que possui um halo ou camada de células do *cumulus* circundando o oócito.

## ATRESIA E DEGENERAÇÃO FOLICULAR

Em mamíferos, o *pool* dos folículos primordiais estabiliza-se na vida fetal ou logo após o nascimento

dependendo da espécie. Uma vez estável, a reserva desse tipo folicular começa a diminuir pelo desenvolvimento dos folículos pré-antrais a antrais, ou por degeneração *in situ*, o que ocorre com a maioria deles ao longo da vida reprodutiva de uma fêmea (99%) (Hirshfield, 1988). Seria de grande benefício se estes folículos, destinados a se tornarem atresícos, pudessem ser recuperados antes de sua degeneração (Saha et al., 2000). Por essa reserva nunca ser reposta ao longo da vida da fêmea, é que algumas linhas de pesquisa, buscando a estimulação desses folículos até sua fase antral têm-se tornado incansáveis e cada vez mais frequentes (Oktay et al., 1995).

Etimologicamente, a atresia não é um sinônimo de degeneração. Entretanto, degeneração folicular, pode ser comumente denominada atresia, quando estiver relacionada aos oócitos que são perdidos no ovário por várias razões que não a ovulação. Porém, a homologia dos fenômenos envolvidos nestes processos, justifica a utilização do termo atresia (Ingram, 1977). Esta, por sua vez, está associada a uma série de mudanças morfológicas, bioquímicas e histológicas, que variam de acordo com o estágio do crescimento folicular, e espécie animal. Tais mudanças podem estar relacionadas às alterações funcionais das células da granulosa e no transporte de nutrientes do plasma para o folículo. A degeneração é acompanhada pela perda do oócito, das células da granulosa e de receptores para vários hormônios. Fatores como idade, fase do ciclo reprodutivo, gestação, lactação, equilíbrio entre estrógenos e andrógenos de fontes intra e extra-ovarianas, nutrição e isquemia tecidual, regulam a atresia folicular (Hafez & Hafez, 2004). Folículos são considerados atresícos se houver picnose nuclear nas células da granulosa e se o oócito apresentar sinais de degeneração (Israely et al., 2003). Pode-se observar ainda descontinuidade da lâmina basal, com numerosas fibras de tecido conectivo ao redor, condensação de heterocromatina, descontinuidade focal do oolema folicular, irregularidades no perfil nuclear, grupos de gotas lipídicas ou pequenos vacúolos (Camboni et al., 2005).

#### **ATIVACÃO, CRESCIMENTO FOLICULAR E MATURAÇÃO OOCITÁRIA**

A coordenação da formação folicular e o início da ativação dos folículos primordiais em roedores, associados ao tamanho do ovário, permitem o cultivo desses órgãos inteiros e fazem com que eles sejam frequentemente utilizados como modelos

experimentais. Em primatas e ruminantes não ocorre o mesmo, já que sua formação folicular inicia durante o desenvolvimento fetal e esta permanece até que alguns folículos sejam ativados e deixem o grupo dos folículos quiescentes. O início do crescimento folicular pode ser regulado primariamente por uma possível inibição proveniente da zona mais central da região medular do ovário. Esta hipótese pode explicar porque a maioria dos folículos primordiais é ativada quando fragmentos corticais ovarianos de bovinos ou babuínos são colocados em cultivo, desde que a situação deles seja, presumivelmente, livre da influência dessa inibição medular (Fortune et al., 2000) ou da ação do hormônio anti-Mulleriano (AMH) (Cushman et al., 2002). Porém, quando se cultivam ovários inteiros de camundongas contendo todos os componentes ovarianos, espera-se que haja a continuidade desse controle do número de folículos primordiais ativados. Entretanto, isso não é obtido diretamente, o que não dá respaldo à hipótese de inibição medular. Outro fato, também contrário a essa hipótese, é aquele que ocorre quando fragmentos corticais de ovários bovinos ou babuínos são transplantados *in ovo* (geralmente na membrana cório-alantóide - CAM), e a ativação espontânea dos folículos não é observada (Fortune et al., 2000).

Aubard (2003) sugere cinco caminhos possíveis à maturação oocitária: o auto, o alo ou o xenotransplante, a maturação *in vitro*, e a transferência nuclear. Cada uma dessas técnicas tem suas utilidades e limitações. Com relação ao autotransplante as principais vantagens estão no retorno rápido e espontâneo à fertilidade em fêmeas ovariectomizadas, normalmente sem necessidade de terapia hormonal, não havendo chance de rejeição do transplante, e por esse motivo, não há exigência de terapia imunossupressiva. Também não se tem relatos de dificuldades na obtenção de folículos maduros, e não esbarra em questões éticas, como por exemplo, a chance de transmissão de agentes infecciosos ou o risco de alteração do genoma do receptor como ocorre no xenotransplante. No entanto, a limitação do autotransplante, que também deve ser extensível às demais técnicas de transplante, está no desconforto do paciente que precisa ser monitorado com uma maior frequência.

#### **TRANSPLANTE OVARIANO: APLICAÇÕES E ASPECTOS TÉCNICOS**

O transplante ovariano preserva a função deste órgão e minimiza os efeitos indesejáveis do

climatério precoce em mulheres ovariectomizadas (Stiff et al., 1997). Isto se deve ao fato de que o ovário de mamíferos, quando transplantado para um sítio ectópico, torna-se hormonalmente competente e capaz de ovular dentro de poucas semanas (Dissen et al., 1994). No entanto, alguns problemas técnicos relacionados aos transplantes, como a incerteza do sucesso na revascularização do órgão, rejeição do tecido transplantado e toxicidade das drogas imunossupressoras, que em certos casos são necessárias, frequentemente obscurecem o objetivo original de alguns trabalhos (Wood, 1982).

São várias as aplicações da técnica de transplante ovariano. Dentre elas podemos especificar a manutenção da fertilidade em mulheres portadoras de câncer que necessitam submeter-se a seções de quimio e radioterapia, e tem seus ovários ou parte deles, criopreservados para após o tratamento serem retransplantados, em sua posição anatômica de origem (Donnez et al., 2004) originando o nascimento de crianças saudáveis sem que nenhuma outra intervenção seja necessária; ou no tecido subcutâneo do antebraço (Oktay et al., 2004) sendo nesse último caso, necessária a fertilização *in vitro* (FIV) para obtenção de gestação e nascimento. A preservação da diversidade genética necessária à conservação de animais ameaçados de extinção, também constitui um dos objetivos das técnicas de xeno ou alotransplante; entretanto, nesses casos pode ser necessário utilizar técnicas de criopreservação ovariana, por não se ter um receptor exatamente no momento requerido para o transplante (Demirci et al., 2003). Além disso, o desenvolvimento de folículos ovarianos *in vitro* ainda é um desafio a ser vencido. O objetivo desse tipo de cultivo é tentar reproduzir os processos que ocorrem *in vivo*, investigando suas bases fisiológicas para atingir um crescimento folicular pleno, deixando-os aptos para serem submetidos aos procedimentos de maturação e fertilização *in vitro*. (Cecconi, 2002). Estudos experimentais estão sendo executados com o objetivo de conhecer a técnica cirúrgica mais adequada e eficiente para realização do transplante, bem como, quais locais do organismo permitem um melhor desenvolvimento do tecido transplantado. Dentre eles, poucos não obtiveram sucesso em seus resultados como, por exemplo, o que foi realizado com transplante de ovário íntegro na bolsa omental de ratas, resultando em morte do tecido transplantado, sugerindo que o transplante de fragmentos ovarianos seja mais adequado pela facilidade de revascularização (Brito et al., 2005). Contrariamente, a maioria dos estudos realizados obteve êxito, como por exemplo, aqueles em que o tecido ovariano foi transplantado

heterotopicamente para o antebraço (Wolner-Hanssen et al., 2005) e parede abdominal em humanos (Schmidt et al., 2005), cápsula renal (Lee et al., 2005), tecido subcutâneo (Israely et al., 2003), tecido muscular (Israely et al., 2003) de camundongos, omento maior em coelhas (Alberti et al., 2002), retroperitônio de ratas (D'Acampora et al., 2004), região inguinal de ratas (Ceschin et al., 2004) e ortotopicamente para a bolsa ovárica sem anastomose vascular em ratas (Gunasena et al., 1997; Petroianu et al., 2004b; Petroianu et al., 2006).

Segundo Yang et al. (2006), pesquisas promissoras em animais têm demonstrado que crias vivas podem ser obtidas a partir de oócitos de ovários transplantados tanto em locais ortotópicos quanto heterotópicos, mas ainda não existem estudos que comparem mais aprofundadamente a qualidade dos oócitos produzidos entre esses diferentes locais.

#### FATORES QUE INFLUENCIAM NO SUCESSO DO TRANSPLANTE OVARIANO

Sabe-se que a localização anatômica escolhida para receber o transplante influencia diretamente em vários aspectos, dentre eles, o número e a qualidade dos oócitos produzidos a partir deles (Yang et al., 2006). Israely et al. (2003) explicam que isso pode ser devido à injúria sofrida pelo tecido transplantado, denominada período de isquemia-reperusão, que em roedores oscila entre 24 e 48 horas pós-transplante, e perdura até haver uma estabilização do novo suprimento vascular, bem como, dos danos sofridos pelas células endoteliais e perivascularares. Dissen et al. (1995) e Israely et al. (2003) afirmam que a duração da isquemia e reperusão do tecido transplantado depende de uma série de fatores, tais como tamanho do transplante, local escolhido para transplantá-lo e presença de fatores angiogênicos. Esse período de tempo é, sem dúvida, o fator determinante para o sucesso da técnica, pois enquanto o transplante permanece sem suprimento sanguíneo, suas células utilizam reservas intracelulares, aguardando a vascularização pós-transplante.

A neovascularização está acompanhada de um aumento na expressão de genes que codificam fatores angiogênicos, fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF), e transformação do fator de crescimento  $\beta 1$  (TGF $\beta$ -1). O procedimento de transplante também interrompe a inervação do ovário, que possui nervos intrínsecos e extrínsecos, os quais controlam o fluxo sanguíneo, bem como,

influenciam no desenvolvimento folicular e oocitário. Embora os transplantes ovarianos tornem-se revascularizados e reinervados, todo esse processo pode desregular o sistema essencial ao crescimento normal dos folículos e oócitos, resultando num número menor de oócitos competentes (Yang et al., 2006).

Dois estudos realizados com transplante sob a cápsula renal, não obtiveram uma sobrevivência folicular satisfatória, mesmo sendo este local, rico em suprimento sanguíneo. Num deles, o tecido ovariano transplantado a fresco sob a cápsula renal de camundongas, resultou numa redução de 50% no número de folículos (Felicio et al., 1983); e em ovelhas, apenas 35% dos folículos sobreviveram (Baird et al., 1999). Outras alterações como uma redução de 30-70% no tamanho do transplante e proliferação de tecido fibroso também já foram relatadas (Kim et al., 2001). A maioria dessas alterações ocorre durante os primeiros dias após o transplante (Felicio et al., 1983).

Transplantes heterotópicos localizados abaixo da cápsula renal de camundongas produziram oócitos viáveis que se desenvolveram satisfatoriamente após uma FIV, gerando embrião que veio a termo numa gestação por mãe substituta (Carrol et al., 1990; Waterhouse et al., 2004). Entretanto, existe um relato de nascimento em animais, derivado de transplante localizado no tecido subcutâneo, ocorrido em macaco, resultante também de embriões que foram transferidos para mães de aluguel (Lee et al., 2004). Um embrião humano de quatro células foi produzido por injeção espermática intracitoplasmática num oócito coletado de um tecido ovariano transplantado subcutaneamente na parede abdominal. Entretanto, este embrião não se desenvolveu até o nascimento após ser implantado no útero da paciente (Oktay et al., 2004).

Como pôde ser observado, o sucesso da técnica depende diretamente da posição escolhida para alocar-se o transplante, possibilitando maior ou menor chance de recuperar tanto o transplante realizado quanto os folículos nele contidos. A cápsula renal promove uma maior taxa de recuperação folicular quando comparada ao tecido subcutâneo; provavelmente, devido ao vasto suprimento vascular, que facilita o estabelecimento do transplante e o suporte adequado às suas células, em contrapartida ao tecido subcutâneo que possui uma baixa vascularização (Israely et al., 2003; Yang et al., 2006).

Para Liu et al. (2003), o transplante de ovário a esses outros locais do corpo, pode desregular vários processos intraovarianos, deixando-o exposto a diferentes ambientes. Estes autores citam como exemplo dessa situação, o transplante realizado no tecido subcutâneo, região que, além de passar por alterações de pressão, sofre constantes oscilações de temperatura, danificando o citoesqueleto celular e a sequência de eventos meióticos necessários ao desenvolvimento oocitário satisfatório. Petroianu et al. (2004a) afirmam ainda que a maioria dos trabalhos experimentais sobre transplante ovariano visa principalmente à manutenção da função endócrina e à restauração da capacidade reprodutiva. Porém, histopatologicamente existem poucas avaliações da viabilidade folicular e ovariana para os diferentes sítios de tecido receptor e autotransplantado.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A despeito dos avanços obtidos com a resposta tecidual em diferentes condições de cultivo *in vivo* por transplantes mencionados neste artigo, acredita-se que os fatores teciduais que colaboram com esse desenvolvimento devem ser melhor elucidados, neste sentido, ferramentas moleculares e testes com adição de substâncias envolvidas na foliculogênese auxiliarão na compreensão de mecanismos essenciais ao desenvolvimento do tecido ovariano e sua interação com tecidos receptores de outros animais e locais de transplante.

## REFERÊNCIAS

- Alberti, L. R.; Vasconcellos, L. S.; Barbosa, J. F.; Petroianu, A. Implante autólogo ovariano no omento maior. Estudo Experimental. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, n. 24, v. 3, p. 187-192, 2002.
- Andrade, E. R.; Silva, L. D. M.; Moraes, M. O.; Seneda, M. M.; Tonioli, R. Cultivo *in vivo* de folículos pré-antrais - Revisão de literatura. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 28, n. 2, p. 67-72, 2004.
- Aubard, Y. Ovarian tissue xenografting. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, v. 108, p.14-18, 2003.
- Baird, D. T.; Webb, R.; Campbell, B. K.; Harkness, L. M.; Gosden, R. G. Long-term ovarian function in sheep after ovariectomy and transplantation of autografts stored at . 196 C. Endocrinology, v. 140, p. 462-471, 1999.
- Brito, N. M. B.; Torres, I. O.; Silveira, E. L.; Santos, L. L. T. Estudo da viabilidade do enxerto de ovário na bolsa omental de ratos utilizando Ciclosporina A. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 20, n.

2, p. 174-179, 2005.

Camboni, A.; Martinez-Madrid, B.; Dolmans, M.; Macchiarelli, G.; Donnez, J.; Nottola, S. A. Contribution of transmission electron microscopy to the study of human ovarian tissue integrity after enzymatic isolation, cryopreservation or xenografting. *Fertility and Sterility*, v. 84, p. S104, suppl. 1, 2005.

Campbell, B. K.; Telfer, E. E.; Webb, R.; Baird, D. T. Ovarian autografts in sheep as a model for studying folliculogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 163, p. 131-139, 2000.

Carroll, J.; Whittingham, D. G.; Wood, M. J.; Telfert, E.; Gosden, R. G. Extra-ovarian production of mature viable mouse oocytes from frozen primary follicles. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 90, p. 321-327, 1990.

Cecconi, S. Growth and differentiation of small ovarian follicles in mammals: problems and future perspectives. *Journal of Reproduction and Development*, v. 48, n. 5, p. 431-445, 2002.

Ceschin, A. P.; Biondo-Simões, M. L. P.; Thomaz, B. A. C.; Totsugui, J. Avaliação hormonal indireta e estudo da preservação folicular em tecido ovariano autólogo transplantado para região inguinal em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 19, n. 1, p. 27-30, 2004.

Cushman, R.A., Wahl, C.M., Fortune, J.E.. Bovine ovarian cortical pieces grafted to chick embryonic membranes: a model for studies on the activation of primordial follicles. *Human Reproduction*. v.17, p. 48-54. 2002.

D'Acampora, A. J.; Tramonte, R.; Manoel, F. S.; Schmidt, R. R.; Muller, C. T.; Tognoli e Silva, H.; Oliveira, A.; Raymundi, S. D. Análise histológica a viabilidade do transplante autólogo de hemiovário em retroperitônio de ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 19, n. 4, p. 360-369, 2004.

Demirci, B.; Lornage, J.; Salle, B.; Poirel, M. T.; Guerin, J. F.; Franck, M. The cryopreservation of ovarian tissue: uses and indications in veterinary medicine. *Theriogenology*, v. 60, p. 999-1010, 2003.

Dissen, G. A.; Lara, E. H.; Fahrenbach, W. H.; Costa, M. E.; Ojeda, S. R. Immature rat ovaries become revascularized rapidly after autotransplantation and show gonadotropin-dependent increase in angiogenic factor gene expression. *Endocrinology*, v. 134, p. 1146-1154, 1994.

Dissen, G. A.; Hirshfield, A. N.; Malamed, S.; Ojeda, S. R. Expression of neurotrophins and their receptors in the mammalian ovary is developmentally regulated: changes at the time of folliculogenesis. *Endocrinology*, v. 136, p. 4681-4692, 1995.

Donnez, J.; Dolmans, M. M.; Demylle, D.; Jadoul, P.; Pirard, C.; SQUIFFLET, J.; MARTINEZ-MADRID, B.; VAN LANGENDONCKT, A. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *The Lancet*, v. 16, p. 1405-1410, 2004.

Donnez, J.; Martinez-Madrid, B.; Jadoul, P.; Van Langendonck, A.; Demylle, D.; Dolmans, M. M. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: a review. *Human Reproduction Update*, v. 12, n. 5, p. 519-535, 2006.

Felicio, L.S.; Nelson, J.F.; Gosden, R.G.; Finch, C.E. Restoration of ovulatory cycles by young ovarian grafts in aging mice: potentiation by long-term ovariectomy decreases with age. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 80, p. 6076-6080, 1983.

Fortune, J.E.; Cushman, R.A.; Wahl, C.M.; Kito, S. The primordial to primary follicle transition. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 163, p. 53-60, 2000.

Gougeon, A. & Chainy, G.B.N. Morphometric studies of small follicles in ovaries of women at different ages. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 81, p. 433-442, 1987.

Gunasena, K.T.; Lakey, J.R.T.; Villines, P.M.; Critser, E.S.; Critser, J.K. Allogeneic and xenogeneic transplantation of cryopreserved ovarian tissue to athymic mice. *Biology of Reproduction*, v. 57, p. 226-231, 1997.

Hafez, E.S.E. & Hafez, B. Foliculogênese, maturação ovocitária e ovulação. In: *Reprodução Animal*. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004. p. 69-82.

Hirshfield, A.N. Size-frequency analysis of atresia in cycling rats. *Biology of Reproduction*, v. 38, p. 1181-1188, 1988.

Hirshfield, A.N. & Rees Midgley Jr, A. Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biology of Reproduction*, v. 19, p. 597-605, 1978.

Ingram, D.C. Ovulation and atresia. In: Weir, B.J.; Rowlands, I.W. *The ovary*. 2. ed. New York: Academic Press, v. 1, cap. 6, p. 265-301, 1977.

Israely, T.; Dafni, H.; Granot, D.; Nevo, N.; Tsafiriri, A.; Neeman, M. Vascular remodeling and angiogenesis in ectopic ovarian transplants: a crucial role of pericytes and vascular smooth muscle cells in maintenance of ovarian grafts. *Biology of Reproduction*, v. 68, p. 2055-2064, 2003.

Kim, S.S.; Radford, J.; Harris, M.; Varley, J.; Rutherford, A.J.; Lieberman, B.; Shalet, S.; Gosden, R. Ovarian tissue harvested from lymphoma patients to preserve fertility may be safe for autotransplantation. *Human Reproduction*, v. 16, p. 2056-2060, 2001.

Knauer, E. Einige versuche uber ovarientransplantation bei kaninchen. *Zentralblatt Gynäkologie*, v. 20, p. 524-528, 1896.

Lee, D.M.; Yeoman, R.R.; Battaglia, D.E.; Stouffer, R.L.; Zelinskiwooten, B.; Fanton, J.W.; Wolf, D.P. Live birth after ovarian tissue transplant. *Nature*, v. 428, p. 137-138, 2004.

Lee, C.H.; Xue, H.; Sutcliffe, M.; Gout, P.W.; Huntsman, D.G.; Miller, D.M.; Gilks, C.B.; Wang, Y.Z. Establishment of subrenal capsule xenografts of primary human ovarian tumors in SCID mice: potential models. *Gynecologic Oncology*, v. 96, p. 48-55, 2005.

Lintern-Moore, S. & Everitt, A.V. The effect of restricted food intake on the size and composition of the ovarian follicle population in the Wistar rat. *Biology of Reproduction*, v. 19, p. 688-691, 1978.

Liu, R.H.; Sun, Q.Y.; Li, Y.H.; Jiao, L.H.; Wang, W.H. Maturation of porcine oocytes after cooling at the germinal vesicle stage. *Zygote*, v. 11, p. 299-305, 2003.

McCaffery, F.H.; Leask, R.; Riley, S.C.; Telfer, E.E. Culture of bovine preantral follicles in a serum-free system: markers for assessment of growth and development. *Biology of Reproduction*, v. 63, p. 267-273, 2000.

Morris, R.T. The ovarian graft. *New York Medicine Journal*, v. 62, p. 436, 1895.

Oktay, K.; Schenken, R.S.; Nelson, J.F. Proliferating cell nuclear antigen marks the initiation of follicular growth in the rat. *Biology of Reproduction*, v. 53, p. 295-301, 1995.

Oktay, K.; Buyuk, E.; Veeck, L.; Zaninovic, N.; Xu, K.; Takeuchi, T.; Opsahl, M.; Rosenwaks, Z. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *The Lancet*, v. 363, p. 837-840, 2004.

Pedersen, T. & Peters, H. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 17, p. 555-557, 1968.

Petroianu, A.; Alberti, L.R.; Vasconcellos, L.S. Histoarquitetura, função endócrina e taxa de gravidez após auto-implante ovariano ortotópico íntegro e fatiado em coelha. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, v. 26, n. 2, p. 117-123, 2004a.

Petroianu, A.; Alberti, L.R.; Vasconcellos, L.S.; Leite, J.M.; Castro, L.P.F. Avaliação endócrina e morfológica de transplante ovariano homogêneo. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 40, n. 3, p. 206-211, 2004b.

Petroianu, A.; Alberti, L.R.; Vasconcelos, L.S. Avaliação pós-transplante de ovários íntegros e fatiados sem anastomose vascular. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 52, n. 6, p. 447-452, 2006.

Saha, S.; Shimizu, M.; Geshi, M. In vitro culture of bovine preantral follicles. *Animal Reproduction Science*, v. 63, p. 27-39, 2000.

Salle, B.; Demirci, B.; Franck, M.; Rudigoz, R.C.; Guerin, J.F.; Lornage, J. Normal pregnancies and live births after autograft of frozen-thawed hemi-ovaries into ewes. *Fertility and Sterility*, v. 77, p. 403-408, 2002.

Schmidt, K.L.T.; Andersen, C.Y.; Loft, A.; Byskov, A.G.; Ernst, E.; Andersen, A.N. Follow-up of ovarian function post-chemotherapy following ovarian cryopreservation and transplantation. *Human Reproduction*, v. 20, p. 3539-3546, 2005.

Stiff, P.J.; Bayer, R.; Kerger, C.; Potkul, R.K.; Malhotra, D.; Peace, D.J.; Smith, D.; Fisher, S. G. High-dose chemotherapy with autologous transplantation for persistent / relapsed ovarian cancer: a multivariate analysis of survival for 100 consecutively treated patients. *Journal of Clinical Oncology*, v. 15, p. 1309-1317, 1997.

Waterhouse, T.; Cox, S.L.; Snow, M.; Jenkin, G.H.; Shaw, J. Offspring produced from heterotopic ovarian allografts in male and female recipient mice. *Reproduction*, v. 127, p. 689-694, 2004.

Wolner-Hanssen, P.; Hägglund, L.; Ploman, F.; Ramirez, A.; Manthorpe, R.; Thuring, A. Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue to the right forearm 4 ½ years after autologous stem cell transplantation. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, v. 84, p. 695-698, 2005.

Wood, C. Ovarian transplantation. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, v. 89, n. 8, p. 595-597, 1982.

Yang, H.Y.; Cox, S.L.; Jenkin, G.; Findlay, J.; Trounson, A.; Shaw, J. Graft site and gonadotrophin stimulation influences the number and quality of oocytes from murine ovarian tissue grafts. *Reproduction*, v. 131, p. 851-859, 2006.