XXXI Seminário de INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFERSA

Núcleo de Avaliação: Núcleo I
Área temática: Ciências Agrárias
Área do Conhecimento: Medicina Veterinária

Criopreservação de tecido testicular de cães (*Canis lupus familiaris*) utilizando sistemas fechados de vitrificação.

Gabriela Linhares Leite, Lilian Leal Dantas, Romário Parente dos Santos, Andréia Maria da Silva, Alexandre Rodrigues Silva

Os cães desempenham papel relevante nas atividades humanas e nos núcleos familiares, tornando essencial sua manutenção reprodutiva e a conservação genética. A criopreservação de tecido gonadal é uma estratégia aplicável a cães pets ou de alto valor zootécnico. Nesse contexto, objetivou-se avaliar os impactos da vitrificação por Ovaryan Tissue Criosystem (OTC) e criotubos em fragmentos testiculares. Foram utilizados 5 pares de testículos obtidos por orquiectomia eletiva, fragmentados em 3 mm³ e divididos em grupo fresco e criopreservados. Inicialmente, as amostras foram imersas por 10 min em solução de equilíbrio [Meio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM), 0,25M de sacarose, 10% de soro fetal bovino, 1,4M de dimetilsulfóxido e etilenoglicol] e 5 min em solução de vitrificação com o dobro de sacarose e crioprotetores, sendo seladas em OTC ou criotubos. Após 1 semana, foram aquecidas a 37°C por 1 min e submetidas à remoção dos crioprotetores em DMEM com sacarose decrescente (5M, 2,5M e 0M). Fragmentos dos grupos fresco e vitrificado foram avaliados quanto a viabilidade celular em microscopia de fluorescência utilizando os fluorocromos iodeto de propídio e Hoechst 33342. Para avaliação do nível de apoptose celular foram utilizados o brometo de etídio e laranja de acridina. Adicionalmente, foi realizada a avaliação da morfologia dos túbulos seminíferos, fragmentos foram processados para histologia, corados com hematoxilina-eosina e avaliados em microscopia de luz quanto à morfologia, sendo classificados em escores de 0 (pior) a 3 (melhor). Os dados foram expressos como média e erro padrão, e comparados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn ($P < 0,05$). Quanto aos resultados, a viabilidade celular reduziu do tecido fresco (76%) para os criopreservados por OTC (46,20%) e criotubos (31,60%), sem diferença significativa entre estes, embora com valores numericamente maiores para OTC. A apoptose não diferiu entre os grupos AP (apoptose precoce), AT (apoptose tardia) e o controle fresco, enquanto células necróticas foram observadas apenas nos vitrificados (10,40% OTC; 25,80% criotubos). Na avaliação morfológica dos túbulos seminíferos, os criopreservados apresentaram menores escores que o tecido fresco ($P < 0,05$). A estrutura tubular foi de 2,26 ± 0,04 no fresco, 1,65 ± 0,04 no OTC e 1,42 ± 0,04 nos criotubos. A vacuolização (2,32 ± 0,04; 1,96 ± 0,04; 1,88 ± 0,04) e a perda de células tubulares (2,48 ± 0,04; 1,96 ± 0,03; 1,86 ± 0,03) também foram reduzidas após a criopreservação. Apesar dos índices de ruptura da membrana basal permanecerem próximos ao controle (2,92 ± 0,02), os grupos criopreservados diferiram estatisticamente (2,54 ± 0,04 OTC; 2,55 ± 0,04 criotubos). Conclui-se que OTC e criotubos são alternativas viáveis para criopreservação testicular em cães, sendo necessários ajustes nos protocolos para maior preservação estrutural e celular.

Palavras-chave: Cães; Criopreservação; OTC; Criotubos; Histologia.
Agência financiadora: PIVIC.
Campus: Mossoró.