

Núcleo de Avaliação: Núcleo I

Área temática: Ciências da Saúde

Área do Conhecimento: Morfologia

Impacto do extrato de fumaça de cigarro no estroma ovariano cultivado in vitro

Victor Gabriel Freire de Gouveia, Raissa Carolina Dantas Mesquita de Medeiros, Fabrícia Barroso Rodrigues, Gerlane Modesto da Silva Balzani

A densidade de células estromais é um importante indicador da integridade tecidual e pode influenciar a foliculogênese por meio da mecanossensibilidade celular. Contudo, o método tradicional de contagem celular é laborioso, demorado e subjetivo, limitando estudos que exigem a mensuração de muitas células. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade e a precisão da metodologia automática em tecido ovariano caprino cultivado em diferentes concentrações de extrato da fumaça de cigarro. O tecido ovariano foi coletado de quatro cabras adultas em abatedouro local, lavado e transportado em antibiótico e solução salina a 4 °C. O extrato aquoso da fumaça de cigarro (EFC) foi preparado conforme protocolo adaptado de Gellner et al. (2016), utilizando um sistema de sucção que direcionava a fumaça através de solução salina. Fragmentos corticais ovarianos (3 × 3 × 1 mm) foram cultivados por sete dias em meio α -MEM+ isolado ou junto da adição do EFC, formando 3 grupos (controle, 2,5% e 5%). Após processamento histológico, as amostras foram analisadas por microscopia óptica. A densidade estromal foi quantificada automaticamente pelo software ImageJ e validada manualmente. Os dados foram submetidos à análise estatística, ANOVA e Tukey para análise dos grupos expostos e Bland-Altman e PEARSON para validação do método. Houve correlação significativa entre as contagens automática e manual das células estromais ($r=0.95$; $P<0.0001$), embora a análise de Bland-Altman ($P<0.05$; Viés= -3.08 ± 0.73) tenha revelado ausência de concordância. O sistema automático apresentou superestimação em imagens com baixa densidade celular e subestimação em áreas muito aglomeradas, mostrando melhor desempenho em imagens com 25 a 55 núcleos. Apesar disso, a forte correlação sugere que o método é sensível a variações reais na densidade celular. Não houve diferença

signif

icativa na densidade estromal entre os grupos, tanto pela análise automática (CF [20040 ± 3336], 0% [20991 ± 3977], 2,5% [18640 ± 7234] e 5% [18526 ± 5711]) quanto manual (CF [18222 ± 4286], 0% [20080 ± 5786], 2,5% [17093 ± 7876] e 5% [16554 ± 7392]). Contudo, observou-se redução significativa no tamanho nuclear (CF [13,35 ± 1,52], 0% [11,10 ± 1,21], 2,5% [11,74 ± 1,8] e 5% [10,67 ± 0,72]), que foi possível de ser analisado apenas de forma automatizada. Essa diminuição está provavelmente relacionada à apoptose dos fibroblastos. A ausência de alteração na densidade pode estar ligada ao tempo limitado de exposição, às concentrações empregadas ou ao método de coleta do extrato, que capturou apenas os componentes hidrossolúveis, reduzindo sua toxicidade. Dessa forma, foi apresentado um método automatizado para contagem de células estromais ovarianas, apresentando forte correlação com a contagem manual, embora sem plena concordância. Por fim, não houve diferença na densidade celular entre os grupos, independente da utilização da análise manual ou automática, o que sugere que o último pode ser utilizado para tornar as análises mais rápidas e reproduzíveis. Além disso, a análise das medidas nucleares só pôde ser realizada pelo método automatizado, devido à morfologia alterada dos tecidos expostos ao EFC e à elevada carga laboriosa envolvida na medição manual de um grande número de células.

Palavras-chave: Estroma, Extrato da Fumaça de Cigarro, Ovário, Automático

Agência financiadora: PIVIC

Campus: Mossoró

