

AUTOTRANSPLANTAÇÃO DE OVÁRIO NO SUBCUTÂNEO E CONSUMO FOLICULAR EM GATAS DOMÉSTICAS (*Felis catus*)

Fernanda Mandim Crestana¹, José Octávio Jacomin², Marcelo Emílio Beletti³,
Juliana Martins da Silva¹, Cirilo Antônio de Paula Lima², Sabrina Vaz dos Santos e Silva⁴

RESUMO

Os ovários de fêmeas mamíferas contêm um grande número de folículos em vários estágios de desenvolvimento, porém, somente um pequeno número vai sofrer maturação e ovulação durante a vida reprodutiva, pois a maioria sofre atresia. Para aumentar a chance de sobrevivência desses folículos e diminuir o risco de extinção das espécies ameaçadas, o implante ovariano vem sendo estudado amplamente. O objetivo desse estudo foi estabelecer o consumo folicular dos ovários remanescente e do implantado no subcutâneo de gatas domésticas, após 120 dias, pela quantificação e classificação morfométrica dos mesmos e em relação à preservação da organização tecidual. Foram utilizadas treze gatas (*Felis catus*), sem raça definida, distribuídas em dois grupos: G1 (Animais 1 a 7, com amostras de ovários esquerdos para controles e implantes e ovários direitos remanescentes) e G2 (Animais 8 a 13, com amostras de ovário direito para controle e implante e ovário esquerdo remanescente). Após ovariectomia unilateral, o ovário foi seccionado transversalmente em três segmentos proporcionais. Os dois terços cranial e caudal foram transplantados no subcutâneo, e o terço médio foi para análise histológica de rotina como controle. Decorridos 4 meses, retirou-se os implantes e o ovário remanescente, para serem observados em microscopia de luz. Os implantes foram localizados em 38,4% das gatas e a histologia mostrou grande número de folículos primordiais (59,75%), folículos primários (40,25%) e fibroplasia do tecido conjuntivo interfolicular. O número médio de folículos primários foi maior no ovário implanta-

do (36,10/mm²) em relação ao ovário controle (12,11/mm²) e ao ovário remanescente (16,27/mm²). O ovário remanescente mostrou aspecto macroscópico normal e folículos em todos os estágios de desenvolvimento, com o número médio de terciários (1,12/mm²) maior que no ovário controle (0,96/mm²). Conclui-se que o autotransplante ovariano no subcutâneo pode ser um método promissor para garantir a preservação folicular, mas em gatas deve-se estudar melhor o local e o tamanho dos fragmentos. Seria útil um tempo de estudo maior que 120 dias para analisar o consumo folicular nestes animais.

Palavras-chave: Gatas domésticas, autotransplante ovariano, subcutâneo, consumo folicular.

INTRODUÇÃO

A preservação de espécies em extinção já era uma preocupação quando Wildt *et al.* (1986) defenderam a necessidade de programas de procriação em jardins zoológicos e em parques de vida selvagem para sustentar as linhagens genéticas e a biodiversidade. A maioria dos ovócitos presentes em ovários fetais é perdida antes do nascimento e só aproximadamente 400 vão ovular durante o período de vida fértil normal da mulher (DEPALO *et al.*, 2003). Este consumo contínuo acelerado de ovócitos é resultante de um mecanismo complexo de morte celular conhecido como apoptose (MEDEIROS; YAMAMOTO, 1998). Segundo Ponderato *et al.* (2000) e Markström *et al.*

¹ Médica Veterinária. Pós-graduanda em Ciências Veterinárias (Mestrado), área de Saúde Animal, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia-MG. Fone: (34) 3238-1476, fecrestana@hotmail.com

² Médico Veterinário. Professor Doutor Adjunto da Faculdade de Medicina Veterinária-UFU.

³ Médico Veterinário. Professor Doutor Associado do Instituto de Ciências Biomédicas-UFU.

⁴ Médica Veterinária. Pós-graduanda em Genética e Bioquímica-UFU.

(2002), a atresia folicular é um processo regulado por hormônios e embora alguns fatores de crescimento afetem a sobrevivência folicular, o meio fisiológico de regulação é o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). Cunningham (2004) relata que não está claro se há redução absoluta, ou relativa, no número de folículos ou se é a ausência de receptores de gonadotrofinas que impede os folículos de atingirem o estágio de crescimento dependente de gonadotrofina.

Além de estudar o consumo folicular, alternativas promissoras na reprodução vêm sendo desenvolvidas, onde pesquisas indicam que ovários transplantados em locais heterotópicos podem preservar a função endócrina, mantendo a viabilidade folicular. Em cães, alguns pesquisadores relatam o uso de autotransplante ovariano em mucosa estomacal (DAVIES, 1989) e na tela subcutânea (MATERA et al., 1998 e SCHOSSLER et al., 1999), como alternativa de minimizar os efeitos indesejáveis da ovariectomia.

Existe pouca literatura sobre o implante ovariano em gatas, apesar de Bristol; Woodruff (2004) acreditarem que o gato doméstico é um modelo ideal para estudar a dinâmica folicular ovariana, devido à abundância de todas as populações de folículo, incluindo na fase primordial.

O objetivo desse estudo foi estabelecer a taxa de consumo folicular no ovário remanescente e no tecido ovariano autólogo transplantado para o subcutâneo de gatas domésticas, após 120 dias, pela quantificação e classificação morfométrica dos mesmos e em relação à preservação da organização tecidual.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas treze gatas (*Felis catus*), sem raça definida, clinicamente saudáveis e com idade variando de 8 meses a 3 anos. Este trabalho foi realizado de acordo com as Normas Internacionais de Proteção dos Animais, descritas por Cooper (1985), e como recomenda Goldenberg (2000), em seu editorial sobre a ética da pesquisa com animais. As cirurgias foram realizadas no centro cirúrgico experimental do hospital veterinário e os resultados processados no laboratório de histologia, ambos da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Os animais foram aleatoriamente divididos em 2 grupos: G1 (Animais 1 a 7, com amostras de ovário esquerdo para controle e implante e ovário direito remanescente) e G2 (Animais 8 a 13, com amostras de ovário direito para controle e implante

e ovário esquerdo remanescente).

Os animais no momento da ovariectomia unilateral para realização do implante autólogo heterotópico tiveram o ovário seccionado transversalmente em 3 segmentos proporcionais, preservando as camadas cortical e medular. Os dois terços cranial e caudal foram transplantados na tela subcutânea (com distância média de 1,0 cm entre eles), próximo da glândula mamária abdominal caudal (do respectivo atímero em que foi retirado o ovário), mediante um túnel obtido por pinça anatómica simples, aproveitando-se a incisão mediana ventral, antes da laparotomia e dermorráfia. O leito receptor foi fechado com a aplicação de um ponto separado em forma de "U" com fio de nylon monofilamento 3-0.

O terço médio do ovário seccionado foi fixado em formol a 10% e processado segundo técnica histológica rotineira com inclusão em parafina, sendo este o tecido controle, com a finalidade de obter informação do padrão ovariano.

O ovário remanescente ficou no seu local de origem e não foi manipulado, a fim de que após 120 dias fosse retirado e medido o consumo folicular, em relação ao controle e também ao implante.

Decorridos os 120 dias, todos os animais foram submetidos à ovariohisterectomia, com a finalidade de se retirar os ovários remanescentes e os implantes ovarianos. Os ovários remanescentes foram seccionados em 3 partes iguais, sendo desprezados os 2 terços cranial e caudal. A porção média e os ovários implantados foram fixados em formol a 10%, para estudo histológico.

Os segmentos ovarianos encaminhados para estudo histológico nos 2 momentos, foram preparados segundo técnica histológica convencional de Michalany (1980), e após secagem, os blocos foram cortados em micrótomo e aproveitados 3 cortes de 5mm de espessura de cada ovário, desprezando-se 30 cortes entre cada um dos coletados. As lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina.

As lâminas foram observadas em microscopia de luz, captando-se em média três imagens de cada corte pelo programa de computador *HL image*[®]. As imagens foram capturadas com objetiva 4x para folículos terciários e secundários e 10x para folículos primordiais e primários. Áreas dessas imagens foram mensuradas em mm² e convertidas em mm² para que os folículos presentes fossem quantificados e classificados de acordo com o estágio de desenvolvimento, observando também a organização tecidual.

Os folículos foram classificados com base

em Karja et al. (2002), considerando-se o aspecto morfológico dos mesmos, da seguinte forma: folículo primordial com ovócito localizado centralmente e uma única camada de células planas da granulosa ao redor; folículo primário com ovócito localizado centralmente e camada única de células da granulosa de formato cuboidal; folículo secundário com ovócito centralizado e várias camadas de células da granulosa de formato cuboidal; folículo terciário com múltiplas camadas de células da granulosa, formação de antro e presença de células das tecas interna e externa.

Com o objetivo de verificar a existência ou não de diferenças estatisticamente significativas entre as frequências de folículos ovarianos encontrados no ovário controle, no remanescente e no implantado, foi aplicado o teste de Wilcoxon (SIEGEL, 1975). Todos os valores foram relativos aos tipos de folículos: primordial, primário, secundário e terciário. A significância estabelecida foi de 0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência de ovócitos, segundo Morita; Tilly (1999) é uma batalha contínua, levada adiante nas fases primárias de desenvolvimento ovariano fetal e por toda a vida do adulto. Está ausente segundo Wood et al. (1997), informações sobre as mudanças dinâmicas que acontecem dentro dos ovócitos nas espécies carnívoras e de vida selvagem. A gata é ideal para este tipo de análise porque todos os estágios foliculares, particularmente os folículos ovaricos primordiais, podem ser examinados em qualquer momento determinado.

A técnica cirúrgica para a ovariectomia inicial e ovariohisterectomia posterior foi a recomendada por Christiansen (1988), Mialot (1988) e Wilson; Hayes Jr (1986), de uso consagrado na medicina veterinária, pois são de fácil execução e evita complicações durante o ato cirúrgico. A técnica utilizada para o enxerto ovariano seguiu a orientação de Le Roux; Van Der Valt (1978) e atualmente de Matera et al. (1998), Schossler *et al.* (1999) e Oktay et al. (2003). Após a cirurgia, o implante era claramente visível e palpável sob a pele da região abdominal das gatas, porém, ao contrário dos autores anteriormente mencionados, a monitoração pela palpação externa foi possível apenas no primeiro mês após o implante, em parte devido ao aumento de tecido adiposo acumulado na região abdominal. Segundo Weissman et al. (1999) e Kiran et al. (2004), o espaço subcutâneo é ideal para crescimento e desenvolvimento de folículos, pois há vascularização adequada, também

permite monitoramento simples, conveniente e de fácil acesso por aspiração com agulha.

Foi criado um túnel entre a fáscia e o tecido subcutâneo, usando dissecação cega, à semelhança de Oktay et al. (2003) em seu experimento. Esta área é relativamente vascularizada segundo os autores, e deve ser prestada atenção para evitar prejuízos às veias e artérias mais calibrosas, porque o tecido ovariano adquirirá sua provisão de sangue dos recipientes locais.

A revascularização do enxerto é crucial para a sobrevivência de folículos ovarianos transplantados, por isso implantou-se fragmentos ovarianos de cerca de 2 mm, contendo as áreas cortical e medular. O ovário seccionado em fragmentos ou fatias corticais menores que 1–2 mm, segundo Nugent et al. (1997), minimizam a hipóxia a seu centro. Os fragmentos podem ser ancorados com quaisquer suturas no local heterotópico, como foi realizado nesse estudo. Os folículos primordiais presentes na periferia são os primeiros a se beneficiarem da revascularização. Na realidade Von Eye et al. (1998) informaram que enxertos ovarianos com tecido fatiado resultaram em um grau mais baixo de isquemia ou mudanças degenerativas que ovários transplantados intactos.

Foi observada aderência após a ovariectomia parcial nas imediações do útero, o que dificultou um pouco a exteriorização do mesmo para a realização da ovariohisterectomia, o que dificultaria, posteriormente a transferência de óvulos fecundados. A infertilidade de algumas coelhas, de acordo com Petroianu et al. (2004) pôde ser atribuída à presença de aderências tubo-ovarianas e outros fenômenos inflamatórios presente nas tubas uterinas.

A proposta para verificar o consumo folicular foi por um período de 120 dias, conforme a orientação de Callejo et al. (2001), pois é necessário esperar de 3 a 4 meses até a recuperação espontânea da função ovariana, sendo o período de tempo requerido para os folículos primordiais que sobreviveram para desenvolverem à folículos pré-ovulatórios.

O exame histológico do tecido ovariano nesse experimento permitiu verificar a presença de folículos primordiais, primários, secundários e terciários (Figuras 1 e 2). Essa classificação obedeceu-se a preconizada por Karja et al. (2002) semelhantemente à de Ceschin et al. (2004), Bristol; Woodruff (2004), e Weissman et al. (1999). Ainda, segundo Telfer; Gosden (1987), folículos com vários ovócitos são uma ocorrência natural em gatas, no entanto não foram observados nesse estudo.

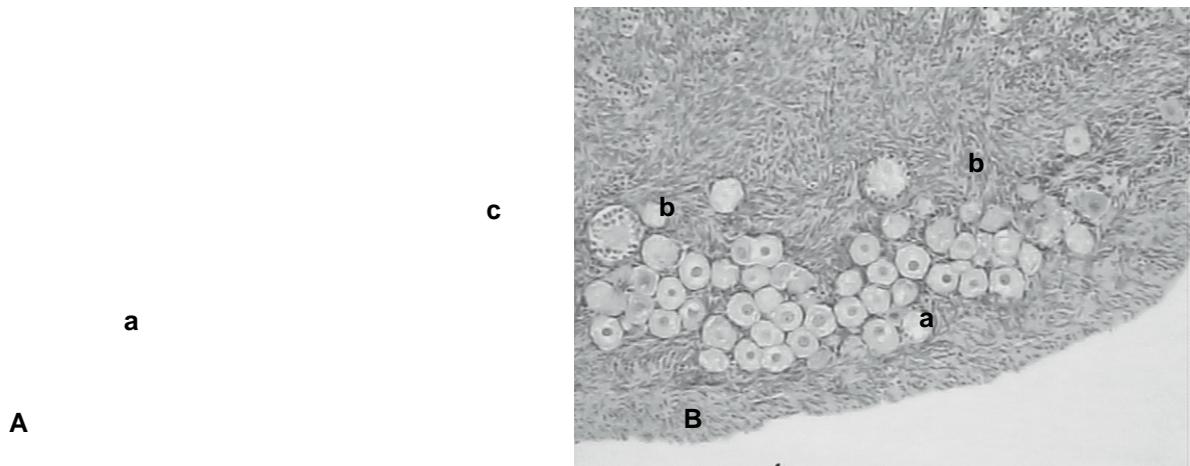


Figura 1. Cortes histológicas de ovário de gata doméstica, corados com hematoxilina e eosina. (A) Momento zero do ovário controle. (B) Momento 1 do ovário remanescente. Presença de folículos primordiais (a), primários (b) e secundário (c). Escala de barra = 50 mm.

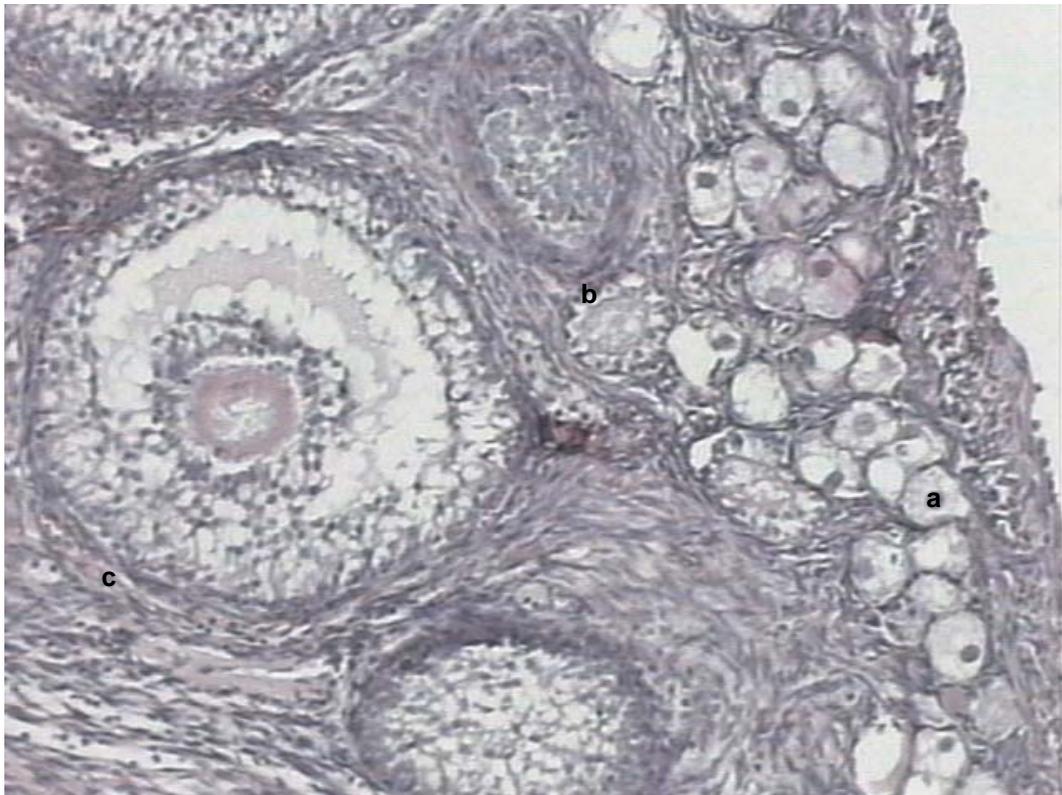


Figura 2. Corte histológico de ovário remanescente de gata doméstica, corado com hematoxilina e eosina. Presença de folículos em várias fases de desenvolvimento: primordiais (a), primários (b), terciário (c). Escala de barra = 50 mm.

Os implantes ovarianos foram recuperados em 38,4% das gatas, pois não foram encontrados ou reabsorvidos. A procura dos mesmos foi intensa, em meio a grande quantidade de tecido adiposo e

glândula mamária de aspectos macroscópicos semelhantes. Notou-se nos implantes uma fibroplasia do tecido conjuntivo interfolicular, com aumento dos feixes de colágeno entre as estruturas no pa-

rênquima (Figura 3). A hiperplasia de tecido observada nesse estudo é um pouco diferente da hiperplasia com densos agregados de fibroblastos descritos por Banks (1992), que são normais nas espécies animais e eles podem ser paralelos à superfície ou se arranjar ordenadamente em torno dos folículos ou dos vasos a que estes se associam. As áreas de fibroplasias observadas nesse experimento também foram relatadas por Callejo *et al.* (2002),

que no exame histológico de ovários removidos 6 meses depois do enxerto mostraram grau crescente de fibroses, perda de folículos primordiais e a presença de cistos epiteliais. Com 1 ano de experimento, a maioria do parênquima ovariano foi substituído por fibrose, e embora o número de folículos antrais era significativamente menor em grupos transplantados, a área de células granulosas era significativamente maior em função da hiperplasia.

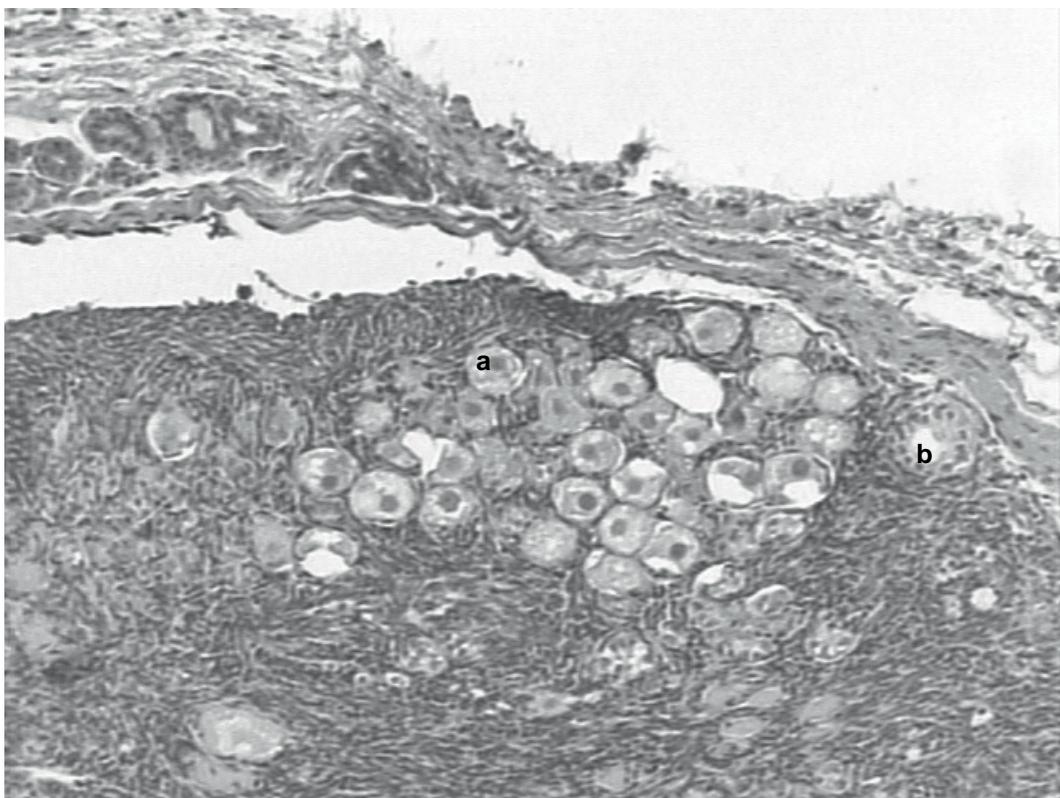


Figura 3. Corte histológico do ovário esquerdo implantado da gata doméstica 3, corado com hematoxilina e eosina, com folículos primordiais (a) e primário (b). Escala de barra = 50 μ m.

Nos ovários implantados foram encontrados 53,61 (59,75%) folículos primordiais por mm^2 e 36,10 (40,25%) folículos primários por mm^2 (Figura 4), embora a maioria dos folículos sobreviventes (93-95%) nos transplantes constatados por Bosch *et al.* (2004) permaneceu na fase primordial. Eles observaram folículos em fases diferentes de desenvolvimento até antrais, usando o protocolo hormonal que incluía administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) em uma tentativa para induzir ativação de ovócitos, e apesar disto, não

houve evidência de maturação. Não foi administrado gonadotrofina exógena nas gatas utilizadas neste estudo bem como no experimento de Schnorr *et al.* (2002), isso não melhorou o resultado dos transplantes nos animais testados. No estudo de Donnez *et al.* (2004), nenhum folículo primordial foi notado, a densidade folicular foi de 4 a 5 folículos por mL de aspirado e a temperatura e mudanças de pressão no espaço subcutâneo podem danificar os ovócitos.

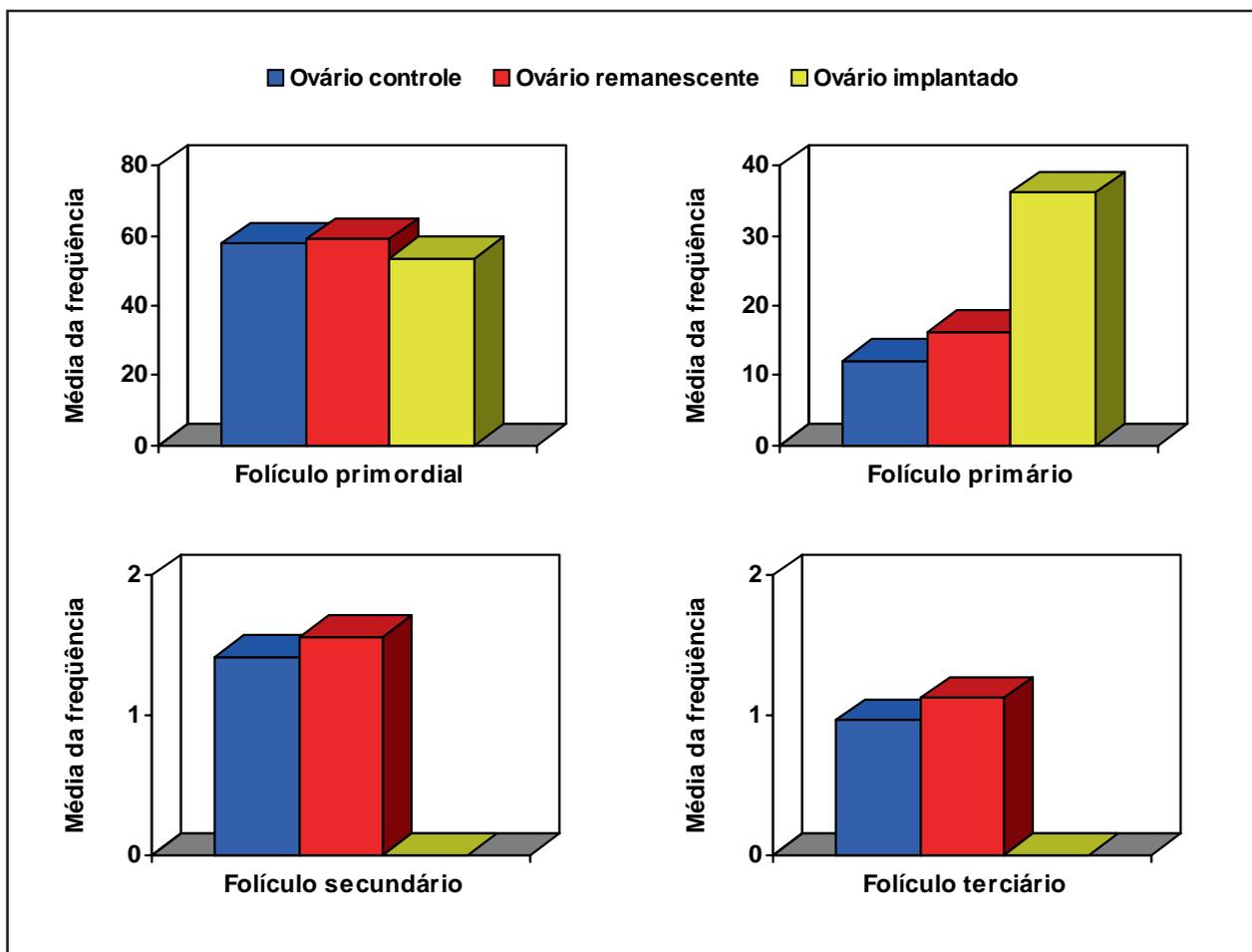


Figura 4. Média da frequência dos folículos ovarianos primordiais, primário, secundário e terciário obtidos no ovário controle, no ovário remanescente e no ovário implantado de gatas domésticas.

Tabela 1. Probabilidades associadas aos valores de t, obtidas quando da aplicação do teste de Wilcoxon às frequências de folículos ovarianos, encontradas nos ovários controle, remanescente e no implantado de gatas domésticas,, considerando-se os valores relativos aos tipos de folículos: primordial, primário, secundário e terciário.

Variáveis Analisadas	Probabilidades
Primordial controle x primordial implantado	0,7750
Primordial remanescente x primordial implantado	0,7750
Primordial controle x primordial remanescente	0,9197
Primário controle x primário remanescente	0,1027
Primário controle x primário implantado	0,0011*
Primário remanescente x primário implante	0,0227*
Secundário controle x secundário remanescente	0,8182
Terciário controle x terciário remanescente	0,000*

(*) $p < 0,05$, significam grupos estatisticamente diferentes.

De acordo com os resultados demonstrados na tabela 1 foram encontradas diferenças estatisticamente significativa entre as frequências das variáveis: – Folículo primário controle x folículo primário implantado, sendo que os valores mais elevados foram os obtidos com o implantado – primário remanescente x primário implantado, sendo que os valores mais elevados foram os obtidos com o implantado – terciário controle x terciário remanescente, sendo que os valores mais elevados foram os obtidos com o remanescente (Figura 4).

Segundo Depalo et al. (2003), os folículos primordiais e primários são gonadotrofinas independentes, e de acordo com Eppig (2001) há vários fatores que influenciam na transição destes, como o fator de crescimento básico de fibroblastos, TGF β e a insulina. A rápida revascularização do tecido ovariano é influenciada pela abundância de fatores angiogênicos e fatores de crescimento de fibroblastos, segundo Dissen et al. (1994), Nugent et al. (1997) e Torrents et al. (2003). Nugent et al. (1997) ainda complementam que hormônios esteróides fazem com que o implante se torne super estimulado e polifolicular, o que explica além de todos os argumentos anteriormente mencionados, o fato do número de folículos primários ser maior nos implantes.

Apesar de Bristol; Woodruff (2004) acreditarem que a gata é ideal para se estudar os folículos ovarianos devido à sua abundância, há certa dificuldade de avaliar o mesmo momento fisiológico em diferentes épocas. Na gata, segundo Dawson; Friedgood (1940), a ovulação é o resultado de um reflexo neuro endócrino iniciado por copulação ou um estímulo equivalente, quando os ovócitos em folículos pré-ovulatórios interrompidos na prófase da primeira divisão meiótica são ativados pelo pico de LH que segue o acasalamento. Cunningham (2004) esclarece que o padrão de crescimento folicular ocorre em ondas de no mínimo 8-9 dias de intervalos e os folículos se desenvolvem e regredem em um período de 6 a 7 dias. Para confirmar que folículos de tecidos ovarianos transplantados da gata estejam em desenvolvimento, Bosch et al. (2004) usaram uma técnica de imuno-histoquímica. Provavelmente, os animais nesse estudo estavam em diferentes estágios do ciclo estral quando foram realizadas as cirurgias dos dois momentos, por isso o número de folículos terciários foi maior em média no ovário remanescente.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o autotransplante ovariano no subcutâneo pode ser um método promissor para

garantir a preservação folicular, mas em gatas, deve-se estudar melhor o local e o tamanho dos fragmentos ovarianos.

The subcutaneous auto-transplantation ovaries and oocytes depletion in domestic cats (*Felis catus*)

ABSTRACT

Although the ovaries of female mammals have a large number of follicles in various stages of development, due to atresics only a small number will mature and ovulate during the reproductive life. In order to increase the survival of these follicles and reduce the risk of extinction of the species, the ovarian implantation has been widely studied. The main goal of this study was to establish the follicles consumption of the remaining and implanted ovaries in the subcutaneous in domestic cats after 120 days, by quantification and morphometric classification, and with respecting the preservation of the tissue organization. Thirteen female domestic cats (*Felis catus*) were used, distributed into two groups: G1 (cats 1 to 7, with left ovary as control and implant, and right ovary remaining), and G2 (cats 8 to 13, with right ovary as control and implant, and left ovary remaining). After unilateral ovariectomy, the ovary was sliced in three parts. The two extremities were implanted under the skin, and the middle section was used as control. Four months later, the implants and the remaining ovary were removed and observed under light microscopy. The implants were found in 38.4% of the cats, and the analysis showed a large number of primordial follicles (59.75%), primary follicles (40.25%), and conjunctive fibroplasia. The average size of the primary follicles was larger in the implanted ovary (36.10/mm²) than in the control ovary (12.11/mm²), and larger than in the remaining ovary (16.27/mm²). The remaining ovary showed regular appearance with follicles in all stages of development, with the average of the tertiary follicles (1.12/mm²) larger than the control (0.96/mm²). We conclude that subcutaneous auto-transplantation could be a good technique to guarantee reproductive life. In cats, however, further study is necessary to determine the best place and size of ovarian fragments to be implanted. A length of study longer than 120 days to analyze oocyte depletion would also be useful.

Keywords: Domestic cats, ovarian auto-transplantation, subcutaneous, oocyte depletion.

REFERÊNCIAS

- BANKS, W.J. Sistema Reprodutor feminino. In: _____. **Histologia veterinária aplicada**. São Paulo: Manole, 1992. p. 565-588.
- BOSCH, P.; HERNANDEZ-FONSECA, H.J.; MILLER, D.M.; WININGER, J.D.; MASSEY, J.B.; LAMB, S.V.; BRACKETT, B.G. Development of antral follicles in cryopreserved cat ovarian tissue transplanted to immunodeficient mice. **Theriogenology**, New York, NY, v.61, p. 581-594, 2004.
- BRISTOL, S.K.; WOODRUFF, T.K. Follicle-restricted compartmentalization of transforming growth factor β superfamily ligands in the feline ovary. **Biology Of Reproduction**, Champaign, US, v.70, p. 846-859, 2004.
- CALLEJO, J.; SALVADOR, C.; MIRALLES, A.; VILASECA, S.; LAILLA, J.M.; BALASCH, J. Long-term ovarian function evaluation after autografting by implantation with fresh and frozen-thawed human ovarian tissue. **Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism**, Baltimore, Md., US, v. 86, p. 4489-4494, 2001.
- CALLEJO, J.; VILASECA, S.; ORDI, J.; CABRE, S.; LAILLA, J.M.; BALASCH, J. Heterotopic ovarian transplantation without vascular pedicle in syngeneic Lewis rats: long-term evaluation of effects on ovarian structure and function. **Fertility And Sterility**, Birmingham, Ala., US, v. 77, n. 2, p. 396-402, 2002.
- CESCHIN, A.P.; BIONDO-SIMÕES, M.D.L.P.; THOMAZ, B.A.C.; TOTSUGUI, J. Indirect hormonal evaluation and study of the follicles preservation in the ovarian transplantation tissue in rats inguinal region. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, SP, v.19, n.1, p. 27-30, 2004.
- CHRISTIANSEN, I.J. Limitação da fertilidade na fêmea e no macho. In: **Reprodução no cão e gato**. São Paulo: Manole, 1988, p. 145-178.
- COOPER, J.E. Ethics and laboratory animals. **The Veterinary Record**, England, v.116, p. 594-595, 1985.
- CUNNINGHAM, J.G. 2004. In: _____. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3. ed., Guanabara-Koogan S.A., 2004, 454 p.
- DAVIES, N.L. Complications of ovarian autotransplantation in bitches. **Journal of the South African Veterinary Association**, Bryanston, Republic of South Africa, v.60, n.3, p.145, 1989.
- DAWSON, A.B.; FRIEDGOOD, H.B. The time and sequence of preovulatory changes in the cat ovary after mating or mechanical stimulation of the cervix uteri. **The Anatomical Record**, New York, US, v. 76, p. 411-429, 1940.
- DEPALO, R.; NAPPI, L.; LOVERRO, G.; BETTOCCHI, S.; CARUSO, M.L.; VALENTINI, A.M.; SELVAGGI, L. Evidence of apoptosis in human primordial and primary follicles. **Human Reproduction**, Oxford. Inglaterra, v. 18, n. 12, p. 2678-2682, 2003.
- DISSEN, G.A.; LARA, H.E.; FAHRENBACH, W.H.; COSTA, M.E.; OJEDA, S.R. Immature Rat Ovaries become Revascularized Rapidly after Autotransplantation and Show a Gonadotropin – Dependent Increase in Angiogenic Factor Gene Expression. **Endocrinology**, Baltimore, Md., v. 134, n. 3, p. 1146-1154, 1994.
- DONNEZ, J.; DOLMANS, M.M.; DEMYLLE, D.; JADOU, P.; PIRARD, C.; SQUIFFLET, J.; MARTINEZ-MADRID, B.; VAN LANGENDONCKT, A. Restoration of ovarian function after orthotopic (intraovarian and periovarian) transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a woman treated by bone marrow transplantation for sickle cell anaemia: case report. **Human Reproduction**, Oxford. Inglaterra, v. 21, n. 1, p. 183-188, 2004.
- EPPIG, J.J. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. **Reproduction**, Oxford. Inglaterra, v. 122, p. 829-838, 2001.
- GOLDENBERG, S. Aspectos éticos da pesquisa com animais. **Acta Cirúrgica Brasileira**, Sao Paulo, SP, v. 15, n. 4, 2000. Disponível em: <<http://www.scielo.br/>>. Acessado dia 20/06/06.
- KARJA, N.W.; OTOI, T.; MURAKAMI, M.; FAHRUDIN, M.; SUZUKI, T. In vitro maturation, fertilization and development of domestic cat oocytes recovered from ovaries collected at three stages of the reproductive cycle. **Theriogenology: An International Journal Of Animal Reproduction**, Stoneham, Mass., US, v. 57, n. 9, p. 2289-2298, 2002.
- KIRAN, G.; KIRAN, H.; COBAN, Y.K.; GUVEN, A.M.; YUKSEL, M. **Fresh autologous transplantation**

of ovarian cortical strips to the anterior abdominal wall at the Pfannenstiel incision site. **Fertility and Sterility**, Birmingham, Ala., US, v. 82, l. 4, p. 954-956, 2004.

LE ROUX, P.H.; VAN DER VALT, L.A. Ovarian autograft as an alternative to ovariectomy in female dogs. **Journal Of The American Animal Hospital Association**, Lakewood, Colo., US, v. 14, p. 418-419, 1978.

MARKSTRÖM, E.; SVENSSON, E.C.H.; SHAO, R.; SVANBERG, B.; BILLIG, H. Survival factors regulating ovarian apoptosis – dependence on follicle differentiation. **Reproduction**, Cambridge, Inglaterra, GB, v.123, n.1, p. 23-30, 2002.

MATERA, J.M.; BARNABE, V.H.; GAMBARINI, M.L.; GEURRA, J.L. Estudo experimental do enxerto autólogo de ovário em cadelas submetidas à ovariectomia e ovariosalpingohisterectomia. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, SP, v.13, p. 44-52, 1998.

MEDEIROS, S.F.; YAMAMOTO, M.M.W. Mecanismos do consumo folicular ovariano. **Reprodução & Climaterio**, Ribeirão Preto, SP, v. 13, n. 1, p. 18-27, 1998.

MIALOT, J.P. Métodos anti-reprodutivos. In: **Patologia da reprodução dos carnívoros domésticos**. Porto Alegre: A Hora Veterinária; 1988. p 28-33.

MICHALANY, J. In: _____. **Técnica histológica em anatomia patológica**. 1.ed. São Paulo: Ed. Pedagógica e Universitária, 1980. 277p.

MORITA, Y.; TILLY, J.L. Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass. **Developmental Biology**, San Diego, Calif., US., v. 1, n. 213 (1), p. 1-17, 1999.

NUGENT, D.; MEIROW, D.; BROOK, P.F.; AUBARD, Y.; GOSDEN, R.G. Transplantation in reproductive medicine: previous experience, present knowledge and future prospects. **Human Reproduction Update**, Oxford, Inglaterra, GB, v. 3, p. 267-280, 1997.

OKTAY, K.; BUYUK, E.; ROSENWAKS, Z.; RUCINSKI, J. A technique for transplantation of ovarian cortical strips to the forearm. **Fertility And Sterility**, Birmingham, Ala., US., v. 80, Issue 1, p. 193-198, 2003.

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 & Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p.117-123, 2004.

PONDERATO, N.; GRASSELLI, F.; SALERI, R.; TAMANINI, C. Factors Modulating Apoptosis: an in-vitro Study in Swine Granulosa Cells. **Reproduction In Domestic Animals**, Berlin, DE, v. 35, n. 5, p. 213-219, 2000.

SCHNORR, J.; OEHNINGER, S.; TONER, J.; HSIU, J.; LANZENDORF, S.; WILLIAMS, R.; HODGEN, G. **Functional studies of subcutaneous ovarian transplants in non-human primates: steroidogenesis, endometrial development, ovulation, menstrual patterns and gamete morphology**. **Human Reproduction**, Oxford, Inglaterra, GB, v. 17, p. 612-619, 2002.

SCHOSSLER, J.E.; RIOS M.V.; ILHA M.R.; LIMA S. Auto-transplantação de ovário na tela subcutânea em cães. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, SP, v. 14, n.1, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-86501999000100002>

SIEGEL S. In: _____. **Estatística não-paramétrica, para as ciências do comportamento**. Ed. McGraw-Hill do Brasil. São Paulo, 1975. 350p.

TELFER, E.; GOSDEN, R.G. A quantitative cytological study of polyovular follicles in mammalian ovaries with particular reference to the domestic bitch (*Canis familiaris*). **Journal Of Reproduction And Fertility**, Cambridge, Inglaterra, GB, v. 81:p. 1137-1147, 1987.

TORRENTS, E.; BOISO, I.; BARRI, P.N.; VEIGA, A. Applications of ovarian tissue transplantation in experimental biology and medicine. **Human Reproduction Update**, Oxford. Inglaterra, v. 9, n. 5, p. 471-481, 2003.

VON EYE, C. H.; CORLETA, O.; CAPP, E.; EDELWEISS, M.I. Subcutaneous autologous ovarian transplantation in Wistar rats maintains hormone secretion. **Fertility And Sterility**, Birmingham, Ala., US, v. 70, n. 1, p. 16-19, 1998.

WEISSMAN, A.; GOTLIEB, L.; COLGAN, T.; JURISICOVA, A.; GREENBLATT, E.M.; CASPER R.F. Preliminary experience with subcutaneous human

ovarian cortex transplantation in the NOD-SCID mouse. **Biology Of Reproduction**, Champaign, Ill., US, v. 60, n. 6, p. 1462-1467, 1999.

WILDT, D.E.; SCHIEWE, M.C.; SCHMIDT, P.M.; GOODROWE, K.L.; HOWARD, J.G.; PHILLIPS, L.G.; O'BREIN, S.J.; BUSH, M. Developing animal model systems for embryo technologies in the rare and endangered wildlife. **Theriogenology: An International Journal Of Animal Reproduction**, Stoneham, Mass., US, v. 25, p. 33-51, 1986.

WILSON, G.P.; HAYES Jr. Ovariohisterectomia em cães fêmeas e gatas. In: BOJRAB, MJ. **Cirurgia dos pequenos animais**. São Paulo: Roca; 1986; p 365-369.

WOOD, T.C.; MONTALI, R.J.; WILDT, D.E. Follicle-oocyte atresia and temporal taphonomy in cold-stored domestic cat ovaries. **Molecular Reproduction And Development**, New York, US, v. 46, p. 190-200, 1997.