

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA RECUPERAÇÃO ESPERMÁTICA APÓS CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES HUMANOS EM NITROGÊNIO LÍQUIDO, E VAPOR DE NITROGÊNIO LÍQUIDO



Correa DC, Borges, CG

CONCEPT – CENTRO DE REPRODUÇÃO HUMANA

WWW.CONCEPTREPRODUCAO.COM e-mail: regislaine@conceptreproducao.com

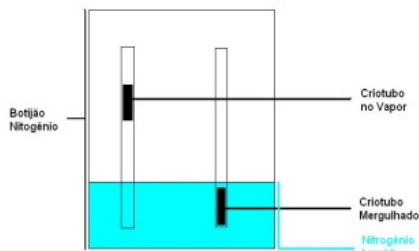
INTRODUÇÃO

A CRIOBIOLOGIA É O ESTUDO DAS TÉCNICAS DE CONGELAMENTO DE CÉLULAS E TECIDOS, O QUE POSSIBILITOU O DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO PRESERVANDO CÉLULAS PARA USO POSTERIOR (WOODS ET AL 2004). A MOTILIDADE PÓS CRIOPRESERVAÇÃO TENDE A CAIR CERCA DE 50% (CRITSER ET AL.,1988; HOLT WV, 2000), O QUE NÃO ACARRETA GRANDES PROBLEMAS, POIS COM O AVANÇO NO TRATAMENTO DA INFERTILIDADE CONJUGAL E COM AVANÇOS NAS TÉCNICAS, COMO A ICSI (INJEÇÃO INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZÓIDE), NA QUAL É NECESSÁRIO APENAS UM ESPERMATOZÓIDE PARA FECUNDAR O ÓVULO (PALERMO ET AL., 1992). A CÉLULA REDUZ SEU METABOLISMO COM A DIMINUIÇÃO DA TEMPERATURA, REDUZINDO PORTANTO SEUS GASTOS ENERGÉTICOS, DIMINUINDO TAMBÉM A PRODUÇÃO DE CATABÓLITOS TÓXICOS, O QUE CONTRIBUI PARA A PRESERVAÇÃO CELULAR EM BAIXAS TEMPERATURAS, POR OUTRO LADO PODE ACELERAR ALGUMAS REAÇÕES QUE PODEM SER LETAIS A CÉLULA (HOLT, 2000).

PARA PROTEGER ESSAS CÉLULAS E SUAS MEMBRANAS, DOS DANOS CAUSADOS PELO PROCESSO DE CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO É NECESSÁRIO O USO DE MATÉRIA ORGÂNICA PARA PROTEGER E REGULAR A ENTRADA E SAÍDA DE SUBSTÂNCIAS NA CÉLULA ESPERMÁTICA. ESTAS SUBSTÂNCIAS SÃO OS CRIOPROTETORES E SÃO CLASSIFICADOS COMO INTRACELULAR E EXTRACELULAR. OS EXTRACELULARES SÃO MACROMOLÉCULAS COMO OS LÍPÍDEOS. GERALMENTE A INDÚSTRIA USA GEMA DE OVO COMO CRIOPROTETOR, POR TER UMA COMPOSIÇÃO SEMELHANTE À DA MEMBRANA CELULAR, A FIM DE DIMINUIR DANOS NA MEMBRANA DAS CÉLULAS EM TEMPERATURAS ABAIXO DE 15°C (WESTENDORF ET AL., 1975).

OBJETIVO

COMPARAR DOIS MÉTODOS DE CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES, EM VAPOR DE NITROGÊNIO LÍQUIDO E MERGULHADO NO NITROGÊNIO LÍQUIDO (FIGURA 1), AVALIANDO 3 VARIÁVEIS: A CONCENTRAÇÃO FINAL, A MOTILIDADE FINAL E O NÚMERO TOTAL DE ESPERMATOZÓIDES.



MATERIAL E MÉTODO

FORAM AVALIADAS 49 AMOSTRAS DE SÊMEN COLHIDAS ATRAVÉS DE MASTURBAÇÃO. FOI FEITA ANÁLISE MACROSCÓPICA QUANTO A VOLUME, COR, VISCOSIDADE E LIQUEFAÇÃO, E ANÁLISE MICROSCÓPICA DE CONCENTRAÇÃO E MOTILIDADE. O CRIOPROTETOR ESCOLHIDO FOI O TYB (TEST-YOLK BUFFER, IRVINE). A CRIOPRESERVAÇÃO FOI REALIZADA APÓS COMPLETA DILUIÇÃO DA AMOSTRA COM O CRIOPROTETOR GOT-A-GOTA NA PROPORÇÃO DE 1:1. APÓS ESTA HOMOGENEIZAÇÃO OS CRIOTUBOS FORAM ACONDICIONADOS EM VAPOR DE NITROGÊNIO LÍQUIDO POR 20 MINUTOS E, LOGO APÓS ESSE PERÍODO UM DOS CRIOTUBOS MERGULHADO EM NITROGÊNIO LÍQUIDO E O OUTRO MANTIDO NO VAPOR DE NITROGÊNIO POR UM PERÍODO DE 24 HORAS. AS AMOSTRAS FORAM DESCONGELADAS COM 5 MINUTOS EM TEMPERATURA AMBIENTE E 20 MINUTOS EM PLACA AQUECEDORA A 37°C, E ANALISADAS EM MICROSCÓPIO QUANTO A CONCENTRAÇÃO E MOTILIDADE.

RESULTADOS

Variáveis	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	P-valor
Concentração (x10 ⁶ /ml) (líquido)	49	41,26	37,54	3	142	0,056
Concentração (x10 ⁶ /ml) (vapor)	49	40,66	37,39	1	140	
Motilidade final (%) (líquido)	49	48,25	17,20	25	86	0,683
Motilidade final (%) (vapor)	49	47,05	17,26	20	80	
Nº total móveis (x10 ⁶) (líquido)	49	21,56	23,38	1,5	115,02	0,073
Nº total móveis (x10 ⁶) (vapor)	49	20,94	23,13	0,61	107,8	

CONCLUSÃO

A CRIOPRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES EM VAPOR DE NITROGÊNIO LÍQUIDO É IGUALMENTE EFICAZ SE COMPARADA A CRIOPRESERVAÇÃO PELO MÉTODO CONVENCIONAL MERGULHADO EM NITROGÊNIO LÍQUIDO, A RECUPERAÇÃO DO NÚMERO DE ESPERMATOZÓIDES QUANTO A MOTILIDADE DESTES ESPERMATOZÓIDES NÃO FOI ALTERADA QUANDO COMPARADOS OS DADOS PELOS DOIS MÉTODOS.