

## **TRANSPLANTES GONADAIS: ESTADO DA ARTE**

(Gonadal transplantation: state of the art)

**Marcelo Barbosa BEZERRA<sup>1\*</sup>, Nayara Almeida do CARMO<sup>2</sup>, Michelly Fernandes de MACEDO<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido

<sup>2</sup>Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido

<sup>3</sup>Bolsista Programa Nacional de Pós-Doutoramento/ UFRSA

\*Email: mbezerra@ufersa.edu.br

### **RESUMO**

As técnicas de transplante para finalidades reprodutivas estão sendo utilizadas com destaque devido ao potencial aproveitamento de gônadas para o fornecimento de gametas. Desse modo, o aperfeiçoamento destas tecnologias é de interesse econômico, ecológico e até mesmo para o estudo de fisiologia reprodutiva. Em geral, os transplantes podem ser considerados em função do local em que a gônada será depositada e a relação doador-receptor em autotransplante (quando doador e receptor são o mesmo indivíduo), isotransplante (quando doador e receptor são geneticamente idênticos), alotransplante (entre indivíduos de mesma espécie e compatíveis) ou o xenotransplante (entre indivíduos de espécies diferentes). A escolha de um doador e receptor obedece ao objetivo e a aplicação desejada. No caso de gônadas, em qualquer que seja situação o objetivo principal é a manutenção da atividade endócrina e exócrina da gônada envolvida, ou seja, para a produção de hormônios e de gametas. Verifica-se que o autotransplante é uma técnica bastante usual para o aproveitamento de ovários, que as técnicas de isotransplante e alotransplante necessitam de maiores estudos em animais domésticos como modelos experimentais e que o xenotransplante vem desempenhando crescente interesse da comunidade científica com produção de crias viáveis tanto

derivadas de ovários quanto de testículos, sendo necessária a realização de mais estudos no país.

Palavras-chave: Transplante, gônadas, ovário, testículo

### **ABSTRACT**

Transplantation techniques for breeding purposes are especially used due the potential of the gonads to provide gametes. Thus, the improvement of these technologies is of interest to economic, ecological and even for the study of reproductive physiology. In general, the transplantation can be defined depending on the site where the gonad will be grafted and in donor-recipient relationship as: autotransplantation (when donor and recipient are the same individual), isotransplantation (between donor and recipient genetically identical), allotransplantation (between individuals of the same species and compatible) or xenotransplantation (between individuals of different species). The choice of a donor and recipient is depending of purpose and desired application. In the case of the gonads, in whatever situation the main objective is the maintenance of exocrine and endocrine activity of the gonad, ie for the production of hormones and gametes. We verified that the autotransplantation technique is quite usual for the use of ovaries, the isotransplantation and allotransplantation techniques needs for further studies in domestic animals such as experimental models and the xenotransplantation plays a increasing interest in the scientific community to produce viable offspring derived from both ovaries and testicles, and more studies should be conducted in the country.

Keywords: Transplantation, gonads, ovary, testis

### **INTRODUÇÃO**

A utilização de técnicas de transplante para finalidades reprodutivas vem recebendo destaque da comunidade científica em função do aproveitamento potencial de gônadas em fornecer gametas de interesse de doadores com potencial econômico, ecológico ou ainda para fins científicos. Os transplantes podem ser geralmente classificados em função do local em que a gônada será depositada e de acordo com a relação doador-receptor. No que refere ao local de transplante, estes podem ser

definidos como ortotópicos (próximos à posição anatômica original) e heterotópicos (distantes da posição anatômica original); enquanto que, a interação entre doador e receptor pode ser classificada em: autotransplante (quando doador e receptor são o mesmo indivíduo), isotransplante (quando doador e receptor são geneticamente idênticos, ex.: gêmeos monozigóticos ou até mesmo clones), alotransplante (entre indivíduos de mesma espécie e compatíveis) ou xenotransplante (entre indivíduos de espécies diferentes) (Krohn, 1977). Na última década, uma nova modalidade de xenotransplante alterou a perspectiva de utilização de material genético apenas dentro da classe dos mamíferos, o cultivo *in ovo* de ovários de mamíferos para ovos embrionados de aves (Cushman et al., 2002), esse tipo de cultivo pode ser denominado como xenotransplante interclasse.

Na presente revisão serão abordadas as principais técnicas de transplantes de ovários e testículos em animais domésticos e humanos e como as mesmas situam-se no contexto nacional e internacional.

### **Aplicações dos transplantes gonadais**

Do ponto de vista prático, a escolha de um doador e seu receptor se dará em função do objetivo e da aplicação desejada. Em qualquer que seja a situação, o principal objetivo é a manutenção da atividade endócrina e exócrina da gônada envolvida, ou seja, pela produção de hormônios e gametas. Quando o objetivo é reestabelecer a função da gônada após processos deletérios à mesma e ao paciente envolvido, o autotransplante é, para estes indivíduos, um grande aliado na manutenção da atividade reprodutiva e no reestabelecimento da função endócrina. O isotransplante e o alotransplante diferenciam-se quanto aos objetivos mencionados pela possibilidade de manutenção da atividade gonadal mesmo após a morte do indivíduo doador, distinguindo-se uma técnica da outra pelo menor grau de rejeição tecidual esperado para o isotransplante. O xenotransplante é normalmente realizado em receptores murinos, *knockouts* para genes relacionados à defesa imunomediada. Uma vez que mamíferos maiores teriam um maior custo de manutenção e sua imunossupressão seria mais dificultosa, os murinos tornam-se animais de eleição para os procedimentos deste tipo de transplante.

## **Autotransplante**

Os autotransplantes ovarianos são, em geral, utilizados para beneficiar a saúde reprodutiva da fêmea ou mulher envolvida no processo restaurando sua atividade endócrina e fertilidade. Em cadelas, partindo-se do fato que folículos ovarianos localizam-se abaixo da superfície ovariana e do pressuposto que o ovário transplantado ao tecido subcutâneo facilitaria a manutenção, acompanhamento e colheita oocitária para posterior PIV, realizou-se um estudo recentemente que resultou na manutenção de parte dos folículos pré-antrais transplantados, porém não houve desenvolvimento folicular ao estágio antral (Terazono et al., 2012). Os autotransplantes são úteis ainda como modelos de investigação do desenvolvimento folicular a partir dos estádios primordiais (Campbell et al., 2000). Em marrãs, o autotransplante ovariano resultou numa sincronização dos folículos primordiais, simultaneamente a retomada da ciclicidade ovariana em 3-6 meses (Hunter et al. 2004).

Em ruminantes, os ovinos deram a primeira contribuição do potencial do autotransplante seguido de nascimento (Gosden et al., 1994a) e mais de uma dezena de estudos foram realizados com esta espécie e fornecem ainda hoje base para estudos médicos, sendo que até o momento já foram computados 17 nascimentos por autotransplante (Gosden et al., 1994a; Baird et al., 1999, Salle et al., 2002; Almodin et al., 2004; Imhof et al., 2006) sendo três destes nascimentos ocorridos no Brasil (Almodin et al., 2004). Resultados com autotransplante em cabras demonstraram comportamento de estro após o transplante para perímetro aos 72 dias de transplante (Santos et al., 2009). No país, os presentes autores verificaram uma resposta comportamental aos 62 dias após o autotransplante a fresco com manifestação clara de cio a partir dos 122 dias (Carmo et al., 2011).

Em primatas um estudo recente em macacas demonstrou a retomada da função hormonal e do ciclo menstrual e fornecimento de oócitos aptos à fecundação in vitro que resultaram em cinco embriões (Igarashi et al. 2010). Em humanos, o primeiro nascimento atribuído ao autotransplante ocorreu em 2004 (Donnez et al., 2004) e até o fim de 2011, treze nascimentos foram contabilizados a partir dessa técnica em países da Europa, Oriente Médio e América do Norte (Donnez et al., 2011) sendo que até o momento não há relatos de nascimento na América do Sul.

O autotransplante testicular é uma técnica com aplicações mais limitadas quando comparado ao ovário, isto se deve ao fato de que a estrutura testicular e suas células da linhagem germinativa são mais sensíveis aos processos isquêmicos ocasionados pela técnica. Os túbulos seminíferos podem sofrer ablação e os espermatozoides presumíveis seriam alojados em seu interior sem que pudessem ser transportados, precisando também de auxílio de técnicas adicionais como a injeção intracitoplasmática (ICSI) para que haja a fecundação (Nakai et al., 2010). Outro fator a ser considerado é que as células de Sertoli e Leydig existentes em amostras de tecidos autotransplantados não fornecem hormônios em concentrações suficientes para uma reposição hormonal masculina.

### **Isotransplante**

Os estudos com isotransplante de ovários e testículos são escassos em animais domésticos, resumindo-se a animais de laboratório. Sua aplicação potencial não deve ser relegada, haja vista a produção crescente de clones e possibilidade de aplicação em gêmeos monozigóticos. Em humanos, uma equipe da Universidade de Cornell, Nova Iorque, vem se especializando em atender casos de irmãs gêmeas em que uma delas apresenta falência ovariana prematura. Para sanar tal problema, os isotransplantes foram realizados em seis mulheres que receberam, ortotopicamente em substituição ao córtex afuncional, córtex ovariano funcional de suas respectivas irmãs monozigóticas. A maioria das mulheres apresentou retomada da função endócrina com seis gestações em estado avançado ou nascimentos, tendo uma delas dado à luz a dois filhos (Silber et al., 2008).

### **Alotransplante**

A utilização de alotransplantes em animais está basicamente restrita a animais de laboratório. Em humanos, um alotransplante de ovário bem sucedido ocorreu recentemente para promover a retomada da produção hormonal e fertilidade de uma mulher jovem que havia passado por um processo quimioterápico na sua adolescência

tendo uma irmã como doadora de medula óssea e 17 anos depois como doadora de ovário, resultando em nascimento (Donnez et al., 2011).

## **Xenotransplante**

### *Xenotransplante intraclasse*

Nos moldes modernos, ou seja, com a utilização de linhagens de camundongos imunodeficientes, o primeiro xenotransplante de ovários ocorreu em ovelhas (Gosden et al., 1994b). Este pioneirismo derrubou o paradigma do transplante entre espécies ser mal sucedido e desencadeou uma série de estudos em animais e humanos.

Um dos principais objetivos para a utilização do xenotransplante em animais é a recuperação da atividade gonadal em espécies ou raças que estejam em perigo de extinção. Em fêmeas, por exemplo, o xenotransplante ovariano permite a observação da interação entre espécies que, apesar de serem por vezes distantes filogeneticamente, promovem o desenvolvimento folicular como foram os casos de xenotransplantes em elefantas (Gunasena et al., 1998), macacas (Candy et al., 1995) e do wombat, um marsupial australiano (Wolvekamp et al., 2001). Apesar de, nestes casos, não desenvolverem oócitos fertilizáveis por não apresentarem a competência meiótica necessária, o desenvolvimento folicular por si só gera uma série de informações importantes para a foliculogênese.

Estudos com xenotransplante em cadelas, à semelhança do já descrito para os autotransplantes não promoveram o desenvolvimento folicular rumo ao estágio antral (Metcalf et al., 2001). Num primeiro estudo com xenotransplante de ovários bovinos no país, os autores demonstraram que córtices ovarianos de fetos reagem bem ao transplante e desenvolvem seus folículos ovarianos com ativação folicular considerável a partir do 30<sup>o</sup> dia após o transplante (Bezerra, 2010).

O xenotransplante de tecido testicular surgiu como alternativa ao método de transplante de célula germinativa e teve seu primeiro resultado bem sucedido em 2002 (Honaramooz et al., 2002). Baseado nesses princípios procedeu-se o xenotransplante de tecido testicular de cabritos de quatro semanas de idade para camundongos NUDE, o que resultou no desenvolvimento das células germinativas e obtenção de espermatozóides nessa espécie (Honaramooz et al., 2002). Este estudo demonstrou que

tecidos testiculares, contendo todas as células importantes para a espermatogênese e produção hormonal, podem ser transplantados para outra espécie com manutenção das funções gametogênica e endócrina, alta concentração de espermatozoides e fertilidade após a técnica de injeção intracitoplasmática (ICSI). O transplante de tecido testicular para murinos imunodeficientes já resultou em diferenciação e produção de espermatozoides de vários mamíferos como suínos e caprinos (Honaramooz et al., 2002), hamsters (Schlatt et al., 2002), coelhos (Shinohara et al., 2002), bovinos (Oatley et al., 2005), primatas (Honaramooz et al., 2004), felinos (Snedaker et al., 2004) e equinos (Rathi et al., 2006). Um dos estudos mais recentes com xenotransplante em equinos demonstrou que essa técnica permitiria não apenas a manutenção da espermatogênese, mas também a utilização dessa técnica para a compreensão da patofisiologia do criptorquidismo e degeneração testicular, por exemplo (Turner et al., 2010).

Os resultados mais expressivos com o xenotransplante são referentes ao nascimento de coelhos (Shinohara et al., 2002) e seis leitões normais (Nakai et al., 2010) a partir de espermatozoides derivados de tecidos testiculares xenotransplantados, demonstrando pela primeira vez um nascimento em mamíferos a partir dessa técnica.

#### *Xenotransplante interclasse: Cultivo in ovo*

Como mencionado anteriormente, o xenotransplante assumiu uma nova perspectiva com o cultivo *in ovo* de tecidos ovarianos, que utiliza a membrana corioalantóide (MCA). Este tipo de transplante, que também é considerado um cultivo *in vivo*, é um modelo experimental que vem sendo utilizado como sítio para cultivo de diversos tecidos tais como pele (Kunzi et al, 1999), fígado (Kato et al., 2001), para a regeneração de músculo esquelético (Nakada et al., 1998), para pesquisas em cirurgia de retina (Leng et al., 2004) e para avaliar o tipo de resposta tecidual a biomateriais (Valdes et al., 2002; Borges et al., 2004).

Além disso, a MCA fornece um excelente modelo para investigar o papel de um amplo espectro de substâncias, tais como fatores antiangiogênicos (Nap et al, 2005) agentes antioxidantes protetores, citocinas, e crescimento de hormônios relacionados a reprodução (Gagliardi & Collins, 1993; Yue et al., 1997).

O modelo proposto por Cushman et al., 2002 apresenta algumas vantagens quando comparada a outros métodos de cultivo *in vivo* como o baixo custo de

implantação da técnica, dispensa da utilização de animais imunodeficientes, simplicidade na manipulação e por fim, possibilidade do cultivo em larga escala (Martinez-Madrid et al., 2009). Acredita-se que a nutrição para o tecido transplantado seja feita através de numerosos vasos formados na camada mesodérmica (Chiba et al. 2010) e que uma espécie de bolsa formada ao redor do transplante sirva como um microambiente semelhante a *bursa ovarica* (Smitz et al., 2010).

Baseados na hipótese de que o cultivo *in ovo* poderia suportar a ativação dos folículos primordiais e o crescimento dos folículos ativados para o estágio secundário, fragmentos corticais ovarianos de bovino foram transplantados para baixo da membrana corioalantóide em embriões de galinha com seis dias de idade. Seus resultados mostraram que a ativação não ocorreu somente com cultivo *in ovo*, mas quando os tecidos foram encaminhados posteriormente ao cultivo *in vitro*, os folículos ativaram-se (Cushman et al., 2002). A mesma técnica foi utilizada para o estudo da evidência do papel do hormônio anti-mulleriano (AMH) na supressão da ativação folicular em ovários de ratos e córtex ovariano bovino transplantados abaixo da MCA, resultando em fortes evidências que o AMH proveniente da circulação do embrião nos transplantes abaixo da MCA possa interferir na ativação folicular das espécies propostas (Gigli et al. 2005). Qureshi et al., (2008) investigaram os efeitos da testosterona sobre a foliculogênese utilizando para isso amostras de córtex ovariano de cordeiros, como resultado do trabalho chegou-se a conclusão que a incubação de córtex ovariano com testosterona produz as alterações nos estádios iniciais da foliculogênese reduzindo o número de folículos atresícos, e que o FSH alterou a proporção de folículos primários. Desse modo, os resultados obtidos neste estudo reproduziram os achados em estudos histológicos com ovário policístico.

Posteriormente, outras espécies foram utilizadas para a análise do desenvolvimento do tecido ovariano em galinhas de diferentes idades (Yuan et al., 2009) e ainda Martinez-Madrid et al. (2009) desenvolveram um modelo de estudo a curto prazo com a membrana corioalantóide (MCA), transplantando tecido ovariano humano criopreservado, evidenciando as várias possibilidades de utilização da técnica.



## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Na presente abordagem foram contextualizadas as técnicas de transplante envolvidas e seus principais resultados. Verifica-se que o autotransplante é uma técnica bastante usual para o aproveitamento de ovários com forte aplicação em animais como modelos experimentais e humanos, que as técnicas de isotransplante e alotransplante necessitam de maiores estudos em animais domésticos como modelos experimentais e que o xenotransplante intraclasse vem desempenhando crescente interesse da comunidade científica com produção de crias viáveis tanto derivadas de ovários quanto de testículos. Considerando-se ainda que, assim como os tipos de transplante citados, novas técnicas como o xenotransplante interclasse ou cultivo *in ovo* estão em desenvolvimento e deverão requerer mais estudos realizados, sobretudo no Brasil.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALMODIN, C.G.; MINGUETTI-CAMARA, V.C.; MEISTER, H.; CESCHIN, A.P.; KRIGER, E.; FERREIRA, J.O. Recovery of natural fertility after grafting of cryopreserved germinative tissue in ewes subjected to radiotherapy. *Fertility and Sterility*, n. 81, v.1 p.160–164, 2004.
- 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* 140(1): 462-71, 1999.
- BEZERRA, M.B. Folículos ovarianos pré-antrais bovinos: cultivo *in vitro* e xenotransplante. Jaboticabal, 2010. 63 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- BORGES, J.; TEGTMEIER, F.T.; TORIO-PADRON, N.; MUELLER, M.C.; STARK, G.B. Angiogenesis investigations in tissue engineering. The cylinder model on the chorioallantoic membrane. *Chirurgia* v.75 p.284–90. 2004;
- 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, n.1, p.131–139, 2000.

CANDY, C.J.; WOOD, M.J.; WHITTINGHAM, D.G. Follicular development *in* cryopreserved marmoset ovarian tissue after xenotransplantation. *Human Reproduction*, v.10, n.9, p.2334–2338, 1995.

CARMO, N. A.; MARCONDES, S.A.; SANTOS, F.A.; MOURA, G.H.F.; NUNES, T.L.; PAULA, V. V.; BARRÊTO JÚNIOR, R.A.; MACEDO, M. F.; BEZERRA, M.B. Effects of ovarian ortotopic autotransplantation in reproductive behavior in goats (*capra.hircus*) In: 25th Annual Meeting SBTE, Fortaleza-Ceará. *Acta Scientiae Veterinariae*. Porto Alegre : UFRGS, 2011. v. 39. p. 362-362, 2011.

CHIBA, A.; YUI, C.; HIRANO, S. Liver reconstruction on the chorioallantoic membrane of the chick embryo *Archives of Histology and Cytology* v. 73 n. 1, p.45-53, 2010.

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, n. 1, pp. 48-54, 2002.

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. *Lancet* 364, 1405–1410. 2004.

DONNEZ, J.; SQUIFFLET, J.; PIRARD, C.; DEMYLLE, D.; DELBAERE, D.; ARMENIO, L.; ENGLERT, Y.; CHERON, A.; JADOUL, P.; DOLMANS, M.M. Live birth after allografting of ovarian cortex between genetically non-identical sisters. *Human Reproduction* v.26 n.6: p.1384-1388, 2011.

GAGLIARDI, A.; COLLINS, D.C. Inhibition of angiogenesis by antiestrogens. *Cancer Research*; v. 5 p.553:533. 1993.

GIGLI, I.; CUSHMAN, R.A; WAHL, C.M; FORTUNE, J.E. Evidence for a Role for Anti-Mullerian Hormone in the Suppression of Follicle Activation in Mouse Ovaries and Bovine Ovarian Cortex Grafted Beneath the Chick Chorioallantoic Membrane. *Mol. Reprod. Dev.* v..71, p. 480–488, 2005.

GOSDEN, R.G.; BAIRD, D.T.; WADE, J.C.; WEBB, R. Restoration of fertility to oophorectomised sheep by ovarian autografts stored at - 196°C. *Human Reproduction*, v.9, n.1, p.597–603, 1994a.

GOSDEN, R. G.; BOULTON, M.I.; GRANT, K.; WEBB, R. Follicular development

from ovarian xenografts in SCID mice. *Journal Reproduction and Fertility* v.101, n.3 p. 619-23, 1994b.

GUNASENA, K.T.; LAKEY, J.R.T.; VILLINES, P.M.; BUSH, M.; RAATH, C.; CRITSER, E.S. Antral follicles develop in xenografted cryopreserved African elephant (*Loxodonta africana*) ovarian tissue. *Animal Reproduction Science*, v.53, n.1, p.265–75, 1998.

HONARAMOOZ, A.; SNEDAKER, A.; BOIANI, M.; SCHOLER, H.; DOBRINSKI, I.; SCHLATT, S. Sperm from neonatal mammalian testes grafted in mice. *Nature*, v.418, p.778-781, 2002.

HONARAMOOZ, A.; LI, M.; PENEDO, C.T.; MEYERS, S.; DOBRINSKI, I. Accelerated maturation of primate testis by xenografting into mice. *Biology of Reproduction*, v. 70 p.1500–1503, 2004.

HUNTER, M.G.; HUDSONB, N.; MITCHELL, A. M.; WALKER, R.M.; WEBBA, R. Resumption of follicle growth in gilts after ovarian autografting. *Animal Reproduction Science*, v 80, p. 317–328, 2004.

IGARASHI, S.; SUZUKI, N.; HASHIMOTO, S.; TAKAE, S.; TAKENOSHITA, M.; HOSOI, Y.; MORIMOTO, Y.; ISHIZUKA, B. Heterotopic autotransplantation of ovarian cortex in cynomolgus monkeys. *Human Cell*, v.23, p. 26–34. 2010.

IMHOF, M. H.; BERGMEISTER, H.; LIPOVAC, M.; RUDAS, M.; HOFSTETTER, G.; HUBER, J. Orthotopic microvascular reanastomosis of whole cryopreserved ovine ovaries resulting in pregnancy and live birth. *Fertility and Sterility*, v.85, n.1, p. 1208-15, 2006.

KATOH, M.; NAKADA, K.; MIYAZAKI, J. Liver regeneration on chicken chorioallantoic membrane. *Cells Tissues Organs*; v.169 p.125–33. 2001.

KROHN, P.L. Transplantation of the ovary. In: ZUCKERMAN, L.; WEIR, B.J. *The ovary*, 2<sup>a</sup> ed., v.2, Academic Press, New York, p. 101-128, 1977.

KUNZI-RAPP, K.; REUCK, A.; KAUFMANN, R. Characterization of the chick chorioallantoic membrane model as a short-term in vivo system for human skin. *Archives of Dermatological Research*, v. 5 p. 291:290.1999.

LENG, T.; MILLER, J.M.; BILBAO, K.V.; PALANKER, D.V.; HUIE, P.; BLUMENKRANZ, M.S. The chick chorioallantoic membrane as a model tissue for surgical retinal research and simulation. *Retina*; v.24 p.427–34. 2004.

- MARTINEZ-MADRID, B.; DONNEZ, J.; EYCK, A.V.; VEIGA-LOPEZ, A.; DOLMANS, M.; LANGENDONCKT, A.V. Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) model: a useful tool to study short-term transplantation of cryopreserved human ovarian tissue *Fertility and Sterility*, Vol. 91, No. 1, 2009.
- METCALFE, S.S.; SHAW, J.M.; GUNN, I.M. Xenografting of canine ovarian tissue to ovariectomized severe combined immunodeficient (SCID) mice. *Journal Reproduction and Fertility* v.57 p.323–329, 2001.
- NAKADA, K.; YAO, Y.; MASHIMA, J.; KATOH, M.; MIYAZAKI, J.; HIRABAYASHI, T. Skeletal muscle regeneration induced by chorio-allantoic grafting. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* -,19:169–77. 1998.
- NAKAI, M.; KANEKO, H.; SOMFAI, T.; MAEDOMARI, N.; OZAWA, M.; NOGUCHI, J.; ITO, J.; KASHIWAZAKI, N.; KIKUCHI, K. Production of viable piglets for the first time using sperm derived from ectopic testicular xenografts *Reproduction* v..139, p. 331-335, 2010.
- NAP, A.W.; DUNSELMAN, G.A.; GRIFFIOEN, A.W.; MAYO, K.H.; EVERS, J.L.; GROOTHUIS, P.G. Angiostatic agents prevent the development of endometriosis- like lesions in the chicken chorioallantoic membrane. *Fertility Sterility* ;83:793–5, 2005.
- OATLEY, J.M.; DE AVILA, D.M.; REEVES, J.J.; MCLEAN, D.J. Spermatogenesis and germ cell transgene expression in xenografted bovine testicular tissue. *Biology of Reproduction* 71 494–501. 2004.
- QURESHI, A. I.; NUSSEY, S.S.; BANO, G.; MUSONDA, P.; WHITEHEAD, S.A.; MASON, H.D. Testosterone selectively increases primary follicles in ovarian cortex grafted onto embryonic chick membranes: relevance to polycystic ovaries. *Reproduction* v.136, n.2, p. 187-94, 2008.
- RATHI, R.; HONARAMOOZ, A.; ZENG, W.; TURNER, R.; DOBRINSKI, I. Germ cell development in equine testis tissue xenografted into mice *Reproduction* v.131, p. 1091-1098, 2006.
- 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, n.2, p.403-408, 2002.
- SANTOS, R.R.; KNIJN, H.M.; VOS, PLAM; OEI, CHY; VAN, L.T.; COLENBRANDER, B.; GADELLA, B.M.; VAN DEN HURK, R.; ROELEN, B.A.J.

Complete follicular development and recovery of ovarian function of frozen-thawed, autotransplanted caprine ovarian cortex. *Fertility and Sterility*, v.91, p. 1455–1458, 2009.

SCHLATT, S.; KIM, S.S.; GOSDEN, R. Spermatogenesis and steroidogenesis in mouse, hamster and monkey testicular tissue after cryopreservation and heterotopic grafting to castrated hosts *Reproduction*, v.124, p. 339–346, 2002.

SILBER, S.J.; DEROSA, M.; PINEDA, J.; LENAHAN, K.; GREINIA, D.; GORMAN, K.; GOSDEN, R.G. A series of monozygotic twins discordant for ovarian failure: ovary transplantation (cortical versus microvascular) and cryopreservation *Human Reproduction* v.23, No.7 pp. 1531–1537, 2008.

SMITZ, J.; DOLMANS, M.M.; DONNEZ, J.; FORTUNE, J.E.; HOVATTA, JEWGENOW, O.K.; PICTON, H.M.; PLANCHA, C.; SHEA, L.D.; STOUFFER, R.L.; TELFER, E.E.; WOODRUFF, T.K.; ZELINSKI, M.B. Current achievements and future research directions in ovarian tissue culture, in vitro follicle development and transplantation: implications for fertility preservation *Human Reproduction Update*, Vol.16, No.4 pp. 395–414, 2010.

SHINOHARA, T., INOUE, K., Ogonuki, N., KANATSU-SHINOHARA, M., MIKI, H., NAKATA, K., KUROME, M., NAGASHIMA, H., TOYOKUNI, S., KOGISHI, K., HONJO, T., OGURA, A. Birth of offspring following transplantation of cryopreserved immature testicular pieces and in-vitro microinsemination. *Human Reproduction* v. 17, n. 12, p. 3039-3045, 2002.

SNEDAKER, A.K.; HONARAMOOZ, A.; DOBRINSKI, I. A game of cat and mouse: xenografting of testis tissue from domestic kittens results in complete cat spermatogenesis in a mouse host. *Journal of Andrology* v.25, p. 926–930, 2004.

TERAZONO, T.; INOUE, M.; KAEDEI, Y.; TANIHARA, F.; NAMULA, Z.; VIET, V.L.; TAURA, Y.; TAKAGI, M.; TAKUMA, T.; OTOI, T. Assessment of canine ovaries autografted to various body sites *Theriogenology* v. 77, n. 1, p. 131-138, 2012.

*The Ovary*, v.2, p.101-128, Academic Press, New York and London, 1977.

TURNER, R. M.; RATHIA, R.; HONARAMOOZA, A.; ZENGA, W. DOBRINSKIA, I. Xenografting restores spermatogenesis to cryptorchid testicular tissue but does not rescue the phenotype of idiopathic testicular degeneration in the horse (*Equus caballus*) *Reproduction, Fertility and Development* v.22, p.673–683, 2010.

VALDES, T.I.; KREUTZER, D.; MOUSSY, F.; The chick chorioallantoic membrane as a novel in vivo model for the testing of biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research* v. 62 p. 273–82. 2002.

WOLVEKAMP, M.C.; CLEARY, M.L.; COX, S.L.; SHAW, J.M.; JENKIN, G.; TROUNSON, A.O. Follicular development *in* cryopreserved common Wombat ovarian tissue xenografted to nude rats. *Animal Reproduction Science*, v.65, n.1, p.135-147, 2001.

YUAN, J. H.; GAO, J. S; ZHAN, Z. F.; LIU, H. W; JIN, W. J.; LI, Z. D. Development-promoting effect of chicken embryo membrane on chicken ovarian cortical pieces of different age *Poultry Science* 88 :2415–2421, 2009.

YUE, T.L.; WANG, X.; LOUDEN, C.S.; GUPTA, S.; PILLARISETTI, K.; GU, J.L. 2-Methoxyestradiol, an endogenous estrogen metabolite, induces apoptosis in endothelial cells and inhibits angiogenesis: possible role for stress-activated protein kinase signaling pathway and Fas expression. *Molecular Pharmacology* v.51 p.951–62. 1997.