



## Xenotransplante de tecidos ovários em animais: Limitações, técnicas e inovações. Uma Revisão

*Ovarian tissue xenografting in animals: Limitations, techniques and innovations. A Review*

Muriel Magda Lustosa Pimentel<sup>1,3\*</sup>, Fernanda Araújo dos Santos<sup>1,3</sup>, Gleidson Benevides de Oliveira<sup>1</sup>, Michelly Fernandes de Macedo<sup>2,3</sup>, Marcelo Barbosa Bezerra<sup>2,3</sup>

<sup>\*(1)</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – UFERSA. \*E-mail para correspondência: [murielpimentel@yahoo.com.br](mailto:murielpimentel@yahoo.com.br)

<sup>(2)</sup> Professor (a) Dr. (a) do Departamento de Ciências Animais – UFERSA.

<sup>(3)</sup> Laboratório de Transplantes Gonadais e Produção *In vitro* de Embriões – UFERSA.

**RESUMO:** Xenotransplante consiste em transplantar órgãos, tecidos e/ou células de animais, geneticamente modificados ou não, entre espécies diferentes. O xenotransplante ovariano é utilizado como método de coleta e maturação dos folículos e seus oócitos, e para tanto é necessário ainda aprimoramento de algumas técnicas. Este artigo de revisão tem como objetivo, abordar aspectos fisiológicos foliculares e registrar o aperfeiçoamento da técnica e de que forma os pesquisadores vêm conduzindo seus estudos nos últimos anos em xenotransplante ovariano animal.

**Palavras-chave** - folículos; oócitos; ovário; transplante

**ABSTRACT:** Xenotransplantation means transplantation of organs, tissues and / or cells of animals, genetically modified or not, between different species. The ovarian xenotransplantation is used as a method of collecting and maturation of follicles and their oocytes, however improving certain techniques is still necessary. The aims of this review article are the physiological aspects of the follicular approach and to record the development of the technique and how researchers have conducted their studies in recent years in animal ovarian xenotransplantation.

**Key words** - follicles; oocytes; ovary; transplantation

---

Autor para correspondência: E-mail \* [murielpimentel@yahoo.com.br](mailto:murielpimentel@yahoo.com.br)

Recebido em 03/06/2015; Aceito em 17/09/2015

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20150052>

## INTRODUÇÃO

O conceito de xenotransplante ovariano passou a ser aceito apenas no final do século XIX pelas comunidades científicas da época devido ao desconhecimento das bases imunológicas necessárias para que ocorressem os transplantes entre espécies (CUPERSCHMID & CAMPOS, 2007) e que espécies animais seriam mais apropriadas para tal finalidade (BEZERRA, 2010).

Com o passar dos anos, iniciou-se o uso de animais imunodeficientes para realização de novas biotécnicas visando obter folículos com oócitos de tamanho apropriado para maturação *in vitro* fazendo com que o xenotransplante ovariano se tornasse um dos caminhos possíveis na produção *in vitro* de embriões (PIVE) (BEZERRA, 2010).

Os camundongos são animais de fácil manuseio, pequeno porte (aproximadamente 10 vezes menores do que os ratos), com características geneticamente bem definidas, um ciclo reprodutivo rápido, curto período gestacional (em torno de 21 dias), além de crescimento rápido dos filhotes e baixo custo de manutenção (ANDERSEN et al., 2004). Assim, importantes linhas de pesquisa biológicas os adotaram como modelos experimentais e devido a todas

essas características, o sistema imune dessa espécie foi caracterizado de maneira mais extensiva do que qualquer outra espécie.

Adicionalmente, o xenotransplante possui diversas aplicações: uso de órgãos de doadores vivos e também mortos (SENBON et al., 2005); perspectiva de preservação da diversidade genética necessária à conservação de animais ameaçados de extinção (DEMIRCI et al., 2003) ou ainda após a sua morte (Macedo et al., 2011). Suas vantagens incluem o elevado número de órgãos disponíveis, redução do tempo de espera por um transplante e a possibilidade de planejamento de cirurgia adequadamente (VALLOTTON & WEIBER, 2001).

Apesar da técnica de xenotransplante ser atualmente difundida, ainda existe algumas limitações para sua realização, como: necessidade de receptoras imunodeficientes, ambiente em condições para sua manutenção, acompanhamento permanente dos animais transplantados, instrumental cirúrgico para microcirurgia e equipe especializada para execução do transplante (BEZERRA, 2011).

Pensando nas aplicações e importância desta técnica, este artigo de revisão teve como objetivo abordar aspectos da fisiologia folicular a fim de demonstrar a importância dos animais

imunodeficientes, registrar as inovações e as diversas técnicas utilizadas pelos pesquisadores, demonstrando assim, como estes vêm conduzindo seus estudos nos últimos anos em xenotransplante ovariano animal.

### **DESENVOLVIMENTO FOLICULAR: POSSÍVEL MESMO APÓS OVARECTOMIA?**

A foliculogênese compreende o período entre a formação dos primeiros folículos primordiais até sua atresia ou até o estágio de folículo pré-ovulatório seguido de ovulação (THIBAUT & LEVASSEUR, 2001). Os folículos são responsáveis pelo crescimento e maturação dos oócitos, podendo ser classificados em folículos ovarianos pré-antrais (FOPA) e folículos ovarianos antrais (HIRSHFIELD, 1988).

Durante a foliculogênese, os folículos são gradualmente ativados e introduzidos a uma fase crescente de desenvolvimento, as pré-células da pré-granulosa achatadas adquirem uma forma cúbica e os folículos primordiais evoluem para folículos primários, com todas as células da granulosa formando uma única camada cúbica. Com o aumento da atividade proliferativa das células da granulosa, o folículo torna-se uma estrutura de camadas múltiplas. Os folículos com mais de uma camada de

células da granulosa cúbicas são chamados de folículos secundários (BEZERRA, 2010). Após o desenvolvimento folicular, há formação do antro (cavidade encontrada em folículos maiores repleta de fluido que nutre e regula o crescimento oocitário) e uma taxa de crescimento acelerado (EPPIG, 2001). Em contraste com os pequenos roedores de laboratório, os quais os folículos primários requerem apenas 14-16 dias para atingir a fase pré-ovulatória (BEZERRA, 2011), nos mamíferos a ativação completa da foliculogênese, leva vários meses.

Os FOPA constituem cerca de 90-95% da população dos folículos existentes nos ovários. Destes, apenas 0,1% atingem a ovulação sem degenerarem ao longo do crescimento (HIRSHFIELD, 1988). Com o xenotransplante ovariano, o índice de aproveitamento dessa população aumentaria, já que será realizado o cultivo *in vivo* e não apenas a aspiração dos folículos pré-ovulatórios (BEZERRA, 2011).

O desenvolvimento folicular também ocorre em fêmeas receptoras recém ovariectomizadas nas quais os níveis circulantes de gonadotrofinas endógenas ainda estão aumentados (CLEARY et al., 2003), ocorrendo a ativação de folículos primordiais, seguido de crescimento até o início da fase antral, quando há total ou

parcial revascularização do tecido transplantado. Este fato já foi relatado após xenotransplante de tecido ovariano de várias espécies, nas quais foram transplantados os tecidos em roedores imunodeficientes (Camundongos SCID e NUDE ou ratas NUDE) conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Xenotransplantes ovarianos realizados desde 1994 em diferentes espécies.

| <b>Autores</b>                 | <b>Animais Doadores</b>  |
|--------------------------------|--------------------------|
| Gosden et al., 1994            | Gatas                    |
| Gosden et al., 1994            | Ovelhas                  |
| Gunasena et al., 1998          | Elefanta                 |
| Hernandez-Fonseca et al., 2001 | Vacas                    |
| Mattiske et al., 2002          | Marsupiais               |
| Kaneko et al., 2003            | Suíños                   |
| Bosch et al., 2004             | Gatas                    |
| Candy et al., 2005             | Macacas                  |
| Hernandez-Fonseca et al., 2005 | Ovelhas                  |
| Kaneko et al., 2006            | Suínas                   |
| Aerts et al., 2010             | Fetos bovinos e bezerros |
| Bezerra, 2010                  | Fetos bovinos e bezerros |
| Wiedemann et al., 2012         | Leoas                    |
| Kaneko et al., 2013            | Suíños                   |

#### **Rejeição: Mecanismo de ação nos tecidos xenotransplantados**

No geral, quando órgãos de um indivíduo de uma espécie são introduzidos no corpo de um ser de outra espécie, anticorpos do sangue se ligam ao tecido xenotransplantado e substâncias como

hidratos de carbono e proteínas são liberadas no endotélio do órgão. O endotélio, por sua vez, responde convertendo anticoagulante em pró-coagulante, enquanto que os anticorpos aderentes, por sua vez se ligam a proteínas da cascata de complemento. Com essa ativação, ocorre a lise das células endoteliais atraindo outros pró-componentes do sistema imune. O resultado é a chamada rejeição hiperaguda, acarretando perda imediata das funções do órgão devido à trombose e perda da função da barreira endotelial (PIERSON et al., 2009). Esta rejeição ocorre dentro de poucas horas do transplante estando diretamente relacionada com a presença de anticorpos.

O segundo fenômeno é conhecido como rejeição retardada ao xenotransplante, a qual envolve imunidade celular. Histologicamente nessa rejeição observa-se uma infiltração progressiva do tecido por macrófagos ativados e células exterminadoras naturais (NK), agregação plaquetária e deposição de fibrina nos microcapilares por ativação de células endoteliais (HANCOCK, 1997). Alguns modelos experimentais têm demonstrado que a rejeição retardada pode ser contornada (Robson et al., 1999), mas com o custo de maiores desordens, tais como pancitopenia ou problemas de coagulação

(AUBARD et al., 2003). Considerando então o xenotransplante ovariano, a rejeição acarretará na falha do desenvolvimento folicular e na baixa qualidade oocitária.

### **Animais imunodeficientes: vantagens e limitações**

Almejando reduzir as chances de possíveis rejeições após o xenotransplante, pesquisadores, através de manipulações genéticas, produziram roedores imunodeficientes, sendo exemplos as linhagens SCID e NUDE. Animais com imunodeficiência severa combinada (SCID) possuem profunda linfopenia e função defeituosa dos linfócitos B e T, ou seja, são animais desprovidos de resposta imune humoral, o que proporciona maior segurança e recuperação dos órgãos transplantados. Esta linhagem possui o gene recessivo autossômico situado no cromossomo 16 PRKDC<sup>SCID</sup> (Dos Santos, 2002). Já os NUDE possuem timo afuncional ou ausente, resultando na inibição do sistema imunológico devido a um número reduzido de células T. A base genética da mutação das camundongas ou ratas dessa última linhagem é uma interrupção do gene Foxn1 (CASSANDRA, 2011).

GOSDEN et al. (1994), demonstraram pela primeira vez a sobrevivência de tecido ovariano de

ovelhas xenotransplantado em camundongas com imunodeficiência severamente combinada, adicionalmente, observaram a presença de folículos antrais e de oócitos férteis, demonstrando assim, a aplicabilidade deste modelo para uma variedade de animais.

Existem ainda estudos com crescimento de folículos secundários de vacas até a fase antral quando transplantados em camundongas imunodeficientes, demonstrando oócitos com dimensões suficientes para serem submetidos à maturação *in vitro* (MIV) (SENBON et al., 2003). Este mesmo grupo realizou posteriormente a fertilização *in vitro* (FIV) de bovinos após o xenotransplante obtendo embriões no estágio de 5-8 células, todavia, devido a resultados inconclusivos ainda são necessários outros estudos em relação à competência do oócito no desenvolvimento embrionário (SENBON et al., 2005).

### **Indução hormonal: usá-la ou não?**

O FSH (Hormônio Folículo Estimulante) desempenha papel no crescimento folicular precoce, porém seu papel principal é mais evidente no folículo secundário e antral, devido ao aumento no número de receptores de FSH e os receptores de IGF- I, que podem amplificar a ação do FSH folicular (HERNANDEZ-FONSECA et al., 2005).

Os folículos primordiais, embora sensíveis às gonadotrofinas, não necessitam de FSH e LH (Hormônio Luteinizante) para o desenvolvimento até sua ativação e, como as atividades biológicas desses hormônios não são exclusivamente espécie-específicas, é possível que os hormônios produzidos pela hipófise do receptor apoiem a morfogênese dos folículos pré-ovulatórios e a produção de estrogênio no xenotransplante ovariano (GOSDEN et al., 1994). Sendo assim, uma estratégia para melhorar a capacidade de desenvolvimento de oócitos dos xenotransplantes seria facilitar seu desenvolvimento por aceleração do crescimento folicular com administração de hormônios exógenos (KANEKO et al., 2006).

CLEARY et al. (2003) indicaram que o maior número de oócitos viáveis foram recuperados a partir de xenotransplantes ovarianos de Wombat comuns em camundongos imunodeficientes após administração de FSH. KANEKO et al. (2003) otimizaram o tempo de tratamento de camundongas imunodeficientes em termos de crescimento folicular e recuperação de oócitos utilizando eCG (gonadotrofina coriônica equina) e observaram que mais oócitos com capacidade fertilizante foram colhidos a partir de folículos antrais

quando o eCG foi administrado 60 dias após o estro.

Segundo resultados obtidos em leitoas pré-púberes, os oócitos isolados a partir de folículos antrais com pelo menos 2 mm de diâmetro, retomaram a meiose em uma taxa maior do que os de folículos menores (MOTLIK et al., 1984) adicionalmente, oócitos de folículos entre 3 e 5 mm de diâmetro adquiriram a capacidade de se desenvolver até o estágio de blastocisto após a FIV (MARCHAL et al., 2002). No entanto, KIKUCHI et al. (2006) avaliando oócitos recuperados após xenotransplante, observaram que os mesmos não alcançaram o estágio de blastocisto quando foram maturados, fertilizados *in vitro* e imediatamente transferidos para os ovidutos de marrãs sincronizadas durante o estro.

Protocolos hormonais totalmente eficazes e que promovam o desenvolvimento folicular ainda não foram bem estabelecidos. Dessa forma, são empregados vários protocolos nos animais receptores, tendo em vista a dimensão dos folículos antrais nos xenotransplantes e a recuperação dos oócitos, avaliando ainda a influência dos tratamentos hormonais na competência meiótica e desenvolvimento de oócitos primordiais sob o sistema de PIVE (KANEKO et al., 2006).

### **Xenotransplante ovariano: estado da arte**

AERTS et al. (2010) com intuito de desenvolver e testar uma nova abordagem para o xenotransplante de folículos pré-antrais isolados para a região subcapsular renal de camundongas imunodeficientes, submeteu ovários de fetos bovinos e de bezerras à ação de enzimas para otimizar a obtenção de folículos e os filtrou imediatamente. Nesta técnica, os folículos suspensos foram isolados em solução salina tamponada com fosfato e as células da granulosa proveniente da digestão do ovário foram transplantadas nas fêmeas receptoras. A suspensão foi injetada sob a cápsula renal de camundongas NUDE adultas. Quatorze dias após o xenotransplante, foi observada sobrevida folicular, proliferação do xenotransplante avaliada por histologia e expressão de antígeno de células nucleares (PCNA) por imunomarcção, sendo realizada a comparação com o tecido controle. Esses pesquisadores concluíram que a ativação folicular após transplante indicou que os folículos pré-antrais isolados eram capazes de sobreviver e crescer durante 14 dias após o xenotransplante sob a cápsula renal.

BEZERRA (2010) estudando protocolo de cultivo *in vitro* e *in vivo* de FOPA de fetos bovinos realizou xenotransplante ovariano sob a cápsula

renal de camundongas imunodeficientes (SCID e Balb-c NUDE). Nesse experimento foi desenvolvida uma técnica de biopsia na qual verificou-se o efeito do tempo de transplante em três grupos (os dois primeiros grupos com 30, 60 dias após o transplante e um terceiro grupo com 30 e 60 dias após o transplante) sobre a porcentagem e viabilidade de FOPA e presença de folículos antrais avaliados microscopicamente. Após o xenotransplante, procedeu-se com o estímulo hormonal das receptoras (10 UI de eCG e 10 UI r-hFSH). Com a retirada do transplante, observou-se crescimento sucessivo de FOPA até estádios antrais ao longo do tempo (> 30 dias). Logo, o autor concluiu que os FOPA oriundos de fetos bovinos crescem até estádios antrais a partir de 30 dias após realização do xenotransplante, com respostas similares entre os protocolos hormonais realizados nas fêmeas doadoras.

WIEDEMANN et al. (2012) investigaram a viabilidade de preservar as células germinativas de ovários de leões (*Panthera leo*). Para tanto, complexos cumulus-oócito (CCOs) de boa qualidade foram isolados e submetidos à maturação *in vitro* (MIV). O córtex do ovário foi fragmentado para cultivo e criopreservado por congelamento lento. A sobrevivência dos folículos ovarianos foi avaliada por

histologia básica. As amostras descongeladas do córtex ovariano foram xenotransplantadas sob a pele de uma camundonga imunodeficiente NMRI-nu/nu ovariectomizada e permaneceram no local durante 28 dias. Após esse período, os oócitos encontrados após a retirada do transplante foram levados para a maturação *in vitro*. Apenas 28,1% dos CCOs foram maturados *in vitro*, indicando condições insuficientes para realização da MIV. Por outro lado, quase todos os folículos dentro do córtex ovariano sobreviveram ao cultivo quando a amostra original foi colhida imediatamente após a eutanásia de uma leoa jovem saudável. O número de folículos primordiais diminuiu (20%) após 28 dias, mas a relação entre os folículos primordiais e o crescimento folicular foi significativamente considerável. Em conclusão, observou-se a possibilidade de realização da criopreservação por congelamento lento do córtex ovariano. Adicionalmente, embora o protocolo de MIV para os leões ainda não esteja otimizado, os oócitos maduros podem ser obtidos após o xenotransplante a longo prazo com posterior realização de MIV, podendo assim, representar uma forma de resgate das espécies de felinos que futuramente poderão estar em extinção.

KANEKO et al. (2013), estudando fêmeas suínas, procuraram estabelecer um

modelo para produção de blastocistos através de folículos primordiais que haviam sido transplantados em camundongas NUDE e maturados *in vitro*, em combinação com a fusão de fragmentos citoplasmáticos. Cerca de 60 dias após a detecção da abertura vaginal, foi administrado FSH suíno nas camundongas durante 2 semanas para melhorar seu desenvolvimento folicular. Os oócitos foram maturados *in vitro* e submetidos à centrifugação para preparação dos fragmentos citoplasmáticos sem placa metafásica (citoplastos). Três citoplastos foram fundidos por eletroestimulação (para cada oócito recuperado de um folículo xenogênicos) e posteriormente postos para MIV. Em seguida, estes oócitos foram fertilizados e cultivados *in vitro*. Após a fusão, houve aumento da taxa de blastocistos quando comparado aos oócitos convencionais não tratados, demonstrando assim a possibilidade da utilização de oócitos primordiais em suínos, em combinação com o xenotransplante de tecido ovariano e também com a fusão dos oócitos com os citoplastos.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

O xenotransplante ovariano já foi realizado em algumas espécies, devido principalmente ao uso de animais imunossuprimidos, porém, ainda são necessários mais estudos para entender

completamente a fisiologia da interação doador/receptor e como isso pode influenciar na foliculogênese, para tanto alguns métodos precisam ser aprimorados. Ainda assim, esta técnica está se tornando corriqueira, devido à importância e vantagens reprodutivas que a mesma engloba.

Atualmente, não há um protocolo hormonal bem estabelecido para ser utilizado após o xenotransplante ovariano devido a dúvidas em relação a quem esse protocolo deve ser destinado, a doadora ou a receptora. No entanto, sabe-se da importância de sua aplicação, visto que auxilia no desenvolvimento folicular nos fragmentos transplantados.

O próximo passo a ser dado no xenotransplante ovariano é a obtenção, em associação com a PIVE, de embriões viáveis e em número considerável, para se tornar uma técnica de uso comercial, auxiliando tanto na produção de animais de grande valor zootécnico que por algum motivo perderam sua função reprodutiva quanto na fauna silvestre que corre risco de extinção.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas às alunas do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – UFERSA. Ao

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio ao projeto 483890/2012.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AERTS J.M, MARTINEZ-MADRID B, LEROY J.L, VAN AELST S, BOLS PE. Xenotransplantation by injection of a suspension of isolated preantral ovarian follicles and stroma cells under the kidney capsule of nude mice. **Fertility and sterility**, v. 94, n. 2, p. 708-714, 2010.

AUBARD Y. Ovarian tissue xenografting. *European Journal of Obstetrics e Gynecology and Reproductive Biology*, v.108, p.14-18, 2003.

BEZERRA M.B. Folículos ovarianos pré-antrais bovinos: cultivo in vitro e xenotransplante. 2010. 63f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP.

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**, v. 61, n. 2, p. 581-594, 2004.

CASSANDRA L.K. Forkhead Box N1; Foxn1, 15 jan. 2014. Capturado em 15 jan. 2014. Online.

- CANDY C.J, WOOD M.J, WHITTINGHAM D.G. Ovary and ovulation: Follicular development in cryopreserved marmoset ovarian tissue after transplantation. **Human Reproduction**, v. 10, n. 9, p. 2334-2338, 1995.
- CLEARY M, PARIS M.C.J, SHAW J, JENKIN G, TROUNSON A. Effect of ovariectomy and graft position on cryopreserved common wombat (*Vombatus ursinus*) ovarian tissue following xenografting to nude mice. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 15, n. 6, p. 333-342, 2003. doi: 10.1071/RD03063.
- CUPERSCHMID E.M, CAMPOS T.P.R. Os curiosos xenoimplantes glandulares do doutor Voronoff. **História, Ciências e Saúde**, v.14, n.3, p.737-760, 2007.
- DEMIRCI B, LORNAGE J, SALLE B, POIREL M.T, GUERIN J.F, FRANCK M. The cryopreservation of ovarian tissue: uses and indications in veterinary medicine. **Theriogenology**, v. 60, p. 999-1010, 2003.
- DOS SANTOS F.B. Camundongos mutantes mais utilizados. Capturado em: 28 ago. 2014. Online.
- EPPIG J.J, SCHROEDER A.C. Capacity of mouse oocytes from preantral follicles to undergo embryogenesis and development to live young after growth, maturation, and fertilization in vitro. **Biology of Reproduction**, v.41, n.2, p.268-276, 1989.
- GOSDEN R.G, BOULTON M.I, GRANT K, WEBB R. Follicular development from ovarian xenografts in SCID mice. **Journal of reproduction and fertility**, v. 101, n. 3, p. 619-623, 1994.
- GUNASENA K.T, LAKEY J.R.T, VILLINES P.M, BUSH M, RAATH C, CRITSER E.S, CRITSER J.K. Antral follicles develop in xenografted cryopreserved african elephant (*Loxodonta africana*) ovarian tissue. **Animal reproduction science**, v. 53, n. 1, p. 265-275, 1998.
- HANCOCK W.W. Delayed xenograft rejection. **World journal of surgery**, v. 21, n. 9, p. 917-923, 1997.
- HERNANDEZ-FONSECA H.J, BOSCH P, WININGER J.D, MASSEY J.B, CHO H, BRACKETT B.G. Recovery of oocytes from bovine ovarian tissue transplanted to NOD SCID mice. **Fertil Steril**; 76(Suppl 1):S56, 2001.
- HERNANDEZ-FONSECA H.J, BOSCH P, MILLER D.M, WININGER J.D, MASSEY J.B, BRACKETT B.G. Time course of follicular development after bovine ovarian tissue transplantation in male non-obese diabetic severe combined immunodeficient mice. **Fertility and sterility**, v. 83, n. 4, p. 1180-1187, 2005.

HIRSHFIELD A.N. Size-frequency analysis of atresia in cycling rats. **Biology of Reproduction**, v.38, n.5, p.1181-1188, 1988.

KANEKO H, KIKUCHI K, NOGUCHI J, HOSOE M, AKITA T. Maturation and fertilization of porcine oocytes from primordial follicles by a combination of xenografting and in vitro culture. **Biology of reproduction**, v. 69, n. 5, p. 1488-1493, 2003.

KANEKO H, KIKUCHI K, NOGUCHI J, OZAWA M, OHNUMA K, MAEDOMARI N, KASHIWAZAKI N. Effects of gonadotrophin treatments on meiotic and developmental competence of oocytes in porcine primordial follicles following xenografting to nude mice. **Reproduction**, v. 131, n. 2, p. 279-288, 2006.

KANEKO H, NAKAI M, TANIHARA F, NOGUCHI J, KIKUCHI K. Improved developmental ability of porcine oocytes grown in nude mice after fusion with cytoplasmic fragments prepared by centrifugation: A model for utilization of primordial oocytes. **Theriogenology**, v. 80, n. 8, p. 887-892, 2013.

KIKUCHI, K, KANEKO H, NAKAI M, NOGUCHI J, OZAWA M, OHNUMA K, KASHIWAZAKI N. In vitro and in vivo developmental ability of oocytes derived from porcine primordial follicles

xenografted into nude mice. *The Journal of reproduction and development*, v. 52, n. 1, p. 51, 2006.

MACEDO M.F, BEZERRA M.B, VICENTE W.R.R. Transplante ovariano: aplicações na reprodução de animais domésticos, silvestres e humanos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2011.

MARCHAL R, VIGNERON C, PERREAU C, BALI-PAPP A, MERMILLOD P. Effect of follicular size on meiotic and developmental competence of porcine oocytes. **Theriogenology**, v. 57, n. 5, p. 1523-1532, 2002.

MATTISKE D, SHAW G, SHAW J.M. Influence of donor age on development of gonadal tissue from pouch young of the tammar wallaby, *Macropus eugenii*, after cryopreservation and xenografting into mice. **Reproduction**, v. 123, n. 1, p. 143-153, 2002.

MOTLIK J, CROZET N, FULKA J. Meiotic competence in vitro of pig oocytes isolated from early antral follicles. **Journal of reproduction and fertility**, v. 72, n. 2, p. 323-328, 1984.

PIERSON R.N, DORLING A, AYARES D, REES M.A, SEEBACH J.D, FISHMAN J.A, COOPER D.K. Current status of xenotransplantation and prospects for clinical

application. **Xenotransplantation**, v. 16, n.5, p. 263-280, 2009.

ROBSON S.C. Factors in xenograft rejection. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 875, n. 1, p. 261-276, 1999.

SENBON S, OTA A, TACHIBANA M, MIYANO T. Bovine oocytes in secondary follicles grow and acquire meiotic competence in severe combined immunodeficient mice. **Zygote**, v.11, p.139-149, 2003.

SENBON S, ISHII K, FUKUMI Y, MIYANO T. Fertilization and development of bovine oocytes grown in female SCID mice. **Zygote**, v.13, p.309-315, 2005.

THIBAUT C, LEVASSEUR M.C. La Reproduction Chez Les Mammifères Et L'Homme. 2ed. Paris: Ellipses, 2001. cap.15. p.316- 347.

VALLOTTON M, WEIBEL E.R. Medical-ethical principles on xenotransplantation. **Swiss Medical Weekly**, v. 131, n. 25-26, p. 388-394, 2001.

WIEDEMANN C, HRIBAL R, RINGLEB J, BERTELSEN M.F, RASMUSEN K, ANDERSEN C.Y, JEWGENOW K. Preservation of Primordial Follicles from Lions by Slow Freezing and Xenotransplantation of Ovarian Cortex into an Immunodeficient Mouse. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. s6, p. 300-304, 2012.