

**EUGENOL, ACETILEUGENOL E HIDROGEL DE FIBRINA-
POLIETILENOGLICOL AUXILIAM NO DESENVOLVIMENTO DE
FOLÍCULOS OVARIANOS BOVINOS CULTIVADOS *IN SITU***

Miguel Fernandes de Lima Neto (migueel_f@hotmail.com)

Arezo Dadashzadeh (arezoo.dadashzadeh@uclouvain.be)

Saeid Moghassemi (saeid.moghassemi@uclouvain.be)

Christiani Andrade Amorim (christiani.amorim@uclouvain.be)

José Roberto Viana Silva (jrvsilva@ufc.br)

Introdução - A combinação com sistemas de cultivo tridimensional (hidrogéis de polietilenoglicol e fibrina [PEG:F]) com a presença de antioxidantes naturais, como o Eugenol (EU) e Acetileugenol (ACEU), representam alternativas para aprimorar o cultivo *in vitro* de folículos ovarianos. **Objetivo** - Avaliar os efeitos do EU e seu derivado (ACEU) sobre o desenvolvimento de folículos ovarianos bovinos utilizando o sistema de cultivo de tecido tradicional ou tridimensional em hidrogéis de PEG:F. **Métodos** - A formulação de hidrogel otimizada foi identificada por meio de modelagem matemática e análise de regressão, utilizando dados do Delineamento Composto Central (DCC). Para este estudo, a formulação ideal do hidrogel foi determinada definindo-se o Módulo de Young do tecido cortical ovariano bovino em 8,87 kPa como o valor alvo. Os fragmentos de tecido ovariano (1x1x1mm) foram cultivados em ambas as condições experimentais (sistema tradicional ou tridimensional) em meio base (α -MEM) suplementado. Para ambos os sistemas, os tratamentos foram divididos em I) Controle cultivado, II) EU 1 μ g/mL e ACEU 1 μ g/mL. Os fragmentos foram cultivados por 6 dias em 5% CO₂ e 38,5 °C com troca de meio (60%) em dias intercalados. As amostras foram fixadas e destinadas às análises histológicas (H&E, colágeno, glicosaminoglicanos [GAGs]) e imunohistoquímica (IHC; Caspase 3 e Histona H3). Foram utilizados os testes X² e ANOVA para comparar a porcentagem de folículos morfológicamente normais e em desenvolvimento, e densidade folicular, respectivamente. A quantificação de colágeno, GAGs e IHC foi analisada pelo teste Kruskal-Wallis seguido por comparação múltipla de Dunn. **Resultados** - Houve uma diminuição significativa na porcentagem de folículos

morfologicamente normais no grupo Controle cultivado quando comparado a todos os demais tratamentos. Por outro lado, houve um aumento de folículos morfologicamente normais nos demais tratamentos com EU ou ACEU 1 $\mu\text{g/mL}$, independentemente do sistema de cultivo utilizado. Em relação ao desenvolvimento folicular, não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, assim como na espessura de fibras de colágeno. Os fragmentos cultivados em PEG:F na presença de EU e ACEU apresentaram maior quantidade de GAGs quando comparados ao Controle cultivado. Entre os grupos, houve mais GAGs no tratamento PEG:F + EU que o EU no sistema tradicional. A IHC revelou que houve diminuição da marcação de Caspase3 (apoptose) nos grupos na presença dos antioxidantes, enquanto não houve diferença para a marcação de Histona H3 (proliferação) entre os tratamentos. **Conclusão** - A presença de EU ou ACEU (1 $\mu\text{g/mL}$) tanto no sistema de cultivo tradicional, quanto o cultivo tridimensional em hidrogel de PEG:F, contribuem para a sobrevivência folicular após o cultivo de tecido ovariano bovino, além de diminuir a apoptose.

Palavras-chave: Bioengenharia, Cultivo tridimensional, Ovário, Reprodução.