



**PUNICALAGINA PRESERVA A VIABILIDADE DE CÉLULAS DO CÚMULUS
E A MORFOLOGIA DE FOLÍCULOS PRÉ-ANTRAIS EM TECIDO
OVARIANO BOVINO CRIOPRESERVADO**

Érica Costa Marcelino (ericacbiomedica@gmail.com)

Sueline Cavalcante Chaves (suelinecavalcante@gmail.com)

Leopoldo Rugieri Carvalho Vaz da Silva (leorugieri@hotmail.com)

Andreza de Aguiar Silva (andrezabiomedicina93@gmail.com)

Francisco das Chagas Costa (biofrankcosta@hotmail.com)

Gabrielle de Oliveira Ximenes (gabiximenes14@gmail.com)

José Roberto Viana Silva (roberto_viana@yahoo.com)

Introdução - A criopreservação de tecido ovariano é uma estratégia promissora para programas de conservação e melhoramento genético. No entanto, o uso de crioprotetores tradicionais ainda representa um desafio, pois pode induzir estresse oxidativo e toxicidade celular, comprometendo a integridade tecidual. Nesse contexto, a adição de compostos antioxidantes aos meios de cultivo tem se destacado, especialmente o uso de substâncias naturais, como a punicalagina (PU), reconhecida por sua potente atividade antioxidante.

Objetivo - Analisar os efeitos de diferentes concentrações de punicalagina sobre células do cumulus (CCs) bovino cultivadas *in vitro* e sobre a morfologia, integridade e ativação de folículos pré-antrais inclusos em tecido ovariano criopreservado, além de avaliar parâmetros pró-oxidantes (tióis) e antioxidantes (SOD, CAT e GPX) após o processo de vitrificação. **Métodos** - As CCs foram isoladas de complexos cumulus-oócito bovino e cultivadas em meio α -MEM+ a 38,5 °C e 5% de CO₂. A viabilidade foi avaliada após 48 h de exposição à punicalagina nas concentrações de 0, 1, 10 e 100 μ M, utilizando os marcadores calceína-AM e etídio homodímero-1 (EthD-1). Fragmentos do córtex ovariano (3×3×1 mm) foram submetidos à vitrificação em superfície sólida por 30 dias em solução contendo α -MEM, 10% SFB, 10% DMSO e 0,25 mol/L de sacarose, com adição das mesmas concentrações de PU. Após reaquecimento, os fragmentos foram incubados por 24 h em meio α -MEM suplementado e avaliado quanto à morfologia, desenvolvimento folicular e parâmetros antioxidantes. **Resultados** -



A análise de citotoxicidade mostrou que a fluorescência da calceína-AM em CCs tratadas com 1, 10 e 100 μM de PU não diferiu do controle ($p > 0,05$). Entretanto, o grupo PU10 apresentou fluorescência para calceína-AM significativamente maior em comparação ao PU100 ($p < 0,05$). Além disso, a intensidade de fluorescência do EthD-1 foi menor nos grupos tratados com PU ($p < 0,05$), indicando menor número de células mortas. Após a vitrificação e o reaquecimento, não foram observadas diferenças significativas na atividade das enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GPX) nem nos níveis de tióis totais entre os grupos. A proporção de folículos primordiais e em desenvolvimento manteve-se semelhante entre os tratamentos, indicando que a punicalagina não interferiu na ativação folicular e preservou o padrão observado no controle. Quanto à morfologia, a maioria dos folículos manteve-se normal em todos os grupos, sem diferenças significativas, demonstrando que a punicalagina contribuiu para a preservação da integridade estrutural e da viabilidade folicular frente às condições de vitrificação. **Conclusão** - A punicalagina não apresenta efeito citotóxico e, em diferentes concentrações, é capaz de preservar a morfologia e a viabilidade folicular, evidenciando seu potencial como agente protetor durante a criopreservação de tecido ovariano.

Palavras-chave: Antioxidante, Criopreservação, Ovários.