

BIOSCAFFOLDS OVARIANOS DESCELULARIZADOS FAVORECEM A INTEGRIDADE ULTRAESTRUTURAL DE FOLÍCULOS OVARIANOS BOVINOS CULTIVADOS IN VITRO EM MEIO COM RESVERATROL NANOENCAPSULADO

Andreza de Aguiar Silva (andrezabiomedicina93@gmail.com)

Francisco das Chagas Costa (biofrankcosta@hotmail.com)

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

Érica Costa Marcelino (erikamarcelino302010@gmail.com)

Sueline Cavalcante Chaves (suelinecavalcante@gmail.com)

Mara Brena Aragão Catunda (marabrenamed@gmail.com)

José Roberto Viana Silva (roberto_vianna@yahoo.com)

Introdução: A estimulação folicular pré-antral *in vitro* em bovinos vêm sendo extensivamente investigada visando obter oócitos aptos para fertilização. No entanto, folículos pré-antrais são desafiadores para o cultivo sem a estrutura de suporte natural do ovário. Recentemente, construções de andaimes biológicos como aquelas desenvolvidas através da descelularização de tecido ovariano (MECd) demonstraram dar suporte ao crescimento de folículos ovarianos em diferentes espécies. O uso da MECd pode imitar a estrutura tridimensional do tecido, favorecendo o crescimento folicular. O resveratrol (RsV) é associado a redução da apoptose e ao aumento da proliferação de células, contudo sua biodisponibilidade é limitada, seu encapsulamento com nanopartículas (NPs) foi sugerido para melhorar seus efeitos. **Objetivo:** investigar os efeitos do arcabouço de MECd favorece a manutenção da ultraestrutura de folículos secundários cultivados *in vitro* em meio suplementado com NPs poliméricos contendo Rsv (NPRsv). **Metodologia:** As NPs foram obtidas por nanoprecipitação. Para descelularização, fragmentos ovarianos bovinos passaram por três ciclos de congelamento e descongelamento, seguidos por incubação em Triton X-100 a 0,1% e dodecil sulfato de sódio (SDS) a 0,5%, por nove horas cada, à temperatura ambiente. Para o cultivo *in vitro*, folículos secundários bovinos foram isolados mecanicamente e cultivados por 12 dias diretamente em placa de cultivo (sistema 2D) em gotas de 100 uL de TCM-199+ ou inseridos no suporte de MECd (sistema 3D) e cultivados em TCM199+ sozinho (controle 3D) ou suplementado com 0,02uM de NPRsv, 2uM de NP brancas (BR) (sem Rsv) e 2uM de Rsv não encapsulado. Após o cultivo, os andaimes contendo os folículos foram fixados e processados para microscopia eletrônica de transmissão (MET) e avaliados qualitativamente por um microscópio eletrônico de transmissão Morgani-FEI. **Resultados:** No grupo de cultivo 2D com TCM-199+, foram observados folículos



II SIMPÓSIO DE

Biotecnologia do Semiárido

VII SEMINÁRIO DE

Inovação, Empreendedorismo e

Gestão de Pequenas Empresas,

27 A 29 DE NOVEMBRO DE 2022

degenerados, com zona pelúcida rompida e ausência de oócito, células da granulosa preservadas, mitocôndrias com cristas e núcleo homogêneo. No cultivo 3D com NPsRsV 0,02 uM foram encontrados folículos morfologicamente normais, com zona pelúcida intacta, oócito lateralizado, além de mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo golgi e células da granulosa preservados. No tratamento do RsV não encapsulado houve dilatação do retículo e das mitocôndrias, com ausência do oócito. No tratamento de NPsBR houve degeneração folicular significativa, com oócito danificado, zona pelúcida com interrupções, e membrana plasmática desintegrada. **Conclusão:** O suporte de MECd associado à suplementação do meio de cultivo com 0,02 uM de NPRsv preservou a ultraestrutura dos folículos secundários bovinos in vitro contribuindo para a preservação da integridade das organelas, zona pelúcida, células da granulosa e oócito.

Palavras chave: Cultivo in vitro, Matriz extracelular descelularizada, Nanotecnologia. Folículos ovarianos bovinos, Resveratrol.