

Núcleo de Avaliação: Núcleo I

Área temática: Ciências Agrárias

Área do Conhecimento: Medicina Veterinária

Avaliação do número de passagens sobre a qualidade de células somáticas derivadas de gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus* Schreber, 1775)

Yara Letícia Frutuoso e Silva, João Vitor da Silva Viana, Luanna Lorena Vieira Rodrigues, Antônia Beatriz Mendonça Pereira, Alessandra Fernandes Pereira

Metodologias de conservação *ex situ in vitro* têm sido fundamentais para a conservação de felídeos silvestres, tais como o gato-do-mato-pequeno. Neste contexto, células somáticas de alta qualidade são essenciais para formação de biobancos, visando o conhecimento da espécie, medicina regenerativa e reprodutiva. Contudo, nas mais diversas espécies de felídeos silvestres, essas células têm se demonstrado susceptíveis aos danos do cultivo *in vitro*. Portanto, o objetivo foi avaliar o efeito do número de passagens sobre a qualidade de células somáticas de gato-do-mato-pequeno após a terceira, sétima e décima primeira passagem (CEUA/UFRSA: no. 20/2023 e ICMBio: no. 88201-1). Para tanto, fragmentos de pele oriundos de quatro indivíduos adultos mantidos em zoológicos foram cultivados em meio essencial mínimo modificado por Dulbecco acrescido de 10% de soro fetal bovino, 2% de solução de antibiótico-antimicótico a 38,5 °C e 6,5% de CO₂. Após a obtenção de células, fragmentos foram removidos e as células mantidas em cultivo para avaliações nas diferentes passagens (3^a, 7^a e 11^a) quanto à morfologia, viabilidade com azul de tripan, metabolismo com o ensaio de 4,5-dimetiltiazol(2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina, atividade proliferativa e níveis apoptóticos com laranja de acridina e brometo de etídio. Os dados foram analisados por ANOVA seguido de teste Tukey ou teste t não-pareado ($P < 0,05$). Quanto à morfologia, células demonstraram alterações de tamanho do citoplasma e número de prolongamentos na 11^a passagem, enquanto nas 3^a e 7^a passagem elas demonstraram núcleo centralizado, formato fusiforme com prolongamentos. Nenhuma diferença foi observada entre as passagens para a viabilidade avaliada por azul de tripan, apresentando valores superiores a 85%. Contudo, o metabolismo celular foi reduzido de $91,2\% \pm 5,2$ na 3^a passagem para $56,0\% \pm 2,9$ após a 7^a passagem e $22,8\% \pm 3,8$ após a 11^a passagem ($P < 0,05$). Quanto à atividade proliferativa, foi obtido nas 3^a e 7^a passagem um tempo de duplicação de 40 h. Ainda, nessas passagens foram visualizadas curvas de crescimento com distintas fases de adaptação, crescimento, estabilidade e morte celular. Todavia, a atividade proliferativa das células ao atingir a 11^a passagem foi alterada, onde apenas um animal apresentou um tempo de duplicação de 85 h. Adicionalmente, não foram observadas diferenças nos níveis apoptóticos com o aumento do tempo de cultivo. As células apresentaram-se viáveis (3^a passagem: $98,7\% \pm 0,4$; 7^a passagem: $91,4\% \pm 3,3$; 11^a passagem: $74,5\% \pm 13,6$), com um percentual gradativamente inferior nos estágios de apoptose inicial (3^a passagem: $0,8\% \pm 0,2$; 7^a passagem: $5,5\% \pm 2,3$; 11^a passagem: $5,5\% \pm 2,3$), apoptose tardia (3^a passagem: $0,3\% \pm 0,1$; 7^a passagem: $2,0\% \pm 0,7$; 11^a passagem: $6,8\% \pm 4,1$) e necrose (3^a passagem: $0,3\% \pm 0,1$; 7^a passagem: $0,9\% \pm 0,5$; 11^a passagem: $3,2\% \pm 1,8$). Em conclusão, embora o cultivo prolongado de células somáticas de gato-do-mato-pequeno não resulte em efeitos sobre a

viabilidade e níveis apoptóticos, é notável que este ocasiona reduções no metabolismo, proliferação celular e morfologia. Portanto, novas condições e/ou suplementações de meios de cultivo devem ser testadas visando conservar os parâmetros metabólicos e proliferativos das células.

Palavras-chave: Conservação, Cultivo *in vitro* prolongado, Passagens.

Agência financiadora: PIBIC/Af.

Campus: Mossoró.

