

**Núcleo de Avaliação:** Núcleo I  
**Área temática:** Ciências Agrárias  
**Área do Conhecimento:** Medicina Veterinária

## **Avaliação do método de inibição por contato na sincronização do ciclo de fibroblastos de tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*) visando estudos de reprogramação nuclear**

Antonia Beatriz Mendonça Pereira, Denilsa Pires Fernandes, João Vitor da Silva Viana, Carlos Iberê Alves Freitas, Alexsandra Fernandes Pereira

O tatu-peba é um mamífero sul-americano com importante atuação na ciclagem de nutrientes, sendo espécies-chave para os ecossistemas. Em virtude de sua redução populacional, resultante principalmente da caça ilegal, estratégias de conservação voltadas para reprogramação nuclear têm sido desenvolvidas. Nesse sentido, um passo fundamental para estes estudos têm sido a avaliação dos métodos de sincronização do ciclo em  $G_0/G_1$  de fibroblastos dérmicos. Portanto, o objetivo foi avaliar diferentes tempos de inibição por contato sobre a sincronização em  $G_0/G_1$  de fibroblastos de tatu-peba. Todos os experimentos foram aprovados pelo CEUA/UFERSA (no. 36/2020) e ICMBio (no. 76655-1/2020). Para tanto, células somáticas foram recuperadas a partir de tecidos da pele auricular de seis indivíduos adultos e após cultivo em meio essencial mínimo modificado por Dulbecco (DMEM) acrescido de 10% de soro fetal bovino e 2% de solução de antibiótico-antimicótico, a 38,5 °C e 6,5% de  $CO_2$ . Ao atingirem a quarta passagem, fibroblastos foram submetidos ao método de inibição por contato por 24, 72 e 120 h. Células não submetidas ao método foram usadas como controle. Todos os grupos foram avaliados para viabilidade pelo ensaio de azul de tripan, níveis apoptóticos por teste fluorescente e percentual de células em  $G_0/G_1$  por citometria de fluxo. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão e analisados por ANOVA e teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Após seis repetições, nenhuma diferença foi observada em relação à viabilidade pelo ensaio de azul de tripan entre os diferentes tempos (24 h: 96,6%  $\pm$  0,8; 72 h: 88,4%  $\pm$  4,9; 120 h: 97,8%  $\pm$  0,8) e o grupo controle (95,5%  $\pm$  1,5,  $P > 0,05$ ). Além disso, não foi observada diminuição no número de células viáveis entre os grupos quanto aos níveis apoptóticos (controle: 92,2%  $\pm$  1,4; 24 h: 89,2%  $\pm$  5,9; 72 h: 85,6%  $\pm$  2,1; 120 h: 85,2%  $\pm$  3,7,  $P > 0,05$ ). Adicionalmente, todos os grupos apresentaram baixas taxas de células em apoptose inicial (5%), apoptose tardia (3%) e necrose (7%). Quanto ao percentual de células em  $G_0/G_1$ , a inibição por contato por 24 h (78,6%  $\pm$  2,1), 72 h (76,8%  $\pm$  2,0) e 120 h (75,7%  $\pm$  2,0) não ocasionou aumento no número de células neste estágio, em relação ao grupo controle (83,3%  $\pm$  1,6,  $P > 0,05$ ). Em conclusão, a inibição por contato durante os tempos de 24, 72 e 120 h não afetou negativamente a viabilidade das células somáticas do tatu-peba. Contudo, essas condições não foram suficientes para aumentar o quantitativo de células sincronizadas em  $G_0/G_1$ . Adicionalmente, destaca-se o pioneirismo deste estudo para o desenvolvimento de ensaios de funcionalidade do ciclo celular e reprogramação nuclear em tatu-peba.

**Palavras-chave:** Xenartra, Conservação, Cultivo celular, Citômetro de fluxo.  
**Agência financiadora:** PIBIC/CNPq.  
**Campus:** Mossoró.