

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

Efeito das características criobiológicas da L-prolina e sacarose após a congelação lenta de células somáticas de preás, *Galea spixii* (Wagler, 1831)

Yara Letícia Frutuoso e Silva, Leonardo Vitorino Costa de Aquino, Luanna Lorena Vieira Rodrigues, Lhara Ricarliany Medeiros de Oliveira, Alexsandra Fernandes Pereira

Os bancos de células somáticas desempenham um papel fundamental na conservação genética e no desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida em roedores silvestres. Em *Galea spixii* (Caviidae: Galea), um roedor nativo da Caatinga e de importante função ecológica, os primeiros estudos de formação destes bancos foram realizados usando a sacarose como crioprotetor extracelular na solução de criopreservação. Contudo, danos celulares evidenciaram que a sacarose estabiliza parcialmente a membrana celular, mas não reduz o estresse osmótico. Neste sentido, a L-prolina tem sido proposta como um crioprotetor alternativo em virtude especialmente de sua função osmoprotetora. Portanto, o objetivo foi comparar os efeitos criobiológicos da L-prolina e sacarose sobre a viabilidade, atividade proliferativa, metabolismo e estresse oxidativo de células somáticas de *G. spixii*. Todos os experimentos foram aprovados pelo CEUA/UFERSA (no. 23091.010566/2017-20) e ICMBio (no. 60428-1). 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 (SFB) e 2% de solução de antibiótico-antimicótico, a 38,5 °C e 6,5% de CO₂. Quando atingiram a quinta passagem e 70% de confluência, as células foram criopreservadas (1,0 x 10⁶ células/mL) por congelação lenta usando o sistema Mr. Frosty e em meio-base (DMEM, 10% de dimetilsulfóxido e 10% SFB) contendo 0,2 M de sacarose ou 5 mM de L-prolina. Células não submetidas à criopreservação foram usadas como controle. Após duas semanas, células foram descongeladas e avaliadas quanto à morfologia usando microscópio invertido, viabilidade pelo ensaio de azul de tripan, proliferação pela determinação do tempo de duplicação da população (PDT), metabolismo pelo ensaio de brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) e nível de espécies reativas de oxigênio (EROs) usando a sonda fluorescente H₂DCFDA. Todos os dados foram expressos como média ± erro padrão e analisados por ANOVA e teste de Tukey (P < 0,05). Após seis repetições, nenhuma diferença foi observada quanto à morfologia das células, na qual todas apresentaram prolongamentos citoplasmáticos, compatíveis com fibroblastos. Contudo, células criopreservadas com L-prolina mantiveram a viabilidade similar (88,4% ± 1,8) ao controle (86,7% ± 2,0), sendo apenas a sacarose inferior a todos os grupos (72,3% ± 1,2, P < 0,05). Por outro lado, nenhuma diferença (P > 0,05) foi observada quanto ao metabolismo (controle: 96,6% ± 2,6; L-prolina: 96,6% ± 2,1; sacarose: 94,0% ± 2,0) e PDT (controle: 17,2 h ± 1,8; L-prolina: 19,2 h ± 0,7; sacarose: 21,2 h ± 1,3). Adicionalmente, apenas células criopreservadas com L-prolina apresentaram valores de EROs similar ao controle (1,03 ± 0,5 UFA e 1,00 ± 0,5 UFA, P > 0,05). Em conclusão, L-prolina foi mais eficiente que a sacarose na conservação de células somáticas de *G. spixii*. Esses resultados representam passos

importantes para o estabelecimento de bancos de recursos somáticos nesta espécie, contribuindo para sua conservação e estudos genéticos.

Palavras-chave: Roedores silvestres, Biobancos, Criopreservação, Cultivo *in vitro*.

Agência financiadora: PIBIC/Ações Afirmativas.

Campus: Mossoró.
