XXXI Seminário de Iniciação Científica da UFERSA

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

Avaliação do etilenoglicol como crioprotetor na formação de criobanco de células somáticas de peixe-boi marinho (*Trichechus manatus manatus*, Linnaeus, 1758)

Pedro Rafael Ribeiro Assunção, Luanna Lorenna Vieira Rodrigues, Yara Letícia Frutuoso e Silva, Fernanda Loffler Niemeyer Attademo, Alexsandra Fernandes Pereira

O declínio populacional do peixe-boi marinho, espécie ameaçada de extinção no Brasil, tem impulsionado o desenvolvimento de estratégias de conservação *in situ* e *ex situ*. Entre estas, a criopreservação de células somáticas representa uma ferramenta promissora para a formação de criobancos, que podem subsidiar estudos ecotoxicológicos e aplicações biotecnológicas. O sucesso dessa abordagem depende de fatores, como o tipo e a concentração dos crioprotetores. Usualmente, o dimetilsulfóxido (DMSO) é o agente intracelular mais empregado, mas seus efeitos tóxicos estimulam alternativas. Nesse contexto, o etilenoglicol (EG) é um potencial substituto, já aplicado em diferentes tipos celulares de mamíferos. Portanto, o objetivo foi avaliar a eficiência de concentrações de EG (5, 8 e 10%) como crioprotetor na criopreservação de fibroblastos de peixe-boi marinho (CEUA/UFERSA: no. 14/2020 e ICMBio: no. 20685-5/2020). Para tanto, foram utilizadas biópsias de pele de quatro indivíduos adultos em processo de reabilitação no ICMBio. Após o processamento e cultivo tecidual, fibroblastos em quarta passagem foram criopreservados por congelação lenta usando diferentes concentrações de EG. O grupo controle foi composto por células não criopreservadas. Após duas semanas, células foram descongeladas e avaliadas quanto à viabilidade, metabolismo, tempo de duplicação populacional (PDT), estresse oxidativo (EROs), potencial de membrana mitocondrial (ΔΨm) e níveis apoptóticos. Todos os dados foram analisados por ANOVA seguido de teste Tukey ou teste t não pareado. Imediatamente após a descongelação, a viabilidade foi reduzida em todos os grupos tratados (5EG: 63,6% ± 6,9; 8EG: 58,7% ± 5,9; 10EG: 51,3% ± 10,1) em comparação ao controle (96,7% ± 0,5; $P < 0,05$). Contudo, após cultivo *in vitro*, as células recuperaram a viabilidade, sendo semelhantes ao controle nos grupos 5EG (93,1% ± 1,0) e 8EG (86,1% ± 2,3), mas inferiores no grupo 10EG (80,5% ± 4,5; $P < 0,05$). O metabolismo celular manteve-se estável em todos os grupos (5EG: 90,1% ± 9,9; 8EG: 93,4% ± 4,6; 10EG: 94,5% ± 5,5; controle: 96,8% ± 3,2; $P > 0,05$). O PDT também não diferiu entre os tratamentos (5EG: 14,5 ± 1,1 h; 8EG: 11,0 ± 0,7 h; 10EG: 11,5 ± 0,5 h; controle: 11,1 ± 0,9 h). Quanto ao estresse oxidativo, 5EG (0,7 ± 0,3) e 8EG (0,7 ± 0,3) apresentaram níveis reduzidos de EROs em relação ao controle (1,1 ± 0,6; $P < 0,05$), enquanto o 10EG (1,2 ± 1,8) manteve valores semelhantes ($P > 0,05$). O ΔΨm aumentou em todos os grupos criopreservados (5EG: 1,5 ± 0,6; 8EG: 1,6 ± 0,5; 10EG: 1,7 ± 0,5) em comparação ao controle (1,0 ± 0,5; $P < 0,05$). Nenhuma diferença foi observada para os níveis de apoptose, com taxas de células viáveis acima de 90% em todos os grupos (5EG: 95,8% ± 1,5; 8EG: 92,9% ± 5,0; 10EG: 99,4% ± 0,2; controle: 93,8% ± 4,1). Portanto, o etilenoglicol é eficiente como crioprotetor intracelular para fibroblastos de peixe-boi marinho, preservando parâmetros fundamentais da qualidade celular, especialmente nas concentrações de 5% e 8%. O uso desse composto apresenta-se como alternativa ao DMSO

para a formação de criobancos somáticos, contribuindo para conservação *ex situ* desta espécie.

Palavras-chave: Mamíferos marinhos, Estratégias de conservação, Criotolerância, Fibroblastos, Congelação lenta.

Agência financiadora: PIBIC/CNPq.

Campus: Mossoró.