**Área temática:** Ciências Biológicas

**Avaliação da criopreservação de células somáticas derivadas da pele auricular de onça-pintada, *Panthera onca* Linnaeus, 1758 (Carnivora: Felidae) sobre a viabilidade, metabolismo, apoptose e estresse oxidativo**

João Vitor da Silva Viana, Alexsandra Fernandes Pereira, Luiz Fernando de Medeiros Paiva Moura, Érika Almeida Praxedes, Lhara Ricarliany Medeiros de Oliveira

A onça-pintada, mamífero emblemático da fauna sul-americana, vem sofrendo grande declínio populacional, principalmente em virtude das ações humanas, como as queimadas voltadas para a produção agropecuária. Tal declínio tem despertado grande preocupação de diferentes setores, sendo importante o estabelecimento urgente de estratégias voltadas para a conservação desta espécie. Neste cenário, bancos de células somáticas representa valiosas ferramentas para a conservação da diversidade genética das populações, visando o emprego destes bancos na produção de embriões clones e geração de células induzidas à pluripotência. Para tanto, faz-se necessário avaliar as injúrias nas células geradas pela criopreservação para compreender como os aprimoramentos dos protocolos de conservação devem ser mais bem estabelecidos. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade, metabolismo, níveis de apoptose e estresse oxidativo em células criopreservadas/descongeladas derivadas da pele de onças-pintadas, visando à formação de um biobanco da espécie. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética e Uso de Animais (CEUA/UFERSA, no. 23091.0011507/2017-61) e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio, no. 57460-1). Para tanto, células somáticas em terceira passagem, isoladas a partir de fragmentos auriculares de cinco onças-pintadas mantidas em zoológicos da região nordeste do Brasil, foram criopreservadas por congelação lenta em uma solução composta por Meio Essencial Mínimo modificado por Dulbecco (DMEM) acrescido de 10% de soro fetal bovino, 10% de dimetilsulfóxido e 0,2 M de sacarose. Após duas semanas, amostras não criopreservadas e congeladas/descongeladas foram submetidas ao cultivo *in vitro* para realização das análises de viabilidade por ensaio de azul de tripan, atividade metabólica por meio do ensaio de (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil tetrazolium]; MTT), e avaliação dos níveis de estresse oxidativo por meio da quantificação das espécies reativas de oxigênio utilizando a sonda diacetato de 2’,7’-diclorodihidrofluoresceína (H2DCFDA). Além disso, níveis de apoptose foram mensurados usando laranja de acridina e brometo de etídio. Os dados foram expressos como média ± erro padrão e analisados por ANOVA-Tukey (P < 0,05). Após cinco repetições (um animal/uma repetição), a criopreservação não alterou a viabilidade das células criopreservadas (73,2 ± 9,8%), quando comparada às células não criopreservadas (92,5 ± 6,2%). Contudo, a criopreservação alterou o metabolismo das células criopreservadas (32,7 ± 2,8%), quando comparado aquelas não criopreservadas (100,0 ± 6,0%). Embora de acordo com o ensaio de apoptose, um percentual superior a 50% de células viáveis tenha sido observado em amostras criopreservadas, estas células apresentaram um aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio (1,4 ± 0,1 vs. 1,0 ± 0,1 unidades arbitrárias de fluorescência), evidenciando estresse oxidativo. Em conclusão, embora células criopreservadas de onças-pintadas não sofram alteração em sua viabilidade, tanto quando foi avaliada pelo azul de tripan, quanto pelo ensaio de laranja de acridina/brometo de etídio, elas sofrem danos quanto seu metabolismo, e estresse oxidativo. Mais estudos são necessários para o aprimoramento dos bancos de células nesta espécie, sendo o presente trabalho um passo importante para esses avanços e, consequentemente, para a conservação de populações de onças-pintadas no Brasil e no mundo.

**Palavras-chave:** biobancos, crioinjúrias, felídeos silvestres, fibroblastos.

**Agência financiadora:** Bolsista IC PICI – CNPq.