XXX Encontro Anual de Iniciação Científica
VII Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior
eaic 2021

ESTABELECIMENTO DA METODOLOGIA DE CULTIVO DE FIBROBLASTOS EM ORGANISMOS MODELO DE ESTUDOS BIOLÓGICOS

Karine Ferreira Colesel (PROVIC), Roberto Ferreira Artoni (Orientador), e-mail: rfartoni@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/DEBIOGEM.

Genética - Genética Animal

Palavras-Chave: *Cultivo celular, peixes, cromossomos.*

Resumo

Os peixes apresentam-se como um excelente modelo experimental para estudos das linhagens celulares, utilizadas para estabelecer e compreender aspectos biológicos. O presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento da cultura de células para obtenção de cromossomos mitóticos em peixes, aprimorando linhagens primárias de fibroblastos de espécies como o Pacu (*Piaractus mesopotamicus)* e Tambacu.

Introdução

O uso de cultura de células tem se apresentado como uma boa alternativa para obtenção de preparações cromossômicas de qualidade. Podendo ser uma opção em estudos citogenéticos de espécimes variadas, nas quais a aplicação dos protocolos comuns de preparação cromossômica não pode ser diretamente utilizada, ou ainda quando é desejado não haver o sacrifício dos animais (PAIM, 2018). Dentre as vantagens do cultivo celular, destacam-se a possibilidade de utilizar a nadadeira do peixe para obtenção das linhagens celulares, não prejudicando o animal devido a alta capacidade regenerativa do tecido (FRYER e LANNAN, 1994). Sendo assim, o presente estudo se justifica pela sua importância em pesquisar meios alternativos de preparações cromossômicas para peixes, colocando em prática a substituição de animais em grandes quantidades para se obter materiais cromossômicos de boa qualidade.

Material e Métodos

Para obtenção do cultivo celular utilizou-se fragmentos de tecido (nadadeira) de Pacu (*Piaractus mesopotamicus)* e Tambacu. A metodologia utilizada foi descrita por Paim (2018), com as devidas modificações. O crescimento celular foi acompanhado diariamente em microscópio invertido e a troca do meio realizada após adesão das células aos frascos de cultura. Quando 80% do frasco encontrava-se coberto por células foi realizado subcultivos e posteriormente um dos frascos foi utilizado para obtenção dos cromossomos mitóticos e outro para criopreservação das células.

Resultados e Discussão

As células começaram a aderir-se a superfície dos frascos entre 24 e 48 horas e apresentaram morfologia de fibroblastos, como pode observar na Figura 1A. Após a adesão as culturas de células primárias exibiram um crescimento celular rápido e em alguns dias as culturas já cobriam cerca de 80% da garrafa (Figura 1B) e quando subcultivadas as células apresentaram a adesão entre 1 a 3 dias. Os cromossomos obtidos do subcultivo foram analisados em um fotomicroscópio Olympus BX61 e, as melhores metáfases foram capturadas com o software e a cariotipagem foi realizada com auxílio do software Adobe Photoshop, onde foi possível encontrar 2n= 54 cromossomos para ambas as espécies.

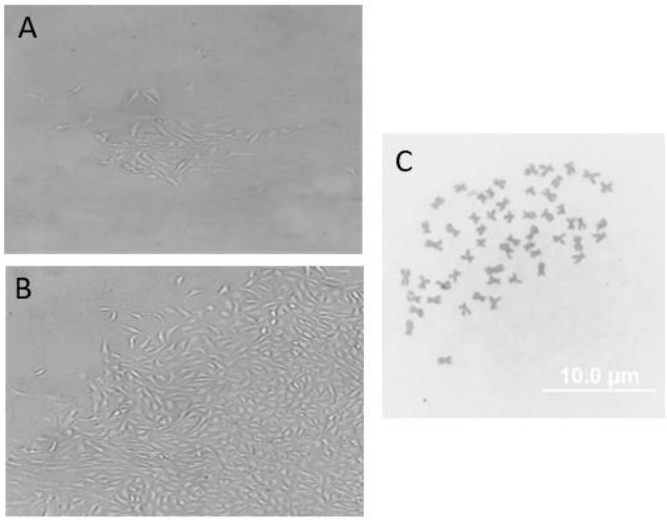


Figura 1. Cultivo celular de Tambacu. Fibroblastos aderidos aos frascos após 2 dias de cultivo celular e em crescimento, com formação de ilhas (A). Superfície com 80% de confluência celular (B). Cromossomos metafáficos obtidos a partir do cultivo celular de *Piaractus mesopotamicus*, com 2n=54 cromossomos (C).

Conclusão ou Conclusões

A metodologia apresentou-se como uma excelente alternativa para obtenção de preparações cromossômicas de qualidade, resultando na possível preservação do animal em casos de uso de tecido com alta capacidade de regeneração, como a nadadeira dos peixes. Tornando-se uma técnica menos agressiva se comparada a *in vivo*. A obtenção cromossômica das duas linhagens celulares, a partir do cultivo celular, obteve resultados semelhantes aos descritos na literatura (2n = 54).

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Ponta Grossa. À Cnpq, pela bolsa concedida e ao LabGev, toda estrutura e suporte para realização deste trabalho.

PAIM, Fabilene Gomes. Desenvolvimento de cultura de células aderentes em peixes neotropicais e sua aplicação em estudos citogenéticos. 2018.

FRYER, John L.; LANNAN, C. N. Three decades of fish cell culture: a current listing of cell lines derived from fishes. **Journal of Tissue Culture Methods**, v. 16, n. 2, p. 87-94, 1994.