

Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

Edson da Silva
(Organizador)



Atena
Editora

Ano 2020

Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

Edson da Silva
(Organizador)



Atena
Editora

Ano 2020

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Barão

Bibliotecário

Maurício Amormino Júnior

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremonesi

Karine de Lima

Luiza Batista 2020 by Atena Editora

Maria Alice Pinheiro Copyright © Atena Editora

Edição de Arte Copyright do Texto © 2020 Os autores

Luiza Batista Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Revisão Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora

Os Autores pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A Atena Editora não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Prof^a Dr^a Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof^a Dr^a Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof^a Dr^a Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Prof^a Dr^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof^a Dr^a Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Prof^a Dr^a Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof^a Dr^a Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Prof^a Dr^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof^a Dr^a Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

- Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^a Dr^a Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Prof^a Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof^a Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof^a Dr^a Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof^a Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Prof^a Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Prof^a Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof^a Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof^a Dr^a Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Prof^a Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Prof^a Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Tópicos multidisciplinares em ciências biológicas

3

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecário: Maurício Amormino Júnior
Diagramação: Camila Alves de Cremo
Edição de Arte: Luiza Batista
Revisão: Os Autores
Organizador: Edson da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T673 Tópicos multidisciplinares em ciências biológicas 3 [recurso eletrônico] / Organizador Edson da Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-226-5

DOI 10.22533/at.ed.265202407

1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Silva, Edson da.
CDD 570

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br


Ano 2020

APRESENTAÇÃO

A coleção “Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas” é uma obra composta por estudos de diferentes áreas das ciências biológicas e da saúde. A obra foi ampliada e recebeu mais 47 capítulos distribuídos em três volumes. Os e-books foram organizados por trabalhos resultantes de pesquisas, ensaios teóricos e vivências dos autores.

As ciências biológicas englobam áreas do conhecimento relacionadas às ciências da vida e incluem a biologia, a saúde humana e a saúde animal. Nesta obra, apresento textos completos e atuais sobre estudos desenvolvidos durante a formação acadêmica ou na prática profissional. Os autores são filiados a diversos cursos de graduação e de pós-graduação em ciências biológicas, saúde, tecnologia e áreas afins.

Em seus 15 capítulos o volume 3 aborda, de forma categorizada, os trabalhos de pesquisas e revisões narrativas ou ensaios teóricos que transitam nos vários caminhos da atuação em ciências biológicas e áreas correlatas. Neste volume você encontra textos sobre biologia celular e molecular, microbiologia, meio ambiente e muito mais.

Espero que as experiências compartilhadas neste volume contribuam para o enriquecimento de novas práticas profissionais com olhares multidisciplinares para as ciências biológicas e suas áreas afins. Agradeço aos autores que tornaram essa edição possível e desejo uma ótima leitura a todos.

Edson da Silva

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
CLONAGEM MOLECULAR DA L-ASPARAGINASE DE <i>PROTEUS VULGARIS</i> EM VETOR DE EXPRESSÃO PARA FUSÃO À PROTEÍNA SUMO	
Iago Almeida da Ponte Cícero Matheus Lima Amaral Davi Almeida Freire Arnaldo Solheiro Bezerra Bruno Bezerra da Silva Maria Izabel Florindo Guedes	
DOI 10.22533/at.ed.2652024071	
CAPÍTULO 2	6
PROTEASES AND THEIR INHIBITORS IN COAGULATION AND INFLAMMATION	
Gabriella Silva Campos Carelli Joelton Igor Oliveira da Cruz Luciana Maria Araújo Rabêlo Bruno Oliveira de Veras Geovanna Maria de Medeiros Moura Jorge Anderson Nascimento dos Santos Antônio Moreira Marques Neto Anderson Felipe Jácome de França Yago Queiroz dos Santos	
DOI 10.22533/at.ed.2652024072	
CAPÍTULO 3	17
CRIOPRESERVAÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS DE EHRlich	
Beatriz Tessaroto Buscarino Silvia Regina Kleeb Carlos Pereira Araújo de Melo	
DOI 10.22533/at.ed.2652024073	
CAPÍTULO 4	28
ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DE microRNAs ENVOLVIDOS POR INFECÇÕES POR ARBOVIROSES DA FAMÍLIA FLAVIVIRIDAE	
Marcos Daniel Mendes Padilha Gustavo Moraes Holanda Ludmilla Ferreira Costa	
DOI 10.22533/at.ed.2652024074	
CAPÍTULO 5	31
POTENTIAL PHARMACOLOGICAL APPLICATIONS OF LECTINS	
Geovanna Maria de Medeiros Moura Antônio Moreira Marques Neto Rayana Vanessa da Costa Lima Gabriella Silva Campos Carelli Joelton Igor Oliveira da Cruz Luciana Maria Araújo Rabêlo Anderson Felipe Jácome de França Bruno Oliveira de Veras Yago Queiroz dos Santos	
DOI 10.22533/at.ed.2652024075	

CAPÍTULO 6 43

PRODUÇÃO DE UM CONSÓRCIO ENZIMÁTICO VISANDO OBTENÇÃO DE ETANOL 2G A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA

Ignácio Martins Pinho
Ana Sílvia de Almeida Scarcella
Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli

DOI 10.22533/at.ed.2652024076

CAPÍTULO 7 67

CARACTERIZAÇÃO DA GERAÇÃO DO SULFETO DE HIDROGÊNIO (H₂S) EM TECIDOS DE CAMUNDONGOS COM SENESCÊNCIA ACELERADA (SAMP8)

Simone Aparecida Teixeira
Gabriel Luciano Gomes
Leandro Rodrigues
Flávia Neto de Jesus
Antonio Garcia Soares
Anderson Romério Azevedo Cerqueira
Karla Barroso Feitosa
Karina Barbosa Alves
Larissa Regina Silva de Oliveira
Eliana Hiromi Akamine
Marcelo Nicolás Muscará
Soraia Kátia Pereira Costa

DOI 10.22533/at.ed.2652024077

CAPÍTULO 8 79

UTILIZAÇÃO DE POLPA DE ABACATE NA PRODUÇÃO DE BIOTENSOATIVO POR *Bacillus cereus*

Sumária Sousa e Silva
Viviany Martins Bento
Lainy Waleska de Brito Sodré
José Wilson Pires Carvalho
Sumaya Ferreira Guedes
Raquel Aparecida Loss

DOI 10.22533/at.ed.2652024078

CAPÍTULO 9 91

REAÇÕES BIOCATALÍTICAS COMO POTENCIAL PARA OBTENÇÃO DE BIOPRODUTOS

Magno de Lima Silva
Wellyson Journey dos Santos Silva
Natasha Matos Monteiro
Allana Kellen Lima Santos Pereira

DOI 10.22533/at.ed.2652024079

CAPÍTULO 10 99

EFEITO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS NO CRESCIMENTO RADICULAR DE *CHLOROLEUCON DUMOSUM* (BENTH) G. P. LEWIS

Maria Janiele Barbosa de Farias Pereira
Roberta Samara Nunes de Lima
Alaide Maria Silva Santos
Joseliane Fernandes Miguel dos Santos
Wander Gustavo Botero
Flávia de Barros Prado Moura
Jakson Leite

DOI 10.22533/at.ed.26520240710

CAPÍTULO 11 106

ASPECTOS ECOLÓGICOS DA POLINIZAÇÃO de *Ruellia asperula* (MART. EX NEES) LINDAU EM ÁREAS DE CAATINGA SUBMETIDAS A DIFERENTES MANEJOS

Breno Costa Figueiredo
Mikael Alves de Castro
Sabrina Silva Oliveira
Gabrielle Kathelin Martins da Silva
Ana Carolina Sabino de Oliveira
Mychelle de Sousa Fernandes
Jefferson Thiago Souza

DOI 10.22533/at.ed.26520240711

CAPÍTULO 12 116

PLANTAS TÓXICAS ENCONTRADAS NOS PASTOS DA FAZENDA ESCOLA DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO, TERESÓPOLIS/RJ

Lucas Cavalcante de Moura
Luciana Cavalcante de Moura
Fernanda Stefany Nunes Costa
George Azevedo de Queiroz
André Vianna Martins

DOI 10.22533/at.ed.26520240712

CAPÍTULO 13 125

DADOS ALIMENTARES E REPRODUTIVOS DE *Knodus moenkhausii*, (EIGENMANN E KENNEDY, 1903), DA SUB-BACIA DO RIO QUEIMA-PÉ EM TANGARÁ DA SERRA-MT

Divina Sueide de Godoi
Joelson Viana Nogueira
Luiz Antonio Jacyntho
Cristiane Regina do Amaral Duarte
Jhonathan Ferreira Santos Maceno

DOI 10.22533/at.ed.26520240713

CAPÍTULO 14 137

ETNOCONHECIMENTO SOBRE POLINIZAÇÃO EM UMA COMUNIDADE RURAL DA REGIÃO SEMIÁRIDA

Bruna Letícia Pereira Braga
José Vinícius Oliveira Silva
Gabrielle Kathelin Martins da Silva
Fernanda Fernandes da Silva
Marlos Dellan de Souza Almeida
Célio Moura Neto
Jefferson Thiago Souza

DOI 10.22533/at.ed.26520240714

CAPÍTULO 15 149

AValiação DE TRABALHOS PUBLICADOS EM ENCONTROS UNIVERSITÁRIOS SOBRE O IMPACTO AMBIENTAL NO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL

Marcos Adelino Almeida Filho
Josiany Costa de Souza
Lucas Farias Pinheiro
Manuella Maciel Gomes
Isabelly Maria Barros de Lima
Itatiaia de Souza Sampaio
Lydia Dayanne Maia Pantoja

DOI 10.22533/at.ed.26520240715

SOBRE O ORGANIZADOR..... 162

ÍNDICE REMISSIVO 163

CRIOPRESERVAÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS DE EHRlich

Data de aceite: 01/07/2020

Beatriz Tessaroto Buscarino
UMESP – buscarinob@gmail.com

Silvia Regina Kleeb
UMESP – silvia.kleeb@metodista.br

Carlos Pereira Araújo de Melo
UMESP – carlos.melo@metodista.br

RESUMO: A criopreservação permite que células sejam conservadas por tempo indeterminado, proporcionando a retomada do desenvolvimento celular normal após o armazenamento em nitrogênio líquido. O tumor de Ehrlich é uma neoplasia experimental transplantável de origem epitelial maligna, espécie-específica e atualmente é mantido em animais no biotério da Universidade Metodista de São Paulo. O projeto para criopreservação das células tumorais de Ehrlich, aprovado no CEUA/Metodista 180/17, visa diminuir o uso de animais vivos utilizados para a manutenção dessas células. Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*). Os animais foram alojados em caixas, com água e comida, e mantidos no biotério da Universidade Metodista de São Paulo – São Bernardo do Campo, com temperatura controlada e ciclo de iluminação claro-escuro de 12 x 12 h (início às 7 horas).

Os animais receberam alimentação e água “ad libitum”. As células tumorais de Ehrlich foram injetadas em um camundongo (0,1 mL) por via intraperitoneal e após 7 dias o líquido ascítico foi aspirado (2 mL). Dentre estes 2 mL, 1 mL foi diluído (1/200) para verificar a viabilidade das células tumorais e 1 mL foi dividido em nove eppendorfs, em três eppendorfs com o crioprotetor DMSO (200 µL DMSO + 600 µL RPMI + 200 µL células), três eppendorfs com a junção dos crioprotetores DMSO+glicerol (100 µL DMSO + 100 µL glicerol + 600 µL RPMI + 200 µL células) e mais três eppendorfs com o crioprotetor glicerol (200 µL glicerol + 600 µL RPMI + 200 µL células), com o objetivo de serem congelados. O descongelamento foi realizado em banho maria a 37°C por 5 minutos. Em um tubo cônico graduado foi colocado 7 mL de RPMI + o conteúdo da amostra. Após a mistura, o tubo cônico graduado foi posto na centrífuga em uma velocidade de 1.000 rotações durante 5 minutos. Ao finalizar a centrifugação, a fibrina ficou concentrada no interior do tubo. Do conteúdo do tubo cônico graduado foi utilizado 0,2 – 0,3 mL para injetar nos camundongos e 10 µL foi misturado com 90 µL do azul de Trypan para analisar no microscópio, por meio da câmara de Neubauer, a viabilidade das células. Este processo foi realizado com as amostras 20 e

40 dias após o seu congelamento. Após 20 dias de congelamento, um eppendorf de cada crioprotetor foi descongelado e inoculado em dois camundongos cada, totalizando seis camundongos, na amostra de DMSO havia 33% de células viáveis, na de DMSO+glicerol 0% de células viáveis e na de glicerol 0,79% de células viáveis. No entanto, após 14 dias foi observado crescimento tumoral em um camundongo de cada amostra e nos outros não houve crescimento tumoral. Após 40 dias de congelamento, mais um eppendorf de cada crioprotetor foi descongelado e inoculado em dois camundongos cada, na amostra de DMSO havia 23,61% de células viáveis, na de DMSO+glicerol 8,71% de células viáveis e na de glicerol 2,11% de células viáveis. Após 14 dias não foi observado crescimento tumoral em nenhum camundongo. A partir do experimento pode-se observar que o crioprotetor DMSO obteve um desempenho maior em manter as células viáveis, visto que pela análise microscópica foi o que obteve uma maior porcentagem de células viáveis. Com 20 dias de congelamento obteve-se um crescimento tumoral de 50% em todos os crioprotetores. Com 40 dias de congelamento não houve crescimento tumoral.

PALAVRAS-CHAVE: Tumor de Ehrlich, criopreservação, DMSO, glicerol, viabilidade de células, nitrogênio líquido.

CRYOPRESERVATION OF EHRLICH TUMOR CELLS

ABSTRACT: The Ehrlich tumor is an experimental transplantable species-specific mouse neoplasm and its viability is currently possible through cell splitting in live animals at the vivarium of Universidade Metodista de São Paulo. The cryopreservation of Ehrlich tumor cells aims reducing the use of live animals in order to maintain the viability of these cells. The experiment was submitted and approved by CEUA-Metodista n° 189/17. Intraperitoneal injection of Ehrlich tumor cells was administered in receptor mice and ascitic fluid was collected after 7 days. About 200µL of this fluid was added to each cryoprotectant (200µL DMSO or 100µL DMSO+100µL glycerol or 200µL of glycerol) and 600µL of RPMI and the resulting compound was kept frozen for 20 and 40 days. The frozen cells were then thawed in a 37°C water bath for 5 minutes. The sample was added to a graduated tube with 7mL of RPMI. The mix was placed in a centrifuge with a speed setting of 200 rpm. Cell viability was evaluated by adding a Trypan Blue solution. Subsequently 0.3mL of this solution was inoculated into 6 animals. Tumor development in these animals was followed for 14 days. The following cell viability was found after analyzing the group of cells that were frozen for 20 days: DMSO 33%, DMSO+glycerol 0% e glycerol 0.79%. After 14 days of inoculation tumor growth was observed in only one of the mice of each sample. The procedure was repeated with the group of cells that were frozen for 40 days and the following cell viability was found: DMSO 23.61%, DMSO+glycerol 8.71% and glycerol 2.11%. After 14 days of inoculation no tumor growth was found in any of the mice. There was a considering variation of the cell viability when different protocols were used and when they were exposed to different times of cryopreservation. However, cryopreservation of cells was more efficient when only DMSO was used, with an

efficiency percentage of 33% and 23.61% after 20 and 40 days respectively. Tumor growth *in vivo* was observed in cells that were frozen for 20 days only. It is necessary to enhance this procedure in order to increase the cell viability and use it for cryopreservation in future research.

KEYWORDS: Ehrlich tumor, cryopreservation, DMSO, glycerol, cell viability, liquid nitrogen.

1 | INTRODUÇÃO

O tumor de Ehrlich é uma neoplasia transplantável maligna de origem epitelial e corresponde ao adenocarcinoma mamário de camundongo fêmea (Abdan, 2012), transplantado pela primeira vez por Paul Ehrlich, em 1906. Cresce em variadas espécies de camundongos, sob a forma ascítica quando inoculada na cavidade peritoneal e na forma sólida quando inoculada subcutaneamente. Os métodos atualmente utilizados para a manutenção *in vivo* do tumor são caros e dependem do uso de animais. Portanto, novos métodos para a preservação destas células tumorais precisam ser investigados e desenvolvidos (Santos; Kamila, 2015).

Pela capacidade das células tumorais de Ehrlich (CTE) de se proliferar em diversas espécies e por serem consideradas muito invasivas, o tumor tem sido utilizado como um modelo para vários estudos, tais como a influência do estresse sobre câncer (Palermo-Neto et al., 2001, Palermo-Neto et al., 2003), resposta imunológica ao tumor (Segura et al. 2000; Pinto, 2003), efeito antiangiogênico e antiproliferativo (Kumar et al., 2009; Islam, et al., 2012 Chougule et al., 2013), marcadores de proliferação celular (Silva et al., 2006), na avaliação do crescimento tumoral sob o efeito de toxinas (Mady, 2002), extratos vegetais (Rajeshkumar et al., 2002; Radhika et al., 2012), drogas anti-inflamatórias e agentes proteicos (Pal et al., 2001; Kar et al., 2012) e no estudo de neurotransmissores (Monshkov et al., 2013).

Apreservação criogênica é o ato de congelar e armazenar as células a uma temperatura muito baixa. O metabolismo celular cessa, e assim, quando as células são aquecidas e a água retorna ao estado líquido, a função celular retoma (Tedeschi; Paoli, 2011). Este método permite a redução do número de uso dos animais, assegurando a estabilidade genética e o armazenamento de células durante longos períodos de experimentação. Por outro lado, a criopreservação é um processo complexo que envolve muitos fatores que devem ser equilibrados para obter resultados satisfatórios (Santos; Kamila, 2015).

Um método de criopreservação é o ultra-rápida (vitrificação) constituído por exposição direta das células ao nitrogênio líquido ou a vapores, evitando assim a cristalização da água intracelular. Um dos princípios em que se baseia o método é refrigeração ultra-rápida das células imersas numa solução que incorpora os crioprotetores em alta concentração. A mistura a ser congelada não cristaliza, mas torna-se líquido viscoso e passa para um estado sólido (Fahy et al., 1984). Para evitar as injúrias induzidas pelas

baixas temperaturas é essencial o uso de agentes crioprotetores que proporcionem uma proteção celular e tecidual durante a redução da temperatura.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a ação de crioprotetores como o dimetilsulfóxido (DMSO), o glicerol, bem como a associação de ambos na criopreservação de células tumorais de Ehrlich.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho é parte integrante de um projeto mãe e foi encaminhado e aprovado pela CEUA/Methodista sob número 180/17 em 13.11.2017.

2.1 Animais

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*). Os animais foram alojados em caixas, com água e comida, e mantidos no biotério da Universidade Metodista de São Paulo – São Bernardo do Campo, com temperatura controlada e ciclo de iluminação claro-escuro de 12 x 12 h (início às 7 horas). Os animais receberam alimentação e água “ad libitum”.

2.2 Neoplasia transplantável

O tumor de Ehrlich é uma neoplasia transplantável maligna de origem epitelial e corresponde ao adenocarcinoma mamário de camundongo fêmea (Abdan, 2012), transplantado pela primeira vez por Paul Ehrlich, em 1906. Cresce em variadas espécies de camundongos, sob forma ascítica quando inoculada na cavidade peritoneal e na forma sólida quando inoculada subcutaneamente. No presente trabalho foi utilizado o tumor na sua forma ascítica.

2.3 Crioprotetores

O dimetilsulfóxido (DMSO) é um importante agente crioprotetor que possui alta capacidade de penetrar na célula devido ao fato de ser um solvente orgânico de baixo peso molecular (78 g/mol) e temperatura de congelação de 18,5 °C. É um subproduto de fácil acesso, podendo ser extraído da celulose. A composição química do DMSO permite a interação ou combinação com ácidos nucleicos, carboidratos, lipídeos, proteínas e muitas drogas sem alterar de forma irreversível a configuração das moléculas. O DMSO age interagindo com as membranas, atravessando-as rapidamente por meio de difusão (Castro, 2011).

O glicerol (CH₃H₈O₃) é um álcool polihídrico altamente permeável com peso molecular 92,10 g mol⁻¹ (Silva et al., 2003). Sua atividade de crioproteção foi inicialmente aplicada em 1913, quando Keith observou que a sua adição em variadas concentrações

(5-42%) em suspensão de *Escherichia coli* permitiu mantê-la viável por seis meses à temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. O glicerol penetra à membrana celular através da difusão passiva, permanecendo tanto na membrana quanto no citoplasma (Parks & Graham, 1992). Sua difusão é de 30 a 60 vezes mais lenta que a da água (Graham, 1996). Os efeitos protetores do glicerol são representados por propriedades coligativas, diminuição do ponto de congelamento com conseqüente redução das concentrações de eletrólitos na fração não congelada da amostra (Lovelock & Polge, 1954).

2.4 Delineamento experimental

As células tumorais de Ehrlich foram injetadas em um camundongo (0,1 mL) por via intraperitoneal e após 7 dias o líquido ascítico foi aspirado (2 mL). Dentre estes 2 mL, 1 mL foi diluído (1/200) para verificar a viabilidade das células tumorais e 1 mL foi utilizado para o congelamento com os crioprotetores e descongelados para análise de células após 20 dias e 40 dias.

2.4.1 Diluição do tumor de Ehrlich (1/200)

A diluição (Figura 1) é realizada para que possa ser feita a contagem das células. Para o procedimento foram utilizados três eppendorfs, RPMI (meio de cultura) e azul de Trypan.

Eppendorf 1: foi misturado 200 μL do líquido ascítico com 200 μL de RPMI.

Eppendorf 2: foi misturado 100 μL do conteúdo do eppendorf 1 com 900 μL de RPMI.

Eppendorf 3: foi misturado 10 μL do conteúdo do eppendorf 2 com 90 μL do azul de Trypan.

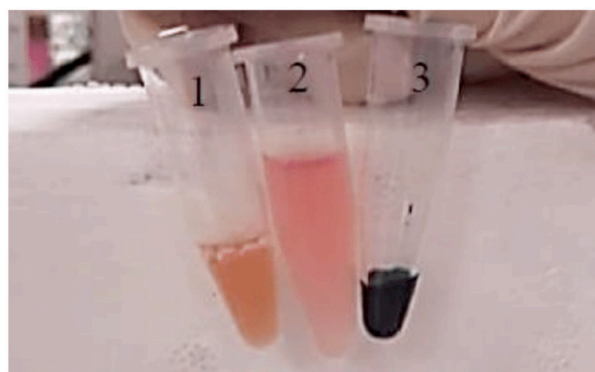


Figura 1: A figura demonstra o processo de diluição do tumor de Ehrlich, sendo representados os eppendorfs de 1 a 3 da esquerda para a direita.

2.4.2 Contagem de células viáveis

Após a diluição, o material do eppendorf 3 foi analisado por microscopia, com o auxílio da câmara de Neubauer, para a contagem das células vivas.

O azul de Trypan foi utilizado para discernir a viabilidade da célula, caso ela não seja

viável, sua membrana perde a permeabilidade e o azul de Trypan infiltra fazendo com que a célula adquira uma tonalidade azul (Figura 2A). Já com a célula viável isto não ocorre (Figura 2B).

Com a contagem na câmara de Neubauer foram obtidos os seguintes resultados:

Q1 = 1º Quadrante: 64 células viáveis.

Q2 = 2º Quadrante: 48 células viáveis.

Q3 = 3º Quadrante: 52 células viáveis.

Q4 = 4º Quadrante: 65 células viáveis.

$$\text{Fórmula: } \frac{Q1+Q2+Q3+Q4}{4} \times 10.000$$

$$\text{Conta: } \frac{64+48+52+65}{4} \times 10.000 = 572.500 \text{ células viáveis.}$$

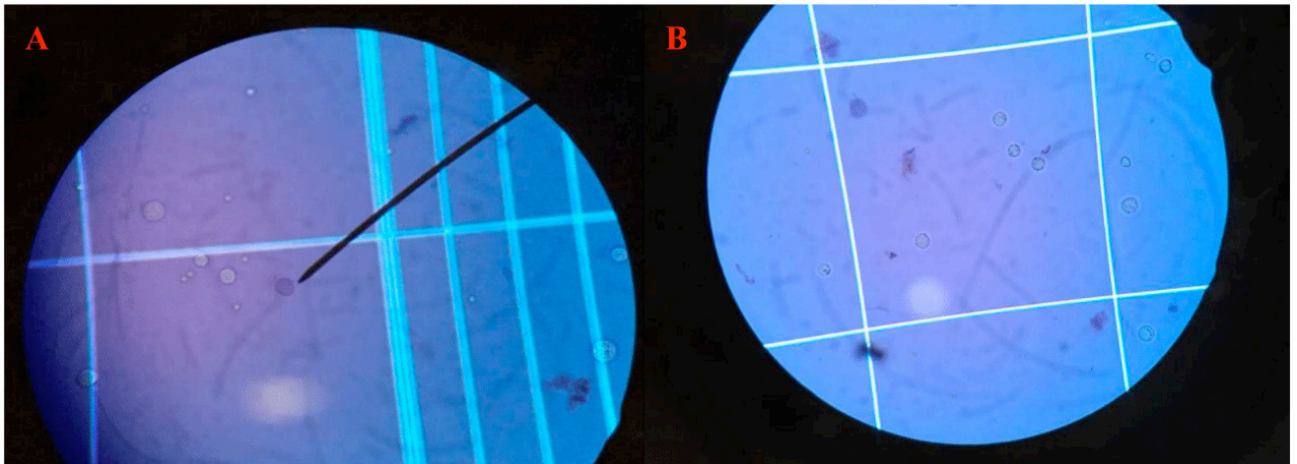


Figura 2: A figura demonstra em: A. Fotomicrografia de célula não viável (indicada pela ponteira) devido a penetração do azul de Trypan. B. Fotomicrografia de células viáveis sem a penetração do azul de Trypan.

2.4.3 Crioprotetores e congelamento

O experimento foi dividido em três grupos cada um com um crioprotetor, no grupo A continha DMSO, o grupo B glicerol e o grupo C DMSO+glicerol. O congelamento foi realizado em nitrogênio líquido a uma temperatura de -196°C .

Grupo A: em dois eppendorfs (A1 e A2) foram colocados $200 \mu\text{L}$ de DMSO + $600 \mu\text{L}$ de RPMI + $200 \mu\text{L}$ de líquido ascítico com células tumorais.

Grupo B: em dois eppendorfs (B1 e B2) foram colocados $200 \mu\text{L}$ de glicerol + $600 \mu\text{L}$ de RPMI + $200 \mu\text{L}$ de líquido ascítico com células tumorais.

Grupo C: em dois eppendorfs (C1 e C2) foram colocados $100 \mu\text{L}$ de DMSO + $100 \mu\text{L}$ de glicerol + $600 \mu\text{L}$ de RPMI + $200 \mu\text{L}$ de líquido ascítico com células tumorais.

2.4.4 Descongelamento

O descongelamento foi realizado em banho maria a 37°C por 5 minutos. Em um tubo cônico graduado foi colocado 7 mL de RPMI + o conteúdo do eppendorf. Após a mistura, o tubo cônico graduado foi posto na centrífuga em uma velocidade de 1.000 rotações durante 5 minutos. Ao finalizar a centrifugação, a fibrina ficou concentrada no interior do tubo. Do conteúdo do tubo cônico graduado foi utilizado 0,2 – 0,3 mL para injetar em dois novos camundongos para analisar o crescimento tumoral e 10 µL foi misturado com 90 µL do azul de Trypan para analisar no microscópio, por meio da câmara de Neubauer, a viabilidade das células. Este processo foi realizado com os eppendorfs A1, B1 e C1 20 dias após o congelamento e com os eppendorfs A2, B2 e C2 40 dias após o congelamento.

3 | RESULTADOS

Após 20 dias de congelamento em nitrogênio líquido os eppendorfs A1, B1 e C1 foram descongelados e foi feita a análise microscópica para realizar a contagem de células viáveis.

O eppendorf A1 que continha o crioprotetor DMSO apresentou uma média de 222.500 (33%) de células viáveis e uma média de 445.000 (66%) de células não viáveis.

O eppendorf B1 que continha o crioprotetor glicerol apresentou uma média de 7.500 (0,79%) de células viáveis e uma média de 932.500 (99,20%) de células não viáveis.

O eppendorf C1 que continha os crioprotetores DMSO+glicerol apresentou 0 (0%) de células viáveis e uma média de 110.000 (100%) de células não viáveis.

Para análise de crescimento tumoral o conteúdo de cada eppendorf foi injetado em dois novos camundongos e eles foram pesados antes e após 14 dias da injeção das células tumorais.

Camundongos	Peso inicial	Peso após injeção das células tumorais
I (eppendorf A1)	40 gramas	43 gramas
II (eppendorf A1)	50 gramas	50 gramas
III (eppendorf B1)	41 gramas	42 gramas
IV (eppendorf B1)	43 gramas	47 gramas
V (eppendorf C1)	43 gramas	44 gramas
VI (eppendorf C1)	46 gramas	48 gramas

Tabela 1: A tabela representa o peso dos camundongos antes e após 14 dias da primeira injeção das células tumorais. Observa-se que houve ganho de peso em todos os camundongos, exceto o camundongo II.

Após 40 dias de congelamento em nitrogênio líquido os eppendorfs A2, B2 e C2 foram descongelados e foi feita a análise microscópica para realizar a contagem de células viáveis.

O eppendorf A2 que continha o crioprotetor DMSO apresentou uma média de 372.500 (23,61%) de células viáveis e uma média de 1.205.000 (76,39%) de células não viáveis.

O eppendorf B1 que continha o crioprotetor glicerol apresentou uma média de 20.000 (2,11%) de células viáveis e uma média de 927.500 (97,89%) de células não viáveis.

O eppendorf C1 que continha os crioprotetores DMSO+glicerol apresentou 72.500 (8,71%) de células viáveis e uma média de 760.000 (91,29%) de células não viáveis.

Para análise de crescimento tumoral o conteúdo de cada eppendorf foi injetado em dois novos camundongos e eles foram pesados antes e após 14 dias da injeção das células tumorais.

Camundongos	Peso inicial	Peso após injeção das células tumorais
I (eppendorf A1)	35 gramas	35 gramas
II (eppendorf A1)	37 gramas	34 gramas
III (eppendorf B1)	45 gramas	45 gramas
IV (eppendorf B1)	33 gramas	33 gramas
V (eppendorf C1)	36 gramas	40 gramas
VI (eppendorf C1)	42 gramas	46 gramas

Tabela 2: A tabela representa o peso dos camundongos antes e após 14 dias da segunda injeção das células tumorais. Observa-se que não houve ganho de peso na maioria dos camundongos, apenas nos camundongos V e VI.

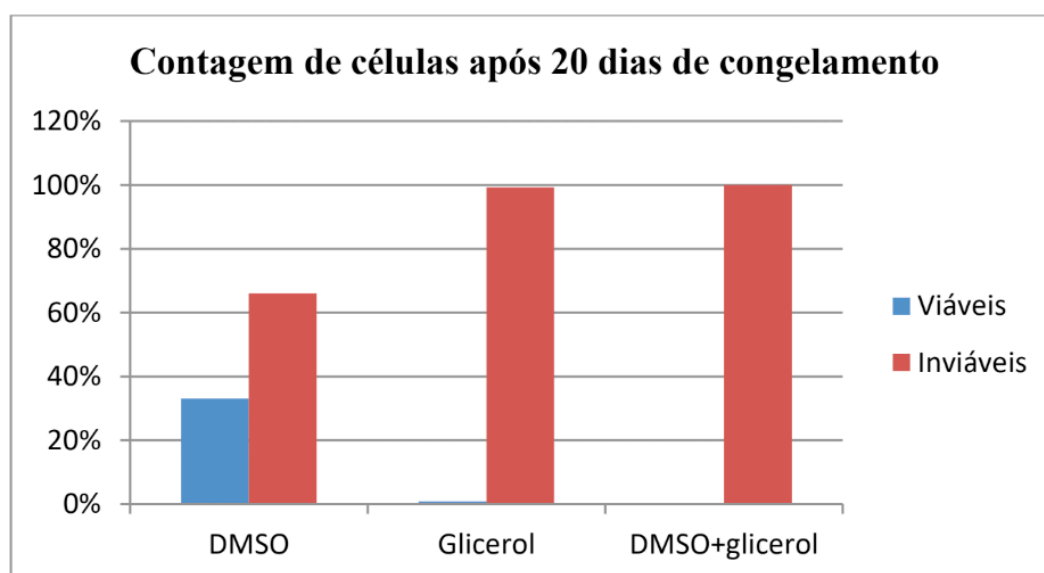


Figura 3: O gráfico mostra a porcentagem de células viáveis e inviáveis nos crioprotetores DMSO, glicerol e DMSO+glicerol após 20 dias de congelamento.

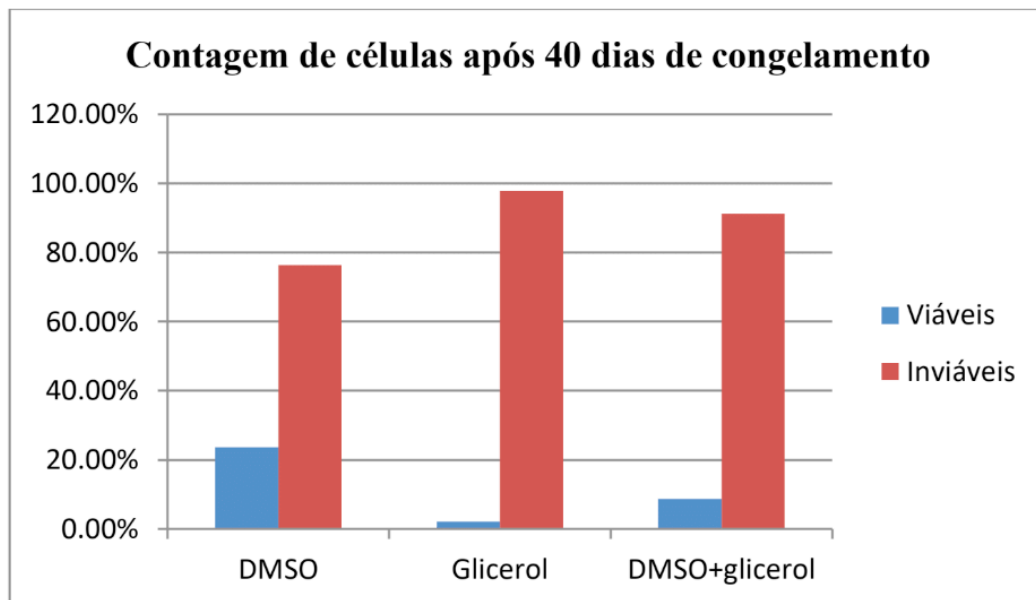


Figura 4: O gráfico mostra a porcentagem de células viáveis e inviáveis nos crioprotetores DMSO, glicerol e DMSO+glicerol após 40 dias de congelamento.

4 | DISCUSSÃO

Sabe-se que diferentes tipos de células podem precisar de diferentes protocolos de congelamento para que se obtenha sucesso no processo de criopreservação (LEIBO; MAZUR, 1971). Deste modo, é preciso considerar diversos fatores, tais como: morfologia das células, velocidade de congelamento, pH, estresse osmótico e tipo e concentração do agente crioprotetor, sendo este último um fator imprescindível (MAZUR, 1963; SANTOS et al., 2015).

Os crioprotetores fornecem proteção celular ao reduzirem as diferenças de osmolaridade entre os meios intra e extracelular (MERYMAN, 2007). A baixa taxa de viabilidade celular em nosso estudo indica que as CTE sofreram efeitos deletérios durante o processo de criopreservação. É conhecido que este processo induz danos à membrana celular, o que torna ainda mais importante o uso de crioprotetores, para que a desidratação celular seja facilitada, aumentando a permeabilidade da membrana à água e, com isso, a redução na formação de cristais de gelo intracelulares (SANTOS et al., 2015). Akhoondi et al. (2012), constataram que a permeabilidade à água é maior com DMSO quando comparado ao glicerol, assim ressaltando a capacidade do DMSO em diminuir a incidência dos cristais de gelo intracelulares.

A variação do peso corporal é utilizada como uma forma de avaliação do crescimento tumoral (SILVA; FREITAS; DOMINGUES, 2017). Enquanto a perda de peso tenha sido um parâmetro para medir a agressividade de proliferação do tumor de Ehrlich (SANTOS et al., 2015), nossos resultados apresentaram aumento de peso nos camundongos que chegaram a desenvolver o tumor, fato que pode ser explicado pela retenção de líquidos que ocorre na proliferação desse tumor (SILVA; FREITAS; DOMINGUES, 2017).

Os resultados das CTE criopreservadas com DMSO se apresentaram promissores,

uma vez que dentre os crioprotetores utilizados foi o que apresentou uma maior taxa de viabilidade (33%) após 20 dias, bem como crescimento tumoral e um dos camundongos utilizados. Após 40 dias de congelamento houve uma taxa de 23,61% de células viáveis, porém não houve crescimento tumoral.

Segundo Oliveira et al. (2010, p. 4) “Apesar de apresentar uma viabilidade de aproximadamente 25%, o crioprotetor Glicerol é considerado eficaz quando utilizado na criopreservação das células tumorais de Ehrlich”. Por outro lado, apesar de apresentar uma viabilidade de apenas 0,79%, o tumor conseguiu se desenvolver em um dos camundongos. Após 40 dias de congelamento apresentou uma taxa de viabilidade maior, 2,11%, no entanto, não houve crescimento tumoral.

Com a associação de DMSO+glicerol a taxa de viabilidade celular após 20 dias de congelamento foi de 0%, no entanto, um dos camundongos apresentou crescimento tumoral, sugerindo presença de células viáveis. Após 40 dias de congelamento a porcentagem de células viáveis foi de 8,71% e apesar de os camundongos apresentarem ganho de peso, não houve crescimento tumoral.

O desenvolvimento do tumor em apenas um dos camundongos de cada experimento suscita o questionamento de que a quantidade de 0,3 mL inoculada não seja suficiente para garantir a proliferação do tumor no animal. Segundo o Manual Básico de Oncologia Experimental Tumor de Ehrlich (2018), como a via de inoculação intraperitoneal suporta grandes volumes, a quantidade de células inoculadas é em média de 0,5 mL, garantindo o desenvolvendo do tumor na forma ascítica.

5 | CONCLUSÃO

A técnica desenvolvida na criopreservação das células tumorais de Ehrlich apresentou resultados positivos após 20 dias de congelamento apesar do baixo número de células viáveis, desenvolvendo o tumor em um camundongo de cada experimento (DMSO, glicerol e DMSO+glicerol). De acordo com os resultados o DMSO se mostrou mais eficaz apresentando uma maior taxa de viabilidade e quantidade de células. No entanto, futuros estudos e experimentos são necessários para o aprimoramento da técnica realizada, almejando prolongar o tempo de criopreservação e, conseqüentemente, a redução no uso de animais.

REFERÊNCIAS

ABDAN, M. Alfa-lipoic acid controls tumor growth and modulates hepatic redox state in Ehrlich-ascites-carcinoma-bearing mice. **Scientific World Journal**, 2012: 509838.

AGUIAR, T.D.F.; TEIXEIRA, M.F.S.; TELES, C.H.A.; MARTINS, G.R.; JÚNIOR, R.Q.B.; COSTA, E.C. Princípios básicos da criomicrobiologia: enfoque nos tipos de micro-organismos e nos principais agentes crioprotetores. **Acta Veterinária Brasilica**, v.6, p.80-93, 2012.

ALVES, S. P.; MELO, C. P. A. Criopreservação das células tumorais de ehrlich com dimetilsulfóxido em nitrogênio líquido. **Universidade Metodista de São Paulo**, 07-11, 2018.

CASTRO, S.V.; CARVALHO, A.A.; SILVA, C.M.G. Intracellular Cryoprotectant Agents: Characteristics and Use of Ovarian Tissue and Oocyte Cryopreservation. 2011. **Acta Scientiae Veterinariae**. 39(2): 957.

FAHY, G.; MACFARLANE, D. R.; ANGELL, C. A.; MERYMAN, H. T. Vitrification as an approach to cryopreservation. **Cryobiology**, 21(4):407-26, 1984.

JACO, L.S.; MELO, C. P. A. Avaliação do glicerol na criopreservação das células tumorais de ehrlich. **Universidade Metodista de São Paulo**, 08-12, 2018.

KUMAR, A.; D'SOUZA, S.S.; NAGARAJ, S.R.; GAONKAR, S.L.; SALIMATH, B.P.; RAI, K.M. Antiangiogenic and antiproliferative effects of substituted-1,3,4-oxadiazole derivatives is mediated by down regulation of VEGF and inhibition of translocation of HIF-1alpha in Ehrlich ascites tumor cells. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology Journal**. v.64, p.1221-33, 2009.

MADY, E.A. Antitumor and biochemical effects of Echis coloratus Crude venom on Ehrlich ascite carcinoma cells in vivo. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v.8, p.283-296, 2002.

MOSHKOV, D.A.; ROMANCHENKO, S.P.; PARNYSHKOVA, E.Y.; BEZGINA, E.N.; ZAICHKINA, S.I.; PAVLIK, L.L. Effect of dopamine on Ehrlich ascites carcinoma cells. **Cancer Biol Med**. V.9, p.242-247, 2012

PAL, S.; CHOUDHURI, T.; CHATTOPADHYAY, S.; BHATTACHARYA, A.; DATTA, G.K.; DAS, T. and SA, G. Mechanisms of curcumininduced apoptosis of Ehrlich's ascites carcinoma cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications Journal**, v. 288, p. 658-665, 2001.

PALERMO-NETO, J.; MASSOCO, C.O.; SOUZA, W.R. Effects of physical and psychological stressors on behaviour, macrophage activity, and Ehrlich tumor growth. **Brain, Behavior, and Immunity Journal**, v.17, p. 43-54, 2003.

PEGG, D. E. **Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols Methods**. In: Molecular Biology. 2nd edn. Totowa, 2007: Humana Press Inc., 348p.

RAJESHKUMAR, N.V.; JOY, K.L.; KUTTAN, G.; RAMSEWAK, R.S.; NAIR, M.G. and KUTTAN, R. Antitumour and anticarcinogenic activity of Phyllanthus amarus extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, p. 17-22, 2002.

SANTOS, M., KAMILA; **Evaluation of Different Methods of Cryopreservation of Ehrlich Tumor Cells**. Belo Horizonte: Research Gate, 2015.

SEGURA, J.A., BARBERO, L.G., MÁRQUEZ, J. Ehrlich ascites tumour unbalances splenic cell populations and reduces responsiveness of T cells to *Staphylococcus aureus* enterotoxin B stimulation. **Immunology Letters**, v. 74, p. 111– 115, 2000.

SILVA, A.E.; SANTOS, F.G.A.; CASSALI, G.D. Marcadores de proliferação celular na avaliação do crescimento do tumor sólido e ascítico de Ehrlich. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p.658-661, 2006.

TEDESCHI, R.; PAOLI, P. Collection and preservation of frozen microorganisms. **Methods in Molecular Biology Journal**, p. 313-326, 2011.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Ambientes Aquáticos 150, 152, 156, 158

Análise Documental 150, 152

Arbovírus 28, 29

Áreas Modificadas 107, 151

Asparaginase 1, 2, 3, 4, 5

Atividades Biológicas 32

Atributos Florais 107, 110

B

Biocatalisador 92

Biodiversidade 92, 125, 147, 155

Biomassa Lignocelulósica 43

C

Caatinga 99, 100, 101, 102, 106, 107, 108, 109, 110, 113, 114, 137, 138, 139, 144, 146, 147, 148, 151

Células Tumerais 1, 2, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27

Células Tumerais de Ehrlich 17, 27

Chloroleucon Dumosum 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105

Coagulação 7, 8

Conhecimento Tradicional 138, 139, 142, 144

Crescimento de Raiz 99, 100, 102

Criopreservação 17, 18, 19, 20, 25, 26, 27

D

Dieta 125, 130, 135

E

Ecologia 114, 115, 125, 135, 136, 148

Enzimas 3, 4, 7, 43, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 98, 104

Estudos Ambientais 150, 153

F

Fermentação Submersa 80, 82, 85, 88

Flavivírus 28, 29, 30

I

Impactos Ambientais 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 157, 158, 159, 160, 161

Inibidores de Proteases 7, 8

Intoxicação Por Plantas 116, 118

Inventário 116, 159

L

Lectina 32

Leucemia 1, 2

M

método do Peso da Gota 80

MicroRNAs 28, 29, 30

Mycothermus Thermophilus 43, 44, 49, 53, 54, 55, 58, 59, 60, 62, 63, 64

N

Nordeste 97, 104, 105, 110, 147, 150, 159, 160, 162

P

Pastagem 108, 109, 116, 118, 122

Plantas 16, 45, 99, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 112, 116, 117, 118, 121, 122, 123, 124, 137, 138, 139, 142, 143, 144, 146, 147, 148, 161

Polinização 106, 107, 108, 110, 111, 113, 114, 115, 137, 138, 139, 140, 141, 146, 147, 148

Proteases 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 33, 72

Proteína 1, 3, 4, 5, 28, 32, 70, 117

Proteus Vulgaris 1, 2, 3, 4, 37

R

Reações Químicas 92, 93

Recursos Florais 138, 144, 148

S

Substâncias Húmicas 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105

Sulfeto de Hidrogênio 67, 68

Sumo 1, 2, 3, 4, 5

T

Tensão Superficial 80, 83, 84, 85, 86, 87, 88

Trichoderma Reesei 43, 44, 49, 51, 52, 55, 57, 58, 61, 62, 64, 65

Tumor 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 27, 28, 29, 37, 39, 42

Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

 **Atena**
Editora

Ano 2020

Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

 **Atena**
Editora

Ano 2020