

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades

Atena
Editora
Ano 2023

Daniela Reis Joaquim de Freitas
(Organizadora)

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades

Atena
Editora
Ano 2023

Editora chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Editora executiva

Natalia Oliveira

Assistente editorial

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto gráfico

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Imagens da capa

iStock

Edição de arte

Luiza Alves Batista

2023 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2023 Os autores

Copyright da edição © 2023 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.

Open access publication by Atena

Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 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.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial**Ciências Biológicas e da Saúde**

Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso

Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília

Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília

Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto

Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
 Profª Drª Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes
 Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza
 Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
 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
 Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
 Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
 Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
 Profª Drª 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 Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
 Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
 Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
 Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
 Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia
 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. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
 Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDP
 Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
 Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
 Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
 Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal
 Profª Drª Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
 Profª Drª Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
 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 Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
 Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins
 Prof. Dr. Max da Silva Ferreira – Universidade do Grande Rio
 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
 Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
 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 Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará
 Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense
 Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria
 Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí
 Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
 Profª Drª Welma Emídio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Ciências biológicas: tendências temáticas, realidades e virtualidades

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Soellen de Britto
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizadora: Daniela Reis Joaquim de Freitas

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)	
C569	<p>Ciências biológicas: tendências temáticas, realidades e virtualidades / Organizadora Daniela Reis Joaquim de Freitas. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-258-0955-7 DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.557231601</p> <p>1. Ciências biológicas. I. Freitas, Daniela Reis Joaquim de (Organizadora). II. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 570</p>
Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

As Ciências Biológicas é o campo do conhecimento que estuda a vida sob seus diferentes aspectos, como a fauna, a flora e outros seres vivos — inclusive o ser humano — além da forma como ela interage com o meio ambiente no planeta como um todo. As pesquisas realizadas por décadas abordando essa área nos forneceu dados para discutirmos a origem, a evolução, a adaptação e o funcionamento das espécies, bem como as relações dos organismos entre si, o que é extremamente importante para a implementação de políticas de conservação dos recursos naturais e de manutenção de espécies ameaçadas em extinção. Por outro lado, as Ciências Biológicas consegue interagir em nível científico com áreas como a indústria, a tecnologia farmacêutica, a pesquisa de base, a educação, a biomedicina, a medicina etc.

Na obra aqui apresentada, “Ciências Biológicas: Tendências temáticas, realidades e virtualidades”, é proposta uma discussão sobre implementação de novas tecnologias, educação e conservação através de seus 10 capítulos, compostos por artigos científicos originais e revisões bibliográficas atuais, baseadas em trabalhos de pesquisa realizados em universidades e importantes centros de pesquisa. Por apresentar uma diversidade de temas bastante ampla em seu conteúdo, esta obra se torna perfeita para trazer ao seu leitor um olhar diferenciado, apresentando diferentes áreas profissionais se conectando e usando as Ciências Biológicas como fio condutor, agregando conhecimento atual e aplicado.

A Atena Editora, prezando pela qualidade, conta com um corpo editorial formado por mestres e doutores formados nas melhores universidades do Brasil para revisar suas obras; isto garante que você terá uma obra relevante e qualidade em suas mãos. Esperamos que você aproveite. Boa leitura!

Daniela Reis Joaquim de Freitas

CAPÍTULO 1 1

DESENVOLVIMENTO DE TRANSISTOR DE EFEITO DE CAMPO COM PORTA ESTENDIDA (EGFET) PARA QUANTIFICAÇÃO DA MASSA DE FÓSFORO REMOVIDA DE PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS NAS SESSÕES DE HEMODIÁLISE

Sergio Henrique Fernandes

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316011>

CAPÍTULO 227

CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSEO DE ANIMAIS DE COMPANHIA (CÃES E GATOS)

Leonardo Carlos Wendhausen de Oliveira

Andréa Gonçalves Trentin

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316012>

CAPÍTULO 338

ANÁLISE DE COMBUSTÍVEIS DE MOTORES CICLO OTTO NO BRASIL, NA ARGENTINA E NO PARAGUAI

Julia Proença Reis

Victória Guimarães Matos Santos

Gisel Chenard Díaz

Yordanka Reyes Cruz

Donato Alexandre Gomes Aranda

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316013>

CAPÍTULO 459

ANÁLISE ACERCA DA RELAÇÃO ENTRE A AGRICULTURA E A CRISE HÍDRICA NO BRASIL

Maria Jassiele Rodrigues Ferreira

Lucas Santos de Sousa

Joselita Brandão de Sant'Anna

Raphael da Silva Affonso

Larissa Leite Barbosa

Eleuza Rodrigues Machado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316014>

CAPÍTULO 579

EPICARPO DE FRUTA DO CONDE (*Annona squamosa*) COM ATIVIDADE INSETICIDA: UMA ALTERNATIVA NO CONTROLE DE *Aedes aegypti*

Kevyn Danuway Oliveira Alves

Ismael Vinicius de Oliveira

Ana Carolyna Diógenes Bezerra

Rita de Cassia Aquino

Douglas Arenhart França

Pedro Lucas Soares

Hilgarde Ferreira Pessoa

Ana Karolinne de Alencar França
 Yandra Thais Rocha da Mota
 Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316015>

CAPÍTULO 686

POTENCIAL ANTIPARASITÁRIO DE EXTRATOS DE *Physalis angulata* Linn.
 CULTIVADA *in vitro* SOB DIFERENTES QUALIDADES DE LUZES

Herbert Cristian de Souza
 Luís Cláudio Kellner Filho
 Wanderson Zuza Cosme
 Nicoli Dias Oliveira
 Iara Silva Squarisi
 Lizandra Guidi Magalhães
 Denise Crispim Tavares
 Márcio Luís Andrade e Silva
 Wilson Roberto Cunha
 Patrícia Mendonça Pauletti
 Fabiano Guimarães Silva
 Ester Gonçalves de Jesus
 Mario Ferreira Conceição Santos
 Ana Helena Januário

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316016>

CAPÍTULO 7 108

IMPORTÂNCIA DO PROFISSIONAL DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS PARA A
 PRESERVAÇÃO AMBIENTAL DO BRASIL

Larissa Batista Pereira
 Lucas Santos de Sousa
 Joselita Brandão de Sant'Anna
 Raphael da Silva Affonso
 Larissa Leite Barbosa
 Eleuza Rodrigues Machado

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316017>

CAPÍTULO 8 135

NOTAS SOBRE LA CONDUCTA *XYLOCOPA (NEOXYLOCOPA) AUGUSTI*
 LEPELETIER DE SAINT FARGEAU 1841, UNA ESPECIE NO NATIVA EN CHILE
 CENTRAL. ADEMÁS DOCUMENTAMOS LA PRESENCIA DE LA ESPECIE
 DEL GÉNERO *AGAPOSTEMON* EN SANTIAGO, CHILE

Alejandro Correa Rueda
 Javier Rendoll Cárcamo
 Ricardo Rozzi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316018>

CAPÍTULO 9 149

PROTEOMICA COMPARATIVA DE FOLHAS DE MARACUJÁ TRATADAS COM

METIL JASMONATO

Viviane Abrantes Perdizio
 Jucélia da Silva Araújo
 Olga Lima Tavares Machado
 Joelma Saldanha
 Jonas Perales
 Vanildo Silveira
 Tânia Jacinto

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.5572316019>

CAPÍTULO 10..... 164**INSÉTARIO VIRTUAL: UTILIZANDO AS REDES SOCIAIS NO ENSINO SOBRE OS INSETOS**

Fabiana Lazzerini da Fonseca Barros
 Eduarda Alves da Silva
 Nágila Aguiar Marques
 Luidi Eric Guimarães Antunes
 Eléia Righi

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.55723160110>

SOBRE A ORGANIZADORA 174**ÍNDICE REMISSIVO..... 175**

CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE TECIDO ADIPOSEO DE ANIMAIS DE COMPANHIA (CÃES E GATOS)

Data de submissão: 09/12/2022

Data de aceite: 02/01/2023

Leonardo Carlos Wendhausen de Oliveira

Universidade Federal de Santa Catarina
— UFSC
Florianópolis — Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/6696397852326543>

Andréa Gonçalves Trentin

Laboratório de Células-Tronco e
Regeneração Tecidual da Universidade
Federal de Santa Catarina — LACERT
(UFSC)
Florianópolis — Santa Catarina
<http://lattes.cnpq.br/6175285839739641>

RESUMO: As células estromais mesenquimais (CEM) vêm sendo extensivamente investigadas quanto ao seu potencial de uso terapêutico, tanto em humanos quanto em animais, devido à sua plasticidade, propriedades anti-inflamatória e imunorreguladora. Nesse contexto, as CEM de tecido adiposo (CEM-TA) representam uma boa alternativa, uma vez que podem ser obtidas de descartes cirúrgicos, como os de cirurgias eletivas de castração de cães e gatos que ocorrem rotineiramente nas clínicas veterinárias. Todavia, para explorar o potencial clínico

das CEM-TA, é necessário a caracterização *in vitro* dessas células. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo analisar comparativamente CEM-TA caninas e felinas no que se refere à migração e proliferação celular e alterações nucleares.

PALAVRAS-CHAVE: Cultura celular; biobanco; *Felis catus*; *Canis lupus familiares*.

COMPARATIVE CHARACTERIZATION OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS FROM ADIPOSE TISSUE OF COMPANION ANIMALS (DOGS AND CATS)

ABSTRACT: Mesenchymal stromal cells (MSCs) have been extensively investigated for their therapeutic potential both in humans and in animals, due to their plasticity, anti-inflammatory and immunoregulatory properties. In this sense, MSCs derived from adipose tissue (ADSCs) represent a good alternative, since they can be obtained from surgical discards, such as elective castration surgeries of dogs and cats that occur routinely in veterinary clinics. However, to explore the clinical potential of ADSCs, it is necessary to characterize these *cells in vitro*. Thus, this study aimed

to comparatively analyze canine and feline ADSCs concerning cell migration and proliferation and nuclear alterations.

KEYWORDS: Cell culture; companion animals; biobank; *Felis catus*; *Canis lupus familiares*.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Células-tronco

O termo 'célula-tronco' já possui mais de cem anos e foi utilizado em diferentes contextos com diferentes significados. Em 1868, Ernst Haeckel usou o termo para cunhar o organismo unicelular do qual derivam todos os seres multicelulares, porém na terceira edição do livro *Anthropogenie* (1877), ele o usa para nomear o ovócito após a fertilização. Já em 1896, o termo foi usado por Pappenheim para descrever células precursoras de hemácias e glóbulos brancos (RAMALHO-SANTOS; WILLENBRING, 2007). Atualmente, célula-tronco é uma definição funcional: são células precursoras, embrionárias ou adultas, capazes de se autorrenovar e dar origem a outros tipos celulares. Elas também podem ser classificadas com base no potencial de diferenciação da qual, indo do maior para o menor, se nomeia: totipotente, pluripotente e multipotente (CHAGASTELLES; NARDI, 2011; SOBHANI *et al*, 2017).

Um tipo de célula-tronco que vem ganhando destaque ultimamente, é célula estromal mesenquimal (CEM), que corresponde a células multipotentes com potencial de diferenciação ósseo, adiposo e cartilaginoso dentre outros (SOBHANI *et al*, 2017).

1.2 CEM

Inicialmente descritas por volta da década de 1970 por Friedenstein, Gorskaja e Kulagina (1976) na medula óssea de camundongo, como células aderentes ao plástico dos frascos de cultura e com morfologia similar à de fibroblasto (FRIEDENSTEIN; GORSKAJA; KULAGINA, 1976; LEVY *et al*. 2020) e com origem no estroma da medula óssea (BIANCO; ROBEY; SIMMONS, 2008). Caplan (1991) foi o primeiro a nomeá-las de 'célula-tronco mesenquimal', porém, Bianco, Robey e Simmons (2008) usaram esse termo para designar células progenitoras derivadas do mesoderma com potencial de diferenciação para linhagem de tecidos esqueléticos e não-esqueléticos, existente em outros tecidos conjuntivos além da medula óssea.

Com o crescente interesse nas CEM, surgiram inconsistências devido à grande variabilidade nos estudos. Para resolver esse problema o *International Society for Cellular Therapy* (ISCT) estabeleceu critérios para a sua definição, incluindo a capacidade de diferenciação *in vitro* para osteoblastos, condrócitos e adipócitos, presença de marcadores mesenquimais de superfícies, adesão ao plástico e morfologia fibroblastóide (DOMINICI *et al.*, 2006). Vale ressaltar que existem discussões sobre a classificação das CEM como células-tronco devido à sua grande heterogeneidade e forma de obtenção, lacuna de

conhecimento preciso sobre sua funcionalidade e localização *in vivo*, assim como a falta de marcadores adequados (LINDNER *et al.*, 2010; VISWANATHAN *et al.*, 2019). Por isso, o termo célula-tronco mesenquimal tem sido utilizado em menos frequência e substituído por células estromais mesenquimais (RENESME *et al.*, 2022), sendo assim a nomenclatura utilizada neste trabalho.

1.3 Potencial terapêutico das CEM

As CEM apresentam um grande potencial terapêutico, a exemplo de seu secretoma que inclui fatores de crescimento e imunomodulatórios capazes de ativar nas células alvo vias anti-apoptóticas e de sobrevivência promovendo melhora do reparo e da regeneração de tecidos (HARRELL *et al.*, 2019). Como apontado por Voga *et al.* (2020), apesar de inicialmente ter sido sugerido que essas células fossem capazes de se diferenciar e substituir as que tecido danificado, é atualmente aceito que suas propriedades terapêuticas sejam em grande parte promovidas pelo efeito parácrino, secreção de vesículas extracelulares, transferência de organelas e apoptose mediada por imunorregulação. Ademais, esses autores salientam a facilidade de obtenção das CEM a partir de diferentes tecidos incluindo o tecido adiposo e a medula óssea. Outro ponto positivo, é a menor implicação ética relacionada à sua utilização.

O interesse terapêutico repercute na medicina veterinária, a exemplo do trabalho de Olsson *et al.* (2021). Trata-se de uma revisão sistemática da literatura na qual se constatou que, tanto em transplantes autólogos quanto os alogênicos, as CEM do tecido adiposo (CEM-TA) correspondem a uma terapia promissora, uma vez que houve melhora nos quadros de dor, amplitude de movimento e claudicação de cães com osteoartrite nas articulações do quadril com apenas uma dose de células. Entretanto, esses mesmos autores alertam para a falta de padronização nos protocolos utilizados e de estudos que acompanhem os pacientes por um período maior de tempo.

Tendo em vista seu potencial terapêutico na medicina veterinária e falta de caracterização desse tipo celular, assim como o fato de que cães e gatos são animais de companhia que eventualmente necessitam de tratamento veterinário; se torna necessário uma melhor caracterização das CEM-TA dessas duas espécies. Desse modo, este trabalho avaliou de modo comparativo a proliferação e migração celular e alterações nucleares das CEM-TA de cães e gatos em cultura de células.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Para comparar os aspectos básicos das CEM-TA de cães (CEM-TAC) e de gatos (CEM-TAF) foram realizadas a análise do Tempo de Duplicação Celular (TDC), o ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese e o *cell scratch assay* para avaliação da proliferação, alterações nucleares e migração celular, respectivamente.

2.1 Obtenção das células

Foram utilizadas CEM-TA previamente isoladas e criopreservadas no biobanco do Laboratório de Células Tronco e Regeneração Tecidual (LACERT) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) a partir descartes de cirurgias eletivas de castração de cães e gatos (machos e fêmeas) (ovariosalpingohisterectomia e orquiectomias) realizadas em clínicas veterinárias conveniadas ao LACERT-UFSC na localidade de Florianópolis e região, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos tutores dos animais. Este trabalho conta com aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (Protocolo 1852210519, CEUA/UFSC), estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

2.1.1 Coleta, isolamento, cultivo e criopreservação

A coleta se constituiu das seguintes etapas: o fragmento de tecido adiposo da região abdominal foi recolhido de forma antisséptica, lavado duas vezes em solução tampão fosfato-salino (PBS – do inglês *Phosphate Buffered Saline*), e transferido para recipiente contendo Meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM – do inglês *Dulbecco's Modified Eagle Medium*) acrescido de solução de antibiótico a 0,5% contendo penicilina ([200 U/mL]; Sigma-Aldrich) e estreptomicina ([10 µg/mL]; Sigma-Aldrich). A seguir o tecido foi fragmentado em porções menores com bisturi (GONÇALVES *et al.*, 2018; LIMA, 2022) e submetido à dissociação enzimática. Para tanto, os fragmentos foram transferidos para tubos cônicos e incubados com colagenase tipo I por 60 minutos, seguido por solução de lise de hemácias por 10 minutos para depois ser centrifugado a 300g por 5 minutos para formar o *pellet* que foi ressuscitado no meio de cultura acima e filtrado em malha com poros de 40 µm. A suspensão celular resultante foi semeada em garrafa de cultura de cultivo e mantida a 37°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade até atingirem a confluência de 80%. O meio de cultura foi trocado a cada 2 dias de cultivo. Após a confluência, as monocamadas foram lavadas com PBS e dissociadas com solução de tripsina/ ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) para descolamentos das células da garrafa de cultura. O procedimento foi repetido até a passagem 3 (P3) para a realização dos experimentos. (LIMA, 2022; ZOMER, 2018).

Para o processo de criopreservação, amostras de 1×10^6 células foram ressuscitadas em solução criopreservadora (DMEM com 10% soro fetal bovino – SFB – acrescido de 10% dimetilsulfóxido) e mantida em nitrogênio líquido. O descongelamento foi realizado em DMEM/10% SFB seguido de centrifugação a 300g por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e as células semeadas em garrafas de cultivo (LIMA 2022).

2.2 Análise do tempo de duplicação celular

Para avaliar a proliferação, CEM-TA de ambas as espécies foram semeadas em cinco poços de placas de cultivo. Em intervalos de 24 horas (24, 48, 72, 96 e 120 horas), as células de cada poço foram descoladas por tripsinização como descrito acima e contadas utilizando-se da câmara de Neubauer. Esse procedimento se baseou no protocolo estabelecido por Lima (2022) e Gonçalves *et al.* (2018) com alterações e aplicada a seguinte fórmula de acordo com Roth (2006):

$$\text{TDC} = \frac{\text{Duração (log2)}}{\log (\text{Concentração final}) - \log (\text{Concentração inicial})}$$

2.3 Cell scratch assay

Sua realização se deu com base nos procedimentos de Lima (2022), Zhang *et al.* (2013) e Zomer *et al.* (2019) com alterações. Para tanto, 2×10^4 células por poço foram cultivadas em triplicata até atingirem 80% de confluência. As monocamadas foram então incubadas com 0,5 mg/mL mitomicina diluída no meio de cultura durante 2 horas. Após lavagem com PBS foram realizadas lesões na monocamada por raspagem em forma de cruz com ponteiros de 200 μ L esterilizada. Após nova lavagem, as culturas foram mantidas nas condições de cultivo como descrito no Item 2.1.1. O fechamento da lesão foi mensurado a intervalos de 24 horas com auxílio do software ImageJ (NIH).

2.4 Ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese

Para tanto, as culturas celulares foram incubadas em 5mg/ml de citocalasina B a 37°C por 48 horas. A seguir, as células foram descoladas da placa de cultivo em solução de tripsina/EDTA como descrito previamente no item 2.1.1. O precipitado celular foi mantido por 3 minutos em solução hipotônica (1% DMEM, 0,075% cloreto de potássio em água destilada). Por fim, as células foram fixadas em lâminas histológicas (90% de metanol e 10% de ácido acético por 30 minutos), coradas com 0,5% de Giemsa e observadas em microscópio de luz (ZOMER 2019; FENECH, 2007).

Para contar as alterações nucleares e o número de núcleos foi seguido os critérios estabelecidos por Fenech *et al.* (2003), utilizando-se a equação para calcular o Índice de Divisão Nuclear (NDI):

$$\text{NDI} = \frac{(\text{M1} + 2 \cdot \text{M2} + 3 \cdot \text{M3} + 4 \cdot \text{M4})}{\text{N}}$$

Onde N é o número de células totais viáveis das quais se contaram quinhentas para cada doador. Enquanto M1, M2, M3 e M4 se referem a células com uma quantidade de núcleos de um a quatro respectivamente (FENECH, 2007).

3 | RESULTADOS

3.1 Tempo de duplicação celular

O gráfico da Figura 1 demonstra a curva de crescimento das CEM-TAC e CEM-TAF. O TDC das CEM-TAC foi de 21,95 horas e o das CEM-TAF de 43,14 horas.

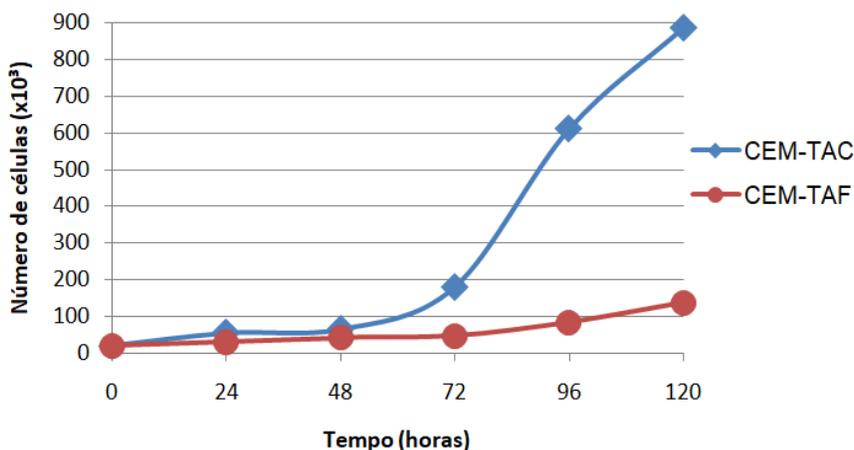


Figura 1 – Gráfico de comparação entre as curvas de crescimento de CEM-TAC e CEM-TAF

Fonte: Elaborado pelos autores

CEM	CEM-TAF	CEM-TAC
TDC (horas)	43,14	21,95

Tabela 1 – Alterações nucleares

Fonte: Elaborado pelos autores

Com isso pode-se verificar que as células as CEM-TAC apresentam maior proliferação e levam menos tempo para duplicar. Além disso, foi observado um aumento do crescimento celular a partir de 72 horas de cultivo nos dois casos, porém mais acentuado para as CEM-TAC.

3.2 Cell scratch assay

Esse ensaio revelou que as CEM-TAF fecharam a ranhura mais rapidamente que as CEM-TAC de modo a não apresentar nenhuma abertura após 48 horas. Também pode ser observado que o desvio padrão (DP) é maior nas 24 horas anteriores ao fechamento total.

Vale ressaltar que na Tabela 2 se apresenta as médias das triplicatas e o DP, e também que valores de 100% significam que a ranhura está completamente aberta e de 0%, completamente fechada.

Poço	0 Horas	24 Horas	48 Horas	72 Horas
CEM-TAF	100% DP=0	19,20% DP=14,3	0% DP=0	0% DP=0
CEM-TAC	100% DP=0	70,52% DP=2,3	38,24% DP=14,85	0% DP=0

Tabela 2 – Fechamento de ranhura

Fonte: Elaborado pelos autores

3.3 Ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese

Como já previamente descrito no item 2.4., os núcleos foram contados e classificados nas categorias M1, M2, M3 e M4. As CEM-TAF apresentam um maior número de células M2 enquanto as CEM-TAC são mais numerosas em M3 e M4. Além disso, as CEM-TAC apresentaram um NDI maior que as CEM-TAF como demonstrado na Tabela 3.

Foi avaliada a presença das alterações nucleares micronúcleos (MNI), pontes nucleoplasmáticas (NPB) e brotos (NBUD), demonstrado na Tabela 4.

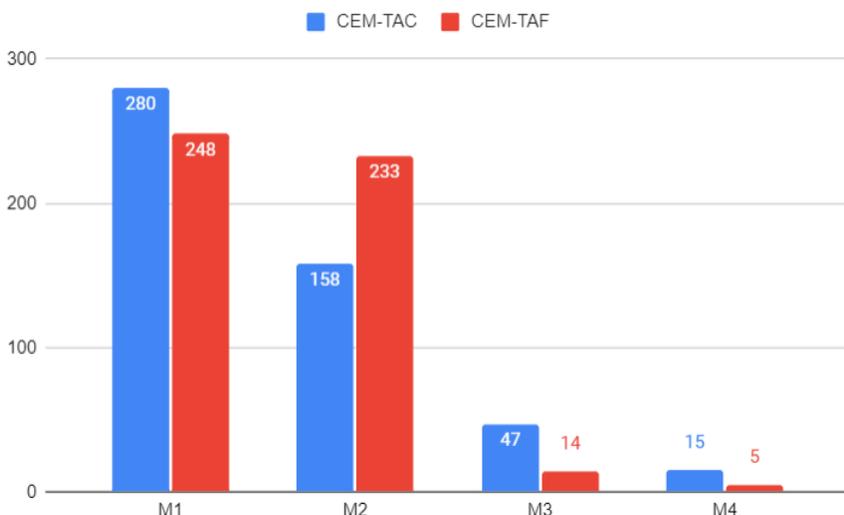


Figura 2 – Gráfico comparativo do número de células contadas

Fonte: Elaborado pelos autores

Doadores	CEM-TAF	CEM-TAC
NDI	1,5	1,6

Tabela 3 – NDI

Fonte: Elaborado pelos autores

Alterações	CEM-TAF	CEM-TAC
MNI	2	9
NPB	2	11
NBUD	4	5

Tabela 4 – Alterações nucleares

Fonte: Elaborado pelos autores

4 | DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram maior proliferação das CEM-TAC em relação às CEM-TAF pela análise da sua curva de crescimento, especialmente após as 72 horas de cultivo e maior presença de células classificadas como M3 e M4, acompanhado de maior número de alterações nucleares. Ressalta-se, no entanto, a necessidade de melhor caracterização de ambas as linhagens com relação à estabilidade nuclear, à senescência replicativa e às características morfológicas de células senescentes como descrito por Bonab *et al.* (2006).

Apesar do cultivo ter sido similar para as CEM-TAC e CEM-TAF, foi obtido um maior número de alterações nucleares nas primeiras. Entretanto deve-se considerar as limitações do corante Giemsa e sua tendência a levar a falsos positivos (TAKEIRI, 2017). É possível que CEM-TAC atinjam a senescência replicativa em mais cedo devido ao maior número de mitoses do que as CEM-TAF e resultando assim em maior número de alterações nucleares. Destaca-se o maior número de M3 e M4 em CEM-TAC. Efeito similar foi descrito por Delben *et al.* (2021) em que as CEM-TA da face humana apresentavam maior integridade genômica, proliferavam mais devagar e indicavam menor envelhecimento em comparação às de origem abdominal. Por outro lado, apesar das CEM-TAF apresentarem menor proliferação, demonstraram maior migração uma vez que fecharam a ranhura na monocamada mais rapidamente. Também se torna preciso salientar que tanto CEM-TAF quanto CEM-TAC apresentaram uma maior variação nas 24 horas que antecederam o fechamento completo. Mais testes são necessários para confirmar o resultado, especialmente ensaio de *scratch* com menores intervalos de tempo (como 12 horas, por exemplo) e da utilização de outros corantes junto ao Giemsa no ensaio de micronúcleo com bloqueio de citocinese.

Ao considerar o contexto do qual pesquisas de terapias celular na medicina veterinária tem usado transplantes de CEM com melhora no quadro de cães com osteoartrite (OLSSON *et al.*, 2021). Ademais, foi observada melhora na locomoção de ratos com injúria na medula espinal promovido pelo transplante de CEM de derme humana (MELO *et al.*, 2016). Em conjunto esses resultados demonstram a necessidade de aprofundamento dos ensaios *in vivo* no intuito de descrever de maneira mais minuciosa o comportamento de migração das CEM-TAF e das CEM-TAC, preferencialmente com um acompanhamento do animal por mais de 6 meses. A falta de estudos que vão para além desse período é uma

limitação para se demonstrar a efetividade de algumas terapias como apontada por de Olsson *et al.* (2021). Porém também se apresenta a demanda de testes *in vitro* do cultivo dessas linhagens para desvendar quais mecanismos geram essas diferenças.

REFERÊNCIAS

BIANCO, Paolo *et al.* **Mesenchymal Stem Cells: revisiting history, concepts, and assays.** *Cell Stem Cell*, [S.L.], v. 2, n. 4, p. 313-319, abr. 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2008.03.002>. Acesso em: 21 jul. 2022.

BONAB, Mandana Mohyeddin *et al.* **Aging of mesenchymal stem cell in vitro.** *Bmc Cell Biology*, [S.L.], v. 7, n. 1, 10 mar. 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2121-7-14>. Acesso em: 21 jul. 2022.

CAPLAN, Arnold I. **Mesenchymal stem cells.** *Journal Of Orthopaedic Research*, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 641-650, set. 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jor.1100090504>. Acesso em: 21 jul. 2022.

CHAGASTELLES, Pedro C; NARDI, Nance B. **Biology of stem cells: an overview.** *Kidney International Supplements*, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 63-67, set. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/kisup.2011.15>. Acesso em: 21 jul. 2022.

DOMINICI, M. *et al.* **Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells.** The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 315-317, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/14653240600855905>. Acesso em: 21 jul. 2022.

DELBEN, Priscilla Barros *et al.* **Human adipose-derived mesenchymal stromal cells from face and abdomen undergo replicative senescence and loss of genetic integrity after long-term culture.** *Experimental Cell Research*, [S.L.], v. 406, n. 1, p. 112740-69, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112740>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112740>. Acesso em: 20 set. 2022.

FENECH, M. *et al.* **HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures.** *Mutation Research/ Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, [S.L.], v. 534, n. 1-2, p. 65-75, jan. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5718\(02\)00249-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5718(02)00249-8).

FENECH, Michael. **Cytokinesis-block micronucleus cytome assay.** *Nature Protocols*, [S.L.], v. 2, n. 5, p. 1084-1104, maio 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2007.77>. Acesso em: 21 jul. 2022.

FRIEDENSTEIN, A. J.; GORSKAJA, J.F.; KULAGINA, N.N. **Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs.** *Experimental Hematology*. [S.L.], v. 4 n. 5, p. 267-274, set. 1970. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/976387> . Acesso em: 21 jul. 2022.

GONÇALVES, Natália Nardeli *et al.* **Distinct features of rabbit and human adipose-derived mesenchymal stem cells: implications for biotechnology and translational research.** *Stem Cells And Cloning: Advances and Applications*, [S.L.], v. 11, p. 43-54, out. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2147/sccaa.s175749>. Acesso em: 21 jul. 2022.

HARRELL, Carl *et al.* **Molecular Mechanisms Responsible for Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Secretome.** *Cells*, [S.L.], v. 8, n. 5, p. 467-467, 16 maio 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/cells8050467>. Acesso em: 21 jul. 2022.

LEVY, Oren *et al.* **Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies.** *Science Advances*, [S.L.], v. 6, n. 30, 24 jul. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.aba6884>. Acesso em: 21 jul. 2022.

LINDNER, Ulrich *et al.* **Mesenchymal Stem or Stromal Cells: toward a better understanding of their biology?.** *Transfusion Medicine And Hemotherapy*, [S.L.], v. 37, n. 2, p. 75-83, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1159/000290897>. Acesso em: 21 jul. 2022.

LIMA, Victor Juan de Souza. **Estudo da biologia das células estromais mesenquimais de tecido adiposo canino.** 2022. 47 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/233027>. Acesso em: 21 jul. 2022.

MELO, Fernanda Rosene *et al.* **Transplantation of Human Skin-Derived Mesenchymal Stromal Cells Improves Locomotor Recovery After Spinal Cord Injury in Rats.** *Cellular And Molecular Neurobiology*, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 941-947, 10 ago. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10571-016-0414-8>. Acesso em: 21 jul. 2022.

OLSSON, Débora Cristina *et al.* **Administration of mesenchymal stem cells from adipose tissue at the hip joint of dogs with osteoarthritis: a systematic review.** *Research In Veterinary Science*, [S.L.], v. 135, p. 495-503, mar. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.11.014>. Acesso em: 21 jul. 2022.

RAMALHO-SANTOS, Miguel; WILLENBRING, Holger. **On the Origin of the Term “Stem Cell”.** *Cell Stem Cell*, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 35-38, jun. 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2007.05.013>. Acesso em: 21 jul. 2022.

RENESME, Laurent *et al.* **Definition and Characteristics of Mesenchymal Stromal Cells in Preclinical and Clinical Studies: a scoping review.** *Stem Cells Translational Medicine*, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 44-54, 1 jan. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/stcltm/szab009>. Acesso em: 25 jul. 2022.

ROTH V. **Calculate the doubling time of your cells.** 2006. Disponível em: <http://www.doubling-time.com/compute.php>. Acesso em: 21 jul. 2022.

SOBHANI, A. *et al.* **Multipotent Stem Cell and Current Application.** *Acta Medica Iranica*, [S.L.], v. 55, n. 1, p.6-23, dec. 2017. Disponível em: <https://acta.tums.ac.ir/index.php/acta/article/view/4962>. Acesso em: 21 jul. 2022.

TAKEIRI, Akira *et al.* **Giemsa-stained pseudo-micronuclei in rat skin treated with vitamin D3 analog, pefcalcitol.** *Genes And Environment*, [S.L.], v. 39, n. 1, 1 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s41021-017-0077-9>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5452393/>. Acesso em: 19 set. 2022.

VISWANATHAN, S. *et al.* **Mesenchymal stem versus stromal cells: international society for cell & gene therapy (isct®) mesenchymal stromal cell committee position statement on nomenclature. Cytotherapy**, [S.L.], v. 21, n. 10, p. 1019-1024, out. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.08.002>. Acesso em: 25 jul. 2022.

VOGA, Metka *et al.* **Stem Cells in Veterinary Medicine—Current State and Treatment Options. Frontiers In Veterinary Science**, [S.L.], v. 7, 29 maio 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2020.00278>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ZHANG, Min *et al.* **A simple microfluidic strategy for cell migration assay in an in vitro wound-healing model. Wound Repair And Regeneration**, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 897-903, 17 out. 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/wrr.12106>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ZOMER, Helena Debiazi. **DERME VERSUS TECIDO ADIPOSE: INFLUÊNCIA DA FONTE DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS EM ENGENHARIA DE TECIDOS PARA O REPARO CUTÂNEO**. 2018. 201 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/198237>. Acesso em: 21 jul. 2022.

ZOMER, Helena Debiazi *et al.* **In vitro comparative study of human mesenchymal stromal cells from dermis and adipose tissue for application in skin wound healing. Journal Of Tissue Engineering And Regenerative Medicine**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 729-741, 21 mar. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/term.2820>. Acesso em: 21 jul. 2022.

A

Abeja carpintera 135, 137, 139

Agricultura 50, 59, 60, 62, 66, 69, 70, 74, 75, 76, 106, 111, 113, 127, 141

Animais de companhia 27, 29

Annona squamosa 79, 80, 81, 82, 83, 84

Arboviroses 80

B

Biobanco 27, 30

C

Camapu 88

Chile central 135, 137, 139, 140

Combustíveis fósseis 38, 53, 55, 115

Crise hídrica 59, 60, 62, 64, 65, 75, 76, 77, 78

Cultura celular 27

Cultura de tecidos 88, 89, 90

D

Defesa vegetal 150, 152, 153, 156, 158, 159, 160, 161

Degradação ambiental 108, 109, 111, 116, 121, 123, 129

Disponibilidade, distribuição e consumo de água 59, 60, 62

E

Educação ambiental 60, 73, 108, 109, 111, 121, 124, 125, 127, 128, 129, 130, 131, 133, 134

Entomologia 164, 165, 167, 172, 173

Etanol 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 55, 56, 57, 58, 82

Extratos 80, 81, 82, 83, 84, 86, 87, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 155

F

Facebook 164, 165, 167, 168, 170, 171, 172

Felis catus 27, 28

Filmes finos 2

Fosfato 1, 2, 4, 5, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 30, 94, 175

H

Hemodiálise 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 175

História da Biologia 108, 109, 111, 127

I

Insetário 164, 165, 167, 168, 171, 172

Instagram 164, 165, 167, 168, 171

J

Jasmonato 149, 150, 152, 153, 158, 159, 160

L

Leishmania amazonensis 88, 91

M

Maracujá 149, 150, 151, 152, 155, 158, 159, 160, 161, 162

Meio ambiente 42, 74, 78, 79, 109, 110, 111, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 165

Motor de combustão interna 38, 56

Motores de ciclo Otto 38

O

Óxido de alumínio 1, 2, 9, 10, 11, 23

P

Polinizador 135, 137, 139, 140

Preservação ambiental 108, 109, 110, 111, 167

Produtos naturais 80, 83

Proteômica 150, 153, 160

R

Resposta a estresse 150

S

Schistosoma mansoni 88, 91, 104, 105, 106, 107

Sustentabilidade 39, 56, 59, 60, 62, 121, 124, 129, 130, 132, 133

T

Tecido adiposo 27, 29, 30, 36, 37

Transistor de efeito de campo 1, 2, 3, 4, 176

X

Xylocopa augusti 135, 136, 141, 142

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades


Ano 2023

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:

Tendências temáticas, realidades
e virtualidades