



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

LEONARDO VITORINO COSTA DE AQUINO

**DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA, MORFOMÉTRICA, ULTRAESTRUTURAL E
PROLIFERATIVA DO PAVILHÃO AURICULAR APICAL DE PREÁS, *Galea spixii*
(WAGLER, 1831)**

MOSSORÓ-RN

2019

LEONARDO VITORINO COSTA DE AQUINO

**DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA, MORFOMÉTRICA, ULTRAESTRUTURAL E
PROLIFERATIVA DO PAVILHÃO AURICULAR APICAL DE PREÁS, *Galea spixii*
(WAGLER, 1831)**

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Alexsandra
Fernandes Pereira

MOSSORÓ–RN

2019

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do autor, sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu respectivo autor sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas
da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, com os dados fornecidos pelo autor

A657d Aquino, Leonardo Vitorino Costa de.

 Descrição morfológica, morfométrica, ultraestrutural
e proliferativa do pavilhão auricular apical de preás,
Galea spixii (WAGLER, 1831) / Leonardo Vitorino Costa de
Aquino. - 2019.

 60 f. : il.

 Orientadora: Alexsandra Fernandes Pereira.
Monografia (graduação) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Curso de Biotecnologia, 2019.

 1. Roedores silvestres. 2. Gênero *Galea*. 3. Análises
histológicas. 4. Microscopia eletrônica de varredura. I.
Pereira, Alexsandra Fernandes, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

LEONARDO VITORINO COSTA DE AQUINO

**DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA, MORFOMÉTRICA, ULTRAESTRUTURAL E
PROLIFERATIVA DO PAVILHÃO AURICULAR APICAL DE PREÁS, *Galea spixii*
(WAGLER, 1831)**

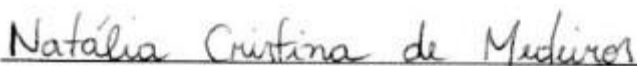
Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Defendida em: 30/07/2019.

BANCA EXAMINADORA


(Profa. Dra. Alexsandra Fernandes Pereira)
Orientadora


(M.Sc. Érika Almeida Praxedes)
Examinadora


(Profa. M.Sc. Natália Cristina de Medeiros)
Examinadora

Para todos aqueles que estiveram comigo nos momentos mais difíceis da minha vida, inspirando-me e encorajando-me a não desistir nunca daquilo que tanto almejo para minha vida, em especial, a Deus, Maria de Fátima Aquino Costa, Reginaldo Vitorino da Costa, Alexsandra Fernandes Pereira, José Lucas Girão Rabelo, Matheus Barbosa do Nascimento, Gabriela Pereira de Oliveira Lira.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, porque você é e foi fundamental nos meus dias mais exaustivos e cansativos. Além disso, obrigado por me mostrar que todos os dias nós temos uma nova chance e que só depende de nós mesmos. A você, meu carinho e minha fidelidade, pois tudo isso só foi possível graças a você. Minha gratidão eterna!

A minha querida mãe, Maria de Fátima de Aquino Costa, que não mede esforços para me ver feliz, e espero que um dia eu possa retribuir da mesma forma. Obrigado por todo o carinho, amor, educação, apoio e cumplicidade que sempre tivemos um com o outro. Saiba que a senhora é o meu maior orgulho de vida, desde o momento em que se propôs a me acolher em seus braços. Assim, como Deus, nada disso seria possível sem você ao meu lado. Desculpa por muitas das vezes não estar presente quando a senhora precisou.

Ao meu pai, Reginaldo Vitorino da Costa, que abriu mão de suas oportunidades para buscar o melhor para nossa família. Ao senhor, meu respeito, carinho e minha eterna gratidão por toda a educação e paciência comigo quando estudava para as provas e nos momentos de maiores aflições. Obrigado por me ajudar a tornar este sonho uma realidade. Saiba que esse crédito não pertence somente a mim.

A todos os meus familiares que estiveram diretamente e indiretamente me incentivando a não desistir daquilo que almejo para minha vida, em especial, a minha querida tia Maria da Conceição Costa de Aquino por todas as conversas especiais que renovaram minhas energias esgotadas. A sua compreensão sobre o que é ser feliz com tão pouco é uma virtude que todos deveriam aprender.

A minha segunda mãe, Genivalda Cordeiro de Moura, por todas as conversas, ensinamentos e risadas sobre a vida. A senhora, sem dúvidas é uma segunda mãe e amiga fiel que a vida poderia me dar. Obrigado, por todo carinho e apoio!

A minha melhor amiga e irmã, Marina Cordeiro de Moura, que mesmo tão distante nunca deixou de acreditar no meu potencial. Saiba que você é muito mais do que você acredita! Afinal, já passou por tantas coisas que te renderiam um filme. Obrigado, e desculpa se não estive tão presente quando você mais precisou.

Aos meus amigos da faculdade, que tornaram meus dias menos cansativos e estressantes quando tudo parecia que ia desabar. Vocês foram fundamentais para tudo isso, em especial, a Allen Karlos Gomes dos Santos, Igor Macêdo de Oliveira e Milena Gadelha Diógenes.

Ao meu querido amigo, José Lucas Girão Rabelo, por toda a convivência, paciência e amizade. Você foi e é uma das pessoas mais importantes que conheci nestes últimos anos. Desculpa pelas nossas brigas e discussões. Você aguentou todos os meus aborrecimentos e minhas chatices! Obrigado pela sua fiel amizade, te amo.

Ao Laboratório de Biotecnologia Animal (LBA, Responsável: Profa. Dra. Alexsandra Fernandes Pereira) e a todos que o compõem. Vocês abriram as portas com a minha chegada, e me mostraram como é ser uma equipe-família. Em especial, a Maria Valéria de Oliveira Santos, Maria Bárbara Silva, Lhara Ricarliany Medeiros de Oliveira.

Muito obrigado a Alana Azevedo Borges e Gabriela Pereira de Oliveira Lira, vocês são símbolos de felicidades e luz. Obrigado por todas as conversas, risadas e conselhos. Vocês duas foram um dos melhores presentes que o laboratório e a universidade poderiam me dar. Desculpa por não deixar vocês estudarem quando vocês precisavam, e por tornar meu dia mais “esplendoroso”.

Um obrigado em especial a Matheus Barbosa do Nascimento por ter entrado em minha vida, e por se tornar um amigo tão fiel. Nunca apague esse seu espírito de equipe em ajudar as pessoas, essa virtude é para poucos. Você é extremamente dedicado e esforçado, e conseguirá lidar com tudo o que quiser, basta acreditar mais em você. Além disso, não tenha medo da vida, pois ela é linda e a sua alma de simplicidade também é, mesmo que muitas das vezes esqueça-se disso por conta da sua insegurança. Você é muito mais forte do que acredita ser!

A minha querida “co-orientadora” Érika Almeida Praxedes, que sempre esteve presente quando eu precisei, e por todos os puxões de orelhas e pelos ensinamentos. Obrigado por todo o cuidado e preocupação que teve comigo desde o momento que entrei ao laboratório. Agradeço por todo o incentivo diante das minhas dificuldades e por sua paciência em aceitar meus defeitos. Tenho muito orgulho de ter tido você como minha “co-orientadora”, e parabéns pela profissional que você tem se tornado cada dia.

A melhor orientadora que nem todos tem a mesma oportunidade de ter, Profa. Dra. Alexsandra Fernandes Pereira. Obrigado por ter permitido entrar em seu laboratório no momento em que mais estive perdido no curso. A senhora é símbolo de gentileza e entusiasmo. Sua felicidade e respeito diante da pesquisa inspiram muitas pessoas assim como eu a buscar sempre o melhor todos os dias. Desculpa, se em algum momento te desapontei, mas serei grato eternamente por ter tido a senhora como orientadora de graduação, e logo, logo da pós-graduação. Ressalto, ainda, sua importância para o meu crescimento pessoal e amadurecimento por meio dos ensinamentos (que não foram poucos), e por todas as conversas e a confiança que a senhora me depositou. Novamente, muito obrigado por tudo, esse título de

graduação não pertence somente a mim, mas também a senhora, pois nada disso seria possível sem a sua orientação.

Ao Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada (Responsável: Prof. Dr. Moacir de Oliveira Franco), em especial, a Ferdinando Vinícius Fernandes Bezerra por ter me auxiliado em diferentes etapas experimentais e pela paciência. Muito obrigado, por ter me ajudado, você também foi muito importante para a conclusão deste trabalho.

Ao Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (Responsável: Prof. Dr. Moacir de Oliveira Franco) pela estrutura física e por permitir a colheita das amostras biológicas para a realização do projeto.

A Profa. MSc. Natália Cristina de Medeiros, por toda a disponibilidade em aceitar e contribuir para o enriquecimento deste trabalho, fazendo parte da banca.

A instituição da qual faço parte, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), assim como todo o corpo docente do curso de Bacharelado em Biotecnologia por todos os ensinamentos.

Ao Programa Iniciação Científica Institucional (PICI/UFERSA) pela bolsa de auxílio financeiro.

Finalmente, gostaria de dizer a todos que citei aqui que muito obrigado por tudo, vocês foram fundamentais para que eu pudesse chegar onde estou hoje. Nunca esqueçam que a vida é feita para quem sabe viver, procurem aprender sempre desta arte!

“A vida é feita para quem sabe viver, procure aprender da arte para quando apanhar não se abater, pois ganhar e perder faz parte de tudo isso. Levante a cabeça amigo, a vida não é tão ruim. No mundo a gente perde, mas nem sempre o jogo é assim. Para tudo se tem um jeito, e se não teve jeito ainda é porque não chegou ao fim. Lembre-se, a dor pode durar uma noite, mas um novo dia sempre irá raiar e quando você menos esperar, clareou.”

(Pe. Fábio de Melo)

RESUMO

Nos últimos anos, as amostras somáticas da pele, têm sido uma das principais fontes biológicas empregadas para a conservação da biodiversidade por meio da formação de criobancos. Essas amostras constituem uma valiosa fonte para o isolamento de células a serem empregadas na multiplicação de indivíduos por clonagem, obtenção de células induzidas à pluripotência e modelos de ensaios biológicos. Para todas essas finalidades, o conhecimento acerca do perfil estrutural da região, na qual essas amostras são coletadas representa um passo importante para o desenvolvimento dos protocolos de criopreservação e de processamento *in vitro*. Portanto, objetivou-se caracterizar o perfil morfológico, morfométrico, ultraestrutural e proliferativo de amostras de pele oriundas do pavilhão auricular apical de preás machos, roedores silvestres, que apresentam inúmeras vantagens para os âmbitos ecológicos e científicos. Para tanto, amostras teciduais derivadas de biópsias do pavilhão auricular apical de oito preás adultos pertencentes ao Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS/UFERSA) foram coletadas e transportadas ao laboratório em solução tampão fosfato salino (PBS) a 37°C por até 1 h. No laboratório, amostras foram fragmentadas (9,0 mm³) e destinadas às análises morfológicas e morfométricas utilizando a coloração hematoxilina-eosina para identificação e quantificação de camadas e células, tricrômico de Gomori para as fibras colágenas, Weigert-Van Gienson para fibras elásticas e microscopia eletrônica de varredura (MEV) para avaliação ultraestrutural. Ainda, foi realizada a análise proliferativa pela marcação de regiões organizadoras nucleolares por prata (AgNOR). Assim, para todas as análises, lâminas foram confeccionadas e imagens foram avaliadas por meio do software Image J ou Image proPlus, sendo os valores expressos como média $\pm$ desvio padrão (um animal/repetição). Inicialmente, por meio da análise morfológica, foi possível caracterizar este tecido como pele fina, sendo evidenciada na epiderme, a camada córnea, espinhosa e basal, e uma derme rica em matriz extracelular. Já na região mais profunda do pavilhão auricular apical, identificou-se o tecido cartilaginoso, contendo condrócitos e o pericôndrio. Quanto à análise morfométrica, valores de $32,0 \pm 4,4 \mu\text{m}$ e $258,2 \pm 22,9$ foram obtidos para a espessura da epiderme e derme, respectivamente, perfazendo-se uma espessura total da pele de $290,2 \pm 23,6 \mu\text{m}$. Já para as camadas epidérmicas, observou-se os valores para a córnea ($3,8 \pm 0,6 \mu\text{m}$), a espinhosa ($23,3 \pm 8,1 \mu\text{m}$) e a basal ($4,8 \pm 0,5 \mu\text{m}$). Para a identificação e a quantificação de células presentes na epiderme, os valores de $24,8 \pm 2,4$ de células de Langerhans, $29,8 \pm 7,6$ de queratinócitos, $29,9 \pm 6,2$ de melanócitos foram observados. Por outro lado, na região dermal, foi possível quantificar $112,1 \pm 11,3$ fibroblastos e na cartilagem foram contabilizados $27,5 \pm 4,7$ de condrócitos. Ainda, na derme, quantificou-se $1,3 \pm 0,2$ de glândulas sebáceas e $1,2 \pm 0,3$ de glândulas sudoríparas, observando-se um percentual de fibras colágenas de $72\% \pm 0,1$, com presença de fibras elásticas reduzidas. Por MEV, foi possível obter um panorama geral do pavilhão auricular apical, distinguindo as camadas da pele e tecido cartilaginoso. Quanto ao potencial proliferativo celular, foi avaliado o número e a área de AgNOR por célula, observando $1,36 \pm 0,1$ e $1,01 \pm 0,1$, respectivamente. Em geral, diferenças foram observadas entre preás e demais roedores quanto ao número de camadas da epiderme, espessuras e número de células da pele, bem como a atividade proliferativa. Finalmente, este foi o primeiro trabalho realizado quanto à caracterização morfológica, morfométrica, ultraestrutural e proliferativa do pavilhão auricular apical de preás.

Palavras-Chave: roedores silvestres, gênero *Galea*, análises histológicas, microscopia eletrônica de varredura.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diferentes gêneros os quais pertencem os preás **(A)** Exemplar do gênero *Galea* **(B)** Exemplar do gênero *Cavia*. **(C)** Exemplar do gênero *Microcavia*. Fonte: Fickr (27/05/2019), Bioorbis (27/05/2019), iNaturalist (27/05/2019)..... 21
- Figura 2.** Distribuição geográfica de preás. Fonte: Macêdo et al. (2018)..... 21
- Figura 3.** Colheita e processamento de fragmentos do pavilhão auricular apical de preás. **(A)** Processo de anestesia e eutanásia do animal. **(B)** Transporte dos fragmentos em PBS a 37°C. **(C)** Lavagem das amostras do pavilhão auricular apical em PBS. **(D)** Tricotomização e fragmentação em 9,0 mm³ das amostras. **(E)** Distribuição das amostras. **(F)** Fragmentos armazenados em soluções fixadoras..... 33
- Figura 4.** Desenho experimental para a descrição morfológica, morfométrica, ultraestrutural e proliferativa do pavilhão auricular apical de preás..... 34
- Figura 5.** Fotomicrografias do pavilhão auricular apical de preás coradas com HE. **(A)** Panorama geral da cútis, evidenciando suas camadas, Epiderme (E), Derme (D), Tecido cartilaginoso (TC), Tecido muscular (TM), Folículo piloso (FP). **(B)** Corte perpendicular da pele indicando o Estrato córneo (ES), Camadas Intermediárias (CI), Camada basal (BA), Célula de Langerhans (CL), Queratinócito (▲), Melanócito (*), Camada de células (CC), Fibroblastos (F), Glândula sudorípara (GSD). **(C)** Anexos da derme, Glândulas sebáceas (GS) e Folículo piloso (FP). **(D)** Tecido cartilaginoso, Condrócitos (CD), Pericôndrio (P). **A** 20x. **B, C e D** 40x..... 39
- Figura 6.** Mensuração da epiderme e suas camadas, derme, área total e pericôndrio do pavilhão auricular apical de preás utilizando a coloração HE. Valores expressos em média ± desvio padrão. **(A)** Mensuração das camadas epidérmicas. **(B)** Mensuração da epiderme, derme, espessura total do tecido e pericôndrio..... 40

Figura 7. Perfis de fibras colágenas e elásticas do pavilhão auricular apical de preás. **(A)** Corte perpendicular da pele indicando a área de colágeno avaliada, corado por tricrômico de Gomori. **(B)** Valores por área e área total de colágeno. **(C)** Corte perpendicular da pele indicando fibras elásticas, corado por hematoxilina de Weigert-Van Gienson. Fibras elásticas (*). **A** 40x. **C** 100x..... 41

Figura 8. Eletromicrografia de varredura do pavilhão auricular apical de preás. **(A)** Secções da pele. **(B)** Corte evidenciando camadas da pele. Epiderme (E). Derme (D). Tecido cartilaginoso (TC). **(C)** Estrato córneo (ES) desprendendo-se da epiderme. **(D)** Região dermal revelando fibras do tecido (setas). **(E)** Corte perpendicular evidenciando condrócitos (CD). **(F)** Tecido cartilaginoso demonstrando lacunas de condrócitos (*). **(G)** Presença de pelos (setas-triângulo) como anexos da derme..... 43

Figura 9. Avaliação do potencial proliferativo de fibroblastos da derme do pavilhão auricular apical de preás, marcadas por meio do nitrato de prata (AgNOR). **(A)** Fotomicrografia identificando NORs de fibroblastos (setas). 100x. **(B)** Média $\pm$ desvio padrão quanto ao número e área de NORs de fibroblastos..... 44

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Descrição morfológica de alguns sistemas fisiológicos de roedores silvestres.....	27
Quadro 2. Caracterização e descrição das estruturas do pavilhão auricular apical. Fonte: SAMUELSON, 2007.....	35

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Número de células da epiderme e derme do pavilhão auricular apical de preás.....	40
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNOR	Regiões Organizadoras Nucleolares por Prata
CEUA	Comitê de Ética de Uso de Animais
CEMAS	Centro de Multiplicação de Animais Silvestres
ESAM	Escola Superior de Agricultura de Mossoró
h	Hora
HE	Hematoxilina-Eosina
IUCN	União Internacional para a Conservação da Natureza
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
Kg	Quilograma
LBA	Laboratório de Biotecnologia Animal
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligrama
mEq	Miliequivalente
mm ³	Milímetro Cúbico
M	Molaridade
PBS	Solução Salina Tampão Fosfato
pH	Potencial Hidrogeniônico
RN	Rio Grande do Norte
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
µm	Micrômetro
µm ²	Micrômetro Quadrado

LISTA DE SÍMBOLOS

/	Divisor
°	Grau
°C	Graus Celsius
-	Menos
±	Mais ou Menos
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1. Aspectos ecológicos, econômicos e científicos dos preás e demais cavídeos	20
2.1.1. Importância dos preás para o ecossistema global.....	20
2.2. Emprego de amostras somáticas para a conservação de roedores silvestres e domésticos.....	22
2.3. Descrição do pavilhão auricular apical para o estabelecimento de estratégias de conservação.....	24
2.4. Ferramentas empregadas na descrição do pavilhão auricular.....	26
2.4.1. Análises morfológicas.....	26
2.4.2. Análises morfométricas	28
2.4.3. Análises ultraestruturais.....	29
2.4.4. Análises proliferativas	30
3. OBJETIVOS	31
3.1. Objetivo Geral.....	31
3.2. Objetivos Específicos	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. Bioética e locais de execução	32
4.2. Biópsia do pavilhão auricular apical e desenho experimental.....	32
4.3. Processamento histológico.....	34
4.4. Avaliação morfológica e morfométrica das camadas da pele, identificação e quantificação de células.....	34
4.5. Avaliação morfológica e morfométrica da matriz extracelular.....	36
4.6. Processamento e análise da ultraestrutura do pavilhão auricular apical.....	36
4.7. Avaliação do potencial proliferativo	37
4.6. Análise dos dados	37
5. RESULTADOS	38
5.1. Avaliação morfológica e morfométrica das camadas da pele, identificação e quantificação de tecidos e células do pavilhão auricular apical de preás.....	38
5.2. Avaliação morfológica e morfométrica da matriz extracelular do pavilhão auricular apical de preás.....	40
5.3. Descrição ultraestrutural do pavilhão auricular apical de preás.....	42
5.4. Avaliação da atividade proliferativa de células do pavilhão auricular apical de preás	44
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÕES.....	50
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é detentor de uma rica fauna, representando 20% do número total de espécies de todo o planeta (VILELA et al., 2016; MAZUQUELI et al., 2018), sendo inseridos nesse quantitativo os roedores silvestres, os quais exercem importantes papéis nos âmbitos científicos, econômicos e ecológicos (RUAS et al., 2017; BARCELOS, 2018). Dentre os principais roedores silvestres, destacam-se os preás, que são animais de porte pequeno a médio (ARRIEIRA et al., 2013) e que exercem diferentes ações na manutenção e funcionalidade do ecossistema que habitam.

Nesse sentido, como ações ecológicas, os preás são fundamentais na dispersão de sementes e no equilíbrio biológico por meio da cadeia alimentar, sendo presas de grandes animais (SALVADOR et al., 2008; BARCELOS, 2018). Além disso, estes mamíferos apresentam uma relevância econômica (RUAS et al., 2017) em virtude da inserção no ecoturismo, gerando renda para as comunidades locais, atuando em atividades educacionais e financiando ações de manejo (KERBE, 2017). Adicionalmente, a utilização da sua carne que possui alto teor proteico servindo muitas das vezes como alimento para moradores em comunidades rurais (SOUZA et al., 2017).

Embora sua população seja considerada estável (CATZEFLIS et al., 2016), estratégias de conservação necessitam ser empregadas, visando desenvolver projetos de conhecimento da espécie, com objetivo de aumentar seu quantitativo populacional em cativeiros e conhecer seu potencial fisiológico. Além disso, os preás podem funcionar como modelos científicos para roedores ameaçados de extinção, como a *Cavia intermedia*, a qual tem sido avaliada como criticamente em perigo de extinção e a *Microcavia shiptoni* que se encontra quase ameaçada (JAYAT et al., 2008; ROACH, 2016).

Diante desse cenário, diferentes técnicas podem ser empregadas, visando a manutenção e estudo dessas populações. Dentre estas, destacam-se as ferramentas *in vivo* que se dá por meio da conservação de animais em cativeiro ou zoológicos e a *in vitro* a qual é realizada por meio da conservação da diversidade biológica por meio da formação de bancos biológicos de amostras somáticas (PRAXEDES et al., 2018).

Em geral, nos últimos anos, o uso dessas amostras visando a formação de bancos biológicos têm crescido. Isso se dá, em virtude as suas finalidades voltadas para a multiplicação de indivíduos por clonagem por transferência nuclear de células somáticas (LIU et al., 2018), obtenção de células induzidas à pluripotência com aplicação em medicina reprodutiva e regenerativa (DZOBO et al., 2018) e em modelo de estudos de toxicidade

(ABHISHEK et al., 2018). Assim, amostras somáticas se destacam de outros materiais biológicos por não restringirem sua colheita ao gênero ou estágio reprodutivo do animal (PRAXEDES et al., 2018).

Nesse sentido, como principal amostra biológica, a pele se destaca, especialmente quando a recuperação é realizada a partir das extremidades menos vascularizadas dos animais, pois representa-se de maneira menos invasiva (COSTA et al., 2016). Desse modo, o pavilhão auricular apical tem sido sugerido como região de maior escolha, especialmente porque algumas vezes essa colheita é associada às atividades de identificação dos animais, e isso possibilita também a recuperação de células a partir de um único fragmento (PRAXEDES et al., 2018).

Entretanto, para o sucesso de todas as finalidades anteriormente citadas depende, inicialmente, do conhecimento da região/órgão do animal de onde essas amostras são obtidas. Nesse pensamento, ferramentas empregadas para o conhecimento de caráter morfológico e estrutural desta região, como a histologia e a microscopia eletrônica de varredura são de grande importância.

Portanto, visando conhecer histologicamente o pavilhão auricular apical de preás, a descrição do perfil morfológico, morfométrico, ultraestrutural e proliferativo dos tecidos dessa região consiste numa etapa crucial para o estabelecimento de bancos somáticos. Tais informações são essenciais para o uso adequado de protocolos de cultivo, criopreservação e processamento *in vitro* de células e tecidos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Aspectos ecológicos, econômicos e científicos dos preás e demais cavídeos

Os cavídeos são roedores sul-americanos representados pela capivara, mocó, paca, porquinho-da-índia, preá entre outros (BEZERRA, 2008). Esses animais desempenham papéis fundamentais no ecossistema que habitam, atuando como agentes ecológicos, econômicos e científicos (RUAS et al., 2017; TONETTI et al., 2018).

Em geral, como papel ecológico, esses animais exercem importantes funções sobre a fauna e a flora, mantendo o equilíbrio dos ecossistemas já que estes garantem a existência e o desenvolvimento das áreas naturais (DAS et al., 2015). Além disso, muitos são polinizadores por meio da dispersão de sementes e agentes adubadores (MAZUQUELI et al., 2018). Ainda, atuam na cadeia alimentar podendo ser presas de animais superiores (SNAK et al., 2017).

Por outro lado, no que diz respeito aos fatores econômicos, estes animais são importantes na inserção ao ecoturismo, uma vez que possibilitam o desenvolvimento de atividades ecológicas e educacionais para a população turística (SOUZA et al., 2017). Além disso, podem ser fontes de produtos cárneos, uma vez que seu produto apresenta um alto teor proteico o que resulta numa contribuição para a economia (ALHO, 2012).

No que se refere aos aspectos científicos, os cavídeos podem ser empregados como modelos experimentais voltados para o conhecimento anatômico, morfológico e fisiológico, auxiliando na compreensão das atividades comportamentais destas espécies ou de outras filogeneticamente próximas (OLIVEIRA et al., 2017), bem como para a promoção de estudos aplicados, como a formação de bancos de recursos biológicos. Como resultado, estudos nestes diferentes âmbitos podem permitir o desenvolvimento de novas estratégias de conservação e manutenção do potencial reprodutivo (DECO-SOUZA et al., 2013).

2.1.1. Importância dos preás para o ecossistema global

A diversidade biológica dos ecossistemas, incluindo a genética e a ecossistêmica, pode ser considerada como a maior herança inestimável e insubstituível para o bem-estar do homem, servindo para a obtenção de materiais para estudos ecológicos, comportamentais e morfofisiológicos (WINTLE et al., 2018). Dessa forma, inserem-se os preás, que é o nome popular de roedores silvestres, pertencentes a uma das famílias da grande ordem Rodentia,

subordem Hystricomorpha, e que correspondem a cerca de 40% das espécies da classe dos mamíferos (SILVA et al., 2017).

Nesse sentido, o preá pode participar de três gêneros, sendo *Galea*, *Cavia* e *Microcavia* (**Figura 1**), e pertencem à família Caviidae, subfamília Caviinae. Em geral, estão amplamente distribuídos pela América do Sul. No território brasileiro, o gênero *Galea*, é encontrado em todos os estados do Nordeste, além do Paraná, Minas Gerais e Distrito Federal (MACÊDO et al., 2018, **Figura 2**).

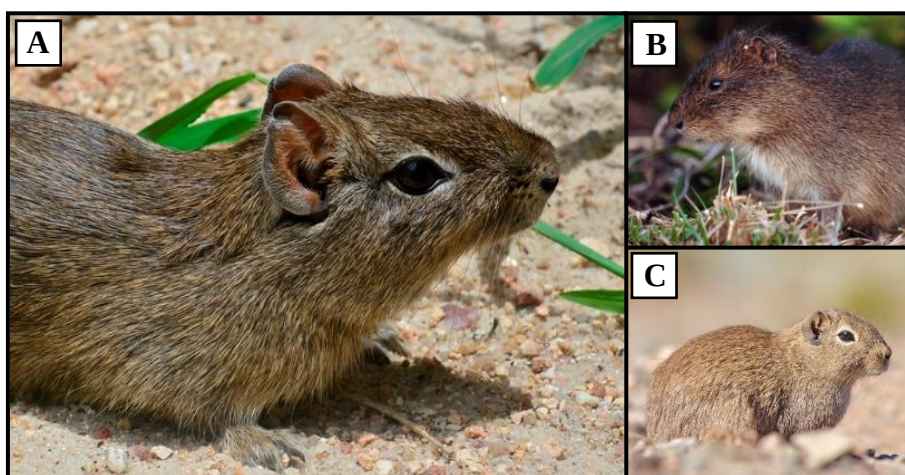


Figura 1. Diferentes gêneros os quais pertencem os preás (A) Exemplar do gênero *Galea* (B) Exemplar do gênero *Cavia*. (C) Exemplar do gênero *Microcavia*. Fonte: Fickr (27/05/2019), Bioorbis (27/05/2019), iNaturalist (27/05/2019).

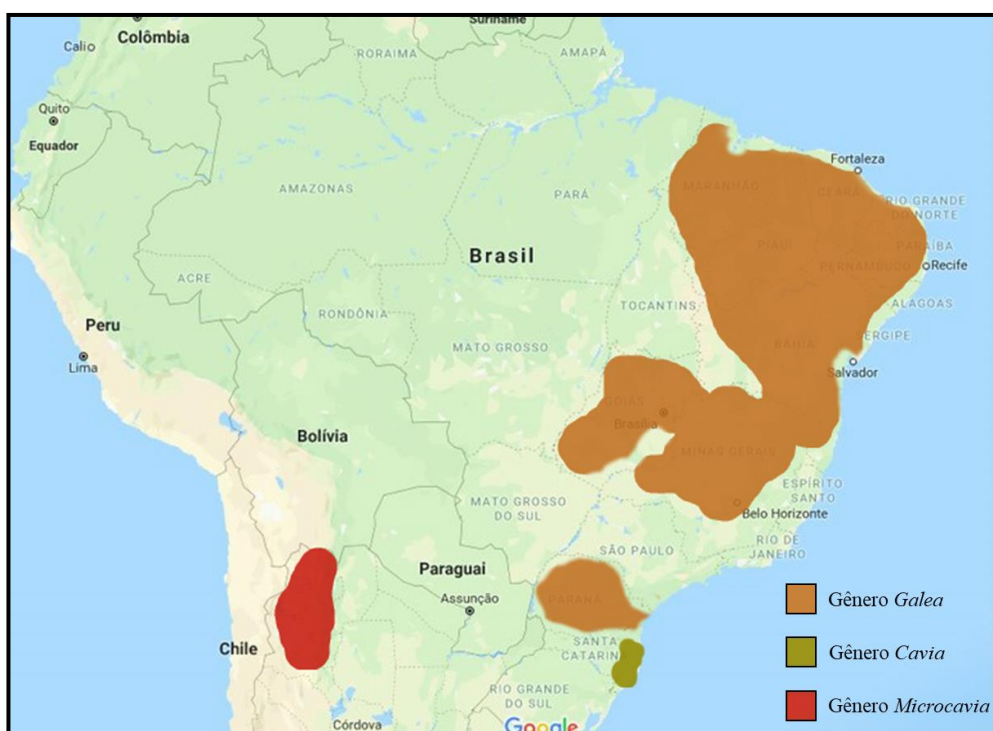


Figura 2. Distribuição geográfica de preás. Fonte: Macêdo et al. (2018).

Em geral, as espécies do gênero *Microcavia* e *Cavia* possuem características semelhantes, como o porte pequeno a médio, possuindo um corpo alongado, coloração uniforme, com a superfície dorsal cinza-escura e o ventre branco (THOMAS, 1925). Contudo, o *Galea* se distingue dos outros gêneros com a morfologia de seus molariformes, onde apresentam uma coloração mais branca em seus dentes incisivos, dorso mais claro e a presença discreta de pelos pós-auriculares (WAGLER, 1831).

No que diz respeito ao papel ecológico dos preás, essa espécie desempenha um papel fundamental na cadeia alimentar como dispersores de sementes, equilíbrio e manutenção dos biomas em que estão inseridos, habitando áreas de formação aberta, como campos, cerrados, caatingas e pumas, embora também sejam observados em áreas florestais (FLETCHER JUNIOR et al., 2018). Além disso, os preás são animais especializados em roer, apresentando características para formarem pequenos grupos sociais, participando de processos ecossistêmicos, como controle de erosão, formação de solo e ciclagem de nutrientes (SAMPAIO et al., 2012).

Como presas, estes animais representam uma fonte rica em proteínas, pois sua carne possui um alto valor energético para consumidores superiores, como aves, mamíferos e ao consumo humano provenientes da caça de subsistência, representando 20% da dieta de populações de algumas comunidades (FLETCHER JUNIOR et al., 2018). Portanto, em virtude da importância dos preás para os ecossistemas globais, o emprego de técnicas de conservação para esta espécie torna-se uma medida de relevância para evitar a perda da biodiversidade e garantia da manutenção do nicho ecológico.

2.2. Emprego de amostras somáticas para a conservação de roedores silvestres e domésticos

Diferentes estratégias podem ser empregadas na conservação de roedores silvestres e domésticos. Inicialmente, as técnicas *in situ* consistem no estabelecimento de áreas protegidas que contemplam a conservação em longo prazo da biodiversidade (ORSO et al., 2017; BARCELOS, 2018). Essa tem como função assegurar a representatividade de amostras significativas e ecologicamente viáveis de diferentes populações, habitats e ecossistemas, promovendo a manutenção do patrimônio biológico (BUCKLEY et al., 2016).

Contudo, essa estratégia apresenta algumas limitações quanto as suas aplicações, como quando se relaciona a comunidade local e o desenvolvimento sustentável, pois o incremento da renda pelo turismo pode aumentar o investimento em atividades produtivas de maior

impacto a biodiversidade, uma vez que o manejo e o uso recreativo de áreas naturais estão entre as sete atividades antrópicas capazes de causar impacto aos ecossistemas (BARCELOS, 2018). Além disso, a má distribuição dos benefícios pode potencializar conflitos preexistentes em comunidades, aumentando a degradação ambiental (OZORIO et al., 2016).

Dessa forma, as técnicas *ex situ* tornam-se bastante viáveis, em virtude das suas aplicabilidades. Esse tipo de estratégia se segmenta em dois tipos, sendo a *in vivo*, realizada por meio da conservação de animais em cativeiros, sejam esses criadouros comerciais ou zoológicos, e a *in vitro*, realizada por meio da conservação da diversidade biológica fora de seu habitat natural, envolvendo a conservação dos recursos genéticos de uma espécie sob a forma de bancos de amostras biológicas, como gametas, embriões, tecidos gonadais, células e tecidos somáticos (SILVA et al., 2017).

No que diz respeito à formação de criobancos por meio de amostras somáticas, o seu principal objetivo é garantir a conservação de populações cativas e geneticamente viáveis. Como resultado, favorece o resgate de populações que já tenham se extinguido, ou ainda que tenham características biológicas importantes a serem conservadas. Além disso, pode ser empregado na conservação de espécies que estejam em riscos de extinção, como já observado para alguns roedores silvestres, como as cutias e os mocós (SILVA et al., 2012; SANTOS et al., 2019).

Assim, a conservação dos recursos genéticos, por meio da manutenção de coleções de amostras somáticas, vem se tornando cada vez mais uma realidade em muitos países (ESKANDARI et al., 2018). Isso porque nesta técnica é possível utilizar pequenos fragmentos teciduais isolados a partir de animais, conhecidos como explantes, obtidos de amostras independente do gênero, da idade e do estágio reprodutivo do animal (SANTOS et al., 2016; PRAXEDES et al., 2018), que podem promover a conservação, a longo prazo, da variabilidade genética das espécies, mantendo a máximas integridade gênica e biológica possíveis (ZACARIOTTI et al., 2013).

Nessa temática, diferentes abordagens utilizando amostras somáticas visando à conservação dos recursos genéticos de roedores silvestres e domésticos têm sido desenvolvidas. Isso pode ser observado em estudos com porquinhos-da-índia (*Cavia porcellus*) e cutias (*Dasyprocta leporina*), quando os autores realizaram a criopreservação de células (MEHRABANI et al., 2014) e tecidos somáticos da pele (COSTA et al., 2015). Ainda, em se tratando do armazenamento de amostras biológicas, Kadota et al. (2017) realizaram a criopreservação de células somáticas oriundas do coração de ratos (*Rattus norvegicus albinus*), visando a obtenção de células pluripotentes.

Assim, após a obtenção e o processamento, estas amostras somáticas podem ser utilizadas para diferentes finalidades, como estudos voltados para o conhecimento da espécie quanto ao seu caráter morfofisiológico (ISOLA et al., 2013), bem como na geração de embriões pela técnica de clonagem por transferência nuclear de células somáticas (OGURA et al., 2012) e produção de células induzidas à pluripotência (GOMES et al., 2017).

Dessa forma, como principal fonte utilizada nos últimos anos para a obtenção de amostras somáticas, têm-se observado o pavilhão auricular apical dos indivíduos (PRAXEDES et al., 2019), em virtude de alguns fatores, como a fácil obtenção, ser um procedimento pouco invasivo para o animal e por apresentar alta quantidade de fibroblastos e condrócitos que podem ser utilizados como doadoras de núcleo para a clonagem por meio transferência nuclear de células somáticas (COSTA et al., 2008; CETINKAYA et al., 2011). Embora tecidos somáticos já tenham sido empregados em distintas espécies para a formação de bancos genéticos (BROCKBANK et al., 2010; ZANATA et al., 2018), as informações ainda são escassas quanto ao uso de amostras somáticas da pele de cavídeos, visando o desenvolvimento de protocolos de cultivo *in vitro* e criopreservação.

Assim, como etapa crucial para garantir sucesso na padronização de protocolos de cultivo *in vitro* e criopreservação, visando à formação de bancos biológicos, é interessante elucidar os padrões morfológicos, morfométrico, ultraestruturais e proliferativos destes tecidos.

2.3. Descrição do pavilhão auricular apical para o estabelecimento de estratégias de conservação

O órgão de audição de roedores, no geral, permite ser identificado por meio de três segmentos, sendo a orelha externa, orelha média e orelha interna. A orelha externa se segmenta em duas porções, sendo uma parte formada por tecido cartilaginoso chamada de aurícula ou pina e o meato acústico externo, formado de tecido ósseo, que possui uma abertura no osso temporal, favorecendo a comunicação com a membrana timpânica, a qual limita a orelha externa da média e interna do animal (MARTINS, 2013).

Deste modo, a partir do conhecimento do pavilhão auricular externo apical, o qual apresenta em sua constituição externa a pele, há, nesse órgão de revestimento, um conjunto de características importantes, como diferentes tipos e camadas celulares, glândulas e folículo piloso (ISOLA et al., 2013). Em geral, a pele é constituída por uma porção epitelial e pode ser

designada sob duas formas, sendo, a pele fina e grossa caracterizadas conforme diferentes estruturas que possam apresentar (SILVEIRA, 2009).

Assim, a pele fina pode ser caracterizada por apresentar poucas camadas celulares e uma camada de queratina delgada (MONTANARI, 2016). Já a pele grossa é caracterizada por apresentar em sua constituição várias camadas celulares e uma camada superficial de queratina bastante espessa. Além disso, a epiderme da pele grossa é mais espessa enquanto a pele fina apresenta uma epiderme mais delgada (SAMUELSON, 2007). Adicionalmente, destaca-se uma porção conjuntiva denominada de derme (BARBOSA, 2001). Ainda, está apresenta um tecido subcutâneo, a hipoderme, que não faz parte da pele, servindo apenas de união com os órgãos subjacentes (SAMUELSON, 2007).

Portanto, ao que se refere ao cunho morfológico, a epiderme é composta por um epitélio de revestimento estratificado pavimentoso queratinizado, formado por camadas e células diferenciadas pela morfologia, grau de maturação e espessura (BARBOSA, 2001). Assim, a epiderme pode ser dividida em camadas, como o estrato córneo, que é caracterizado por ser a camada mais externa da pele e é constituído por células mortas e ricas em queratina (AZULAY, 2015). A lúcida é formada por uma delgada camada de células achatadas. Já a granulosa possui células ricas em grânulos denominados de querato-hialina, bem como, colesterol e lipídios que promovem a formação da barreira contra a penetração de substâncias e perda de água (ENDO et al., 2007). Logo abaixo é observada a presença da camada espinhosa, na qual é composta por células como os queratinócitos, células de Langerhans e Merkel (ALBANESE et al., 2005). Na camada subjacente é verificável a camada basal, caracterizada como camada mais profunda da epiderme, apresentando células germinativas e melanócitos (AZULAY, 2015).

Em contrapartida, a derme é formada principalmente por tecido conjuntivo que se une a epiderme por meio da lâmina basal e à hipoderme (SAMUELSON, 2007). Esse tecido é formado por fibras colágenas, elásticas e reticulares, que podem ser classificados como tecido conjuntivo propriamente dito frouxo e denso, tendo a predominância de fibroblastos (SIENGDEE et al., 2018). Adicionalmente, a derme pode ser dividida em duas camadas, sendo a reticular e o papilar.

A camada papilar é caracterizada por ser mais delgada e formada principalmente por tecido conjuntivo frouxo que forma as papilas dérmicas. Ainda, nesta camada, as fibras colágenas permitem a adesão entre a derme e epiderme (SAMUELSON, 2007). Já na camada reticular, observa-se a presença forte de fibras mais espessas, isso porque é constituída principalmente por tecido conjuntivo denso e é a mais profunda entre as camadas dérmicas.

Além disso, esta é caracterizada por dar a elasticidade da pele e por apresentar estruturas como folículos pilosos e as glândulas sebáceas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Por outro lado, no pavilhão auricular externo também ocorre a presença de tecido cartilaginoso, sendo esse um tecido especializado por apresentar propriedades de suporte para os órgãos e adjacências em virtude de sua consistência rígida (LEE et al., 2017). Este por sua vez é formado por células especializadas, como os condrócitos, além de fibras e uma estrutura específica que promove suporte e nutrição para as células, conhecido por pericôndrio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Ainda sobre o tecido cartilaginoso, é observada a presença de colágeno do tipo II que caracteriza o tecido como cartilagem elástica que está continuamente ligada ao pericôndrio, o qual fornece toda a manutenção (LEE et al., 2017). Além disso, esta cartilagem apresenta um grande número de condrócitos, que são células com forma alongada que estão contidas em lacunas garantindo toda a sustentação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Dessa forma, o conhecimento gerado pela caracterização do perfil estrutural histológico destes animais, em especial o preá, poderá auxiliar no estabelecimento de estratégias de conservação desta espécie, bem como outras filogeneticamente próximas, tendo diferentes ferramentas a serem empregadas na descrição do pavilhão auricular.

2.4. Ferramentas empregadas na descrição do pavilhão auricular

Diferentes abordagens podem ser utilizadas quanto à realização de análises de cunho morfofisiológico de mamíferos silvestres, especialmente, para os preás. Nesse contexto, avaliações dos padrões morfológicos, morfométrico, ultraestruturais e proliferativos do pavilhão auricular apical surgem como ferramentas fundamentais (BORGES et al., 2017; SILVA et al., 2019), para posteriores etapas de criopreservação e de estabelecimento de cultivo de células *in vitro*.

2.4.1. Análises morfológicas

A histologia clássica é uma importante ferramenta utilizada para a realização da análise de caráter morfológico, fisiológico, bem como para as análises de cunho patológico. Esta técnica permite avaliações para tecidos frescos, após o cultivo, e ainda após descongelamento ou aquecimento (LUZ et al., 2017). Isso ocorre, porque com esta ferramenta pode-se avaliar materiais biológicos de maneira semi-quantitativa e qualitativa. Além disso, a

sua facilidade, rapidez na execução, padronização nas replicações, baixo custo e pouca demanda em infraestrutura faz com que seja uma técnica usual na caracterização morfológica de tecidos somáticos do pavilhão auricular apical (LUZ et al., 2017).

Assim, diferentes estudos já foram realizados, mostrando o sucesso desta ferramenta na caracterização histomorfológica de diferentes regiões de roedores silvestres (**Quadro 1**). Além disso, essas análises já foram realizadas em outras espécies, como os catetos, em que, (*Pecari tajacu*) por histologia clássica, o pavilhão auricular apical apresentava diferenças em relação a outros mamíferos (Borges et al., 2017).

Quadro 1. Descrição morfológica de alguns sistemas fisiológicos de roedores silvestres.

Fonte	Espécie	Finalidade	Autores
Sistema respiratório	Capivara (<i>H. hydrochoeri</i>)	Descrição dos aspectos morfológicos	Moreto et al. (2017)
Papilas gustativas	Porquinho-da-Índia (<i>C. porcellus</i>)	Descrição dos aspectos morfológicos	Ciena et al. (2017)
Artéria celíaca	Preá (<i>G. spixii</i>)	Descrição morfológica para irrigação dos órgãos do sistema digestório	Oliveira et al. (2017)
Subplacenta	Preá (<i>G. spixii</i>)	Descrição dos aspectos morfológicos	Bezerra et al. (2018)
Glândula adrenal	Prea (<i>G. spixii</i>)	Descrição dos aspectos histomorfométricos	Lobo et al. (2018)
Pele	Paca (<i>C. paca</i>)	Descrição dos aspectos morfológicos	Isola et al. (2013)
	Cutia (<i>D. leporina</i>)	Descrição dos aspectos morfológicos	Nascimento et al. (2018)

Em geral, a histologia clássica é uma metodologia fundamentada pelo uso de reagentes ácidos e básicos por meio do uso da hematoxilina e eosina, a qual irá corar o núcleo das células constituintes da epiderme, derme, hipoderme, células que realizam síntese proteica e cartilagem ao tom de azul-púrpura. Já a eosina, é atraída pelos elementos básicos das proteínas do citoplasma das células e, como resultados, promove a coloração róseo a vermelho (JARDIM et al., 2013).

Nesse aspecto, por meio dos parâmetros histológicos, pode-se discriminar os padrões da pele fina ou grossa, como a espessura da epiderme, a qual é formada pelas camadas que a constituem, sendo a basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (LUZ et al., 2017) e suas células residentes. Além disso, permite identificar e avaliar de forma quali-quantitativa as regiões da derme, cartilagem, hipoderme e glândulas anexas da derme, promovendo a avaliação da qualidade deste para o estabelecimento de padrões (NUNES; CINSa, 2016).

Contudo, nem sempre avaliações dos padrões histológicos por meio da histologia clássica permitem uma maior eficiência no caráter de análise (LOPES et al., 2017). Desse modo, técnicas segmentadas dentro da histologia, como as avaliações de fibras colágenas e elásticas por meio de colorações, como o tricrômico de Gomori e pelo método de Weigert-Van Gienson para fibras elásticas, respectivamente, e o perfil da atividade proliferativa das células por meio da avaliação das regiões organizadoras nucleolares (AgNOR), permitem obter um maior conhecimento acerca do tecido analisado, auxiliando a caracterização morfológica e morfométrica do mesmo.

2.4.2. Análises morfométricas

A análise morfométrica é um dos métodos mais utilizados dentro da histologia, uma vez que permite avaliar a morfologia do tecido, e pode ser utilizado para determinar diferentes alterações que o tecido possa sofrer, como injúrias ou desprendimentos da epiderme e derme (ISOLA et al., 2013; SILVA et al., 2015). Assim, podem-se gerar valores de referência, uma vez que estes poderão ser utilizados para comparar indivíduos da mesma espécie ou outras filogeneticamente próximas (MALVASIO et al., 2012). Dessa forma, garante-se uma maior confiabilidade quando o tecido obtiver uma maior qualidade, ou seja, criando uma classificação base na tomada de decisões quando aplicado em estudos de conservação de amostras somáticas (SILVA et al., 2019).

Dentro dos principais parâmetros das quais podem ser analisados quanto a morfometria de tecidos oriundos da pele, podem ser citados as espessuras de camadas epidérmicas, derme, perfis de fibras de colágeno e elástica da derme papilar. Em outros estudos, Bezerra et al. (2018) e Isola et al. (2013) realizaram avaliações morfométricas da subplacenta de preás (*G. spixii*) e do tegumento de pacas (*C. paca*), respectivamente, usando essas ferramentas morfométricas. Além disso, abordagens morfométricas foram empregadas em catetos, onde os autores realizaram a descrição morfométrica do pavilhão auricular visando otimizar protocolos de criopreservação (BORGES et al., 2017).

2.4.3. Análises ultraestruturais

Nos últimos anos, uma das abordagens mais fomentadas para conhecer o perfil estrutural de tecidos são estudos ultraestruturais, uma vez que por meio destas avaliações pode-se prever a integridade de amostras biológicas, bem como observar anormalidades que as mesmas possam apresentar (SILVA et al., 2019). Nesse contexto, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) surge como a principal ferramenta empregada nestes tipos de análises, uma vez que é possível solucionar alguns problemas relacionados à resolução de microscópios ópticos convencionais (DEDAVID et al., 2007). Isso ocorre porque nesta técnica são utilizados feixes de elétrons que permitem uma maior magnitude da amostra biológica (TELES et al., 2017).

Assim, a MEV tornou-se um dos instrumentos imprescindíveis nas mais diversas áreas, uma vez que é possível obter uma riqueza de informações quanto à morfologia e a topografia do tecido ou amostra biológica que esteja sendo utilizada (TELES et al., 2017). Portanto, diferentes abordagens empregando esta ferramenta nas análises têm sido utilizadas, como observado em estudos com tecidos somáticos oriundos do pavilhão auricular apical de pacas por Isola et al. (2013), e em ratos quando Bakeeva et al. (2019) que descreveram por meio da ultraestrutura, células do coração destes animais.

Além disso, esta ferramenta tem sido utilizada em estudos voltados à medicina regenerativa, onde por meio desta é possível avaliar a capacidade regenerativa de tecidos construídos artificialmente, como pôde ser observado no estudo realizado por Cuijpers et al. (2011), onde os autores mostraram que esta ferramenta é crucial neste tipo de análise.

Dessa forma, a MEV funciona como uma ferramenta de extrema importância em avaliações para estudos com diferentes finalidades, podendo auxiliar aos estudos morfológicos na caracterização do pavilhão auricular apical de preás juntamente com as análises proliferativas das células que o consistem.

2.4.4. Análises proliferativas

Uma das técnicas as quais vem sendo empregadas nos últimos anos para avaliações do pavilhão auricular de mamíferos silvestres, por auxiliar em protocolos visando a conservação de espécies é a técnica de regiões organizadoras de nucléolo marcadas com prata ou AgNOR. Essa metodologia é fomentada pelo uso da prata na qual se ligarão as regiões organizadoras nucleolares, conhecidas também como NORs. Como resultado desta marcação, são formados grânulos escuros nos núcleos das células indicando a atividade transcricional, bem como a sua proliferação (VIEIRA, 2013).

Assim, diferentes abordagens podem ser realizadas acerca desta marcação, principalmente, quando estão relacionados a patologias (VIEIRA, 2013), já que é uma técnica amplamente empregada para estimar o prognóstico de células, como observado no estudo realizado com mamíferos domésticos (CHACUR et al., 2015), onde os mesmos avaliaram as células de testículos ovinos, na busca por linhagens celulares saudáveis.

Já em mamíferos silvestres, visando a otimização de técnicas de conservação animal por meio desta ferramenta, destacam-se também estudos realizados com a subplacenta de preás por Bezerra et al. (2018), onde a marcação foi empregada na identificação e avaliação das qualidades células constituintes desta estrutura. Ainda, a ferramenta é empregada em catetos na caracterização histológica da pele (BORGES et al., 2017).

Desse modo, é sabido que o uso de ferramentas adicionais, como a técnica de AgNOR, na seleção de tecidos é imprescindível no conhecimento acerca do tecido visando à conservação da biodiversidade, uma vez que por meio desta metodologia podem obter importantes informações quanto à cinética proliferativa de células e, assim, aplicar em biotécnicas de conservação.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Descrever os aspectos morfológicos, morfométricos, ultraestruturais e o potencial proliferativo do pavilhão auricular apical de preás.

3.2. Objetivos Específicos

- Distinguir e identificar por histologia clássica o tipo de pele e células presentes no pavilhão auricular apical de preás;
- Avaliar morfometricamente e identificar, por metodologias histológicas, o número de camadas, células, fibras colágenas e elásticas presentes nos tecidos epidérmicos e dérmicos do pavilhão auricular apical de preás;
- Caracterizar a ultraestrutura por microscopia eletrônica de varredura do pavilhão auricular apical de preás;
- Avaliar o potencial proliferativo de células somáticas derivadas do pavilhão auricular apical de preás.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Bioética e locais de execução

A presente proposta foi aprovada pelo Comitê de Ética de Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (CEUA/UFERSA, no. 23091.010566/2017-20), bem como pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio, no. 60428-1).

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Animal (LBA/UFERSA, responsável: Profa. Dra. Alexsandra Fernandes Pereira) em parceria com o Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada (UFERSA, responsável: Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira) e o Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS/UFERSA, responsável: Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira) criado pela portaria ESAM N° 154/89 em 29 de setembro de 1989 e registrado junto ao IBAMA como criadouro científico (1478912).

4.2. Biópsia do pavilhão auricular apical e desenho experimental

Inicialmente, para a recuperação de amostras, oito preás machos e adultos (> seis meses de idade) foram submetidos a procedimento anestésico. Brevemente, utilizou-se uma associação de cloridrato de xilazina (Xilazin® 2% na dose de 1 mg.Kg⁻¹, Syntec) e cloridrato de cetamina (Quetamina® 10% na dose de 15 mg.Kg⁻¹, Vetnil) ambos por via intramuscular. Em seguida, confirmado o plano anestésico, os animais foram eutanasiados utilizando cloreto de potássio (Cloreto de potássio® 19,1% na dose de 2,56 mEq.Kg⁻¹, Halexistar) por via intravenosa. A eutanásia desses animais foi necessária para atender a demanda de todos os experimentos realizados por vários discentes da área de morfofisiologia animal e que utilizam os animais residentes no CEMAS.

Assim, após a confirmação de óbito dos animais, a colheita foi realizada no pavilhão auricular apical utilizando uma tesoura cirúrgica. Em seguida, as amostras foram lavadas em álcool a 70% e transportadas ao laboratório em tubos cônicos contendo solução tampão fosfato (PBS), a 37°C no intervalo de até 1 h.

No laboratório, as amostras foram submetidas a consecutivos banhos em PBS, objetivando retirar possíveis debris resultantes do procedimento da colheita. Posteriormente, foi realizada a fragmentação dos tecidos (9,0 mm³) entre as regiões da hélice e anti-hélice, segundo Martins et al. (2013). Em seguida, após a fragmentação dos tecidos, foi realizada a

distribuição aleatória e fixação das amostras, parte realizada com uso do paraformaldeído tamponado a 4% em PBS, e outra parte em glutaraldeído 2,5% tamponado em PBS (**Figura 3**). Assim, a partir de tais amostras foi realizado o processamento com coloração por hematoxilina-eosina, tricrômico de Gomori, Weigert-Van Gienson, microscopia eletrônica de varredura e marcação de regiões organizadoras nucleolares (**Figura 4**).

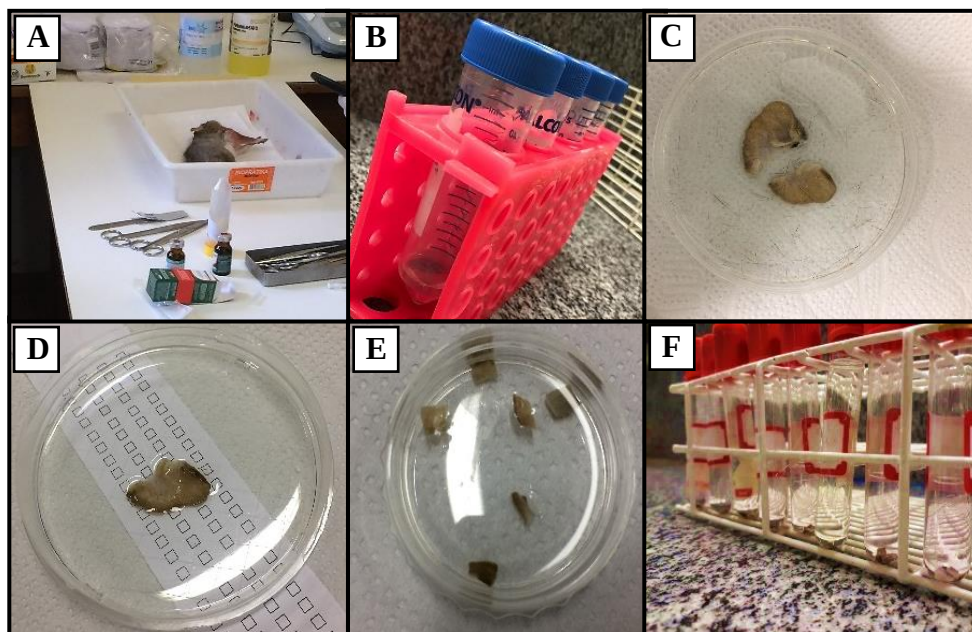


Figura 3. Colheita e processamento de fragmentos do pavilhão auricular apical de preás. **(A)** Processo de anestesia e eutanásia do animal. **(B)** Transporte dos fragmentos em PBS a 37°C. **(C)** Lavagem das amostras do pavilhão auricular apical em PBS. **(D)** Tricotomização e fragmentação em 9,0 mm³ das amostras. **(E)** Distribuição das amostras. **(F)** Fragmentos armazenados em soluções fixadoras.

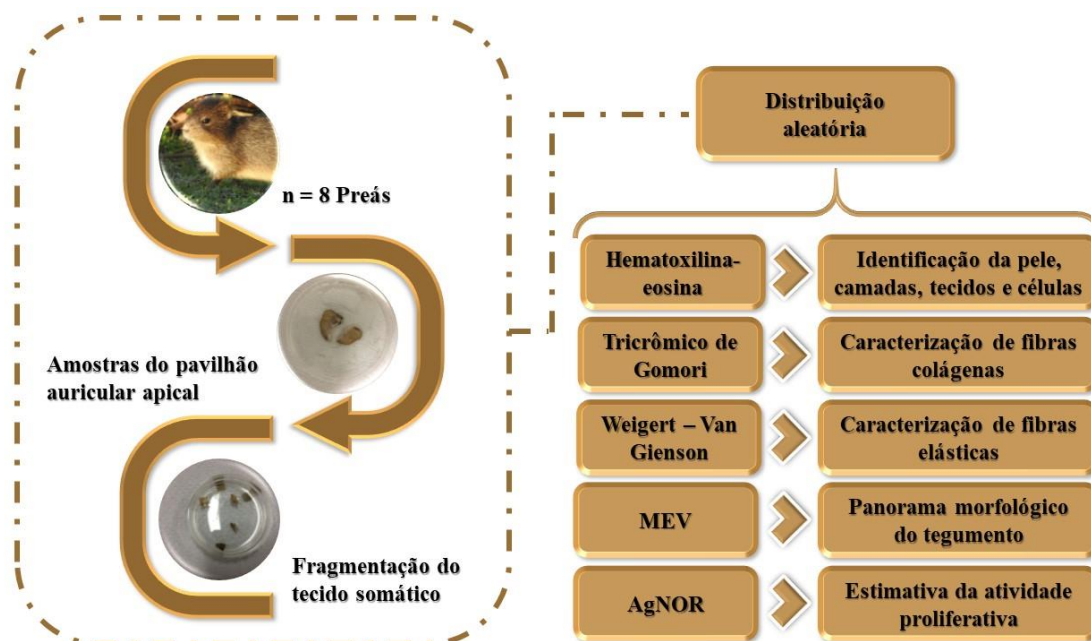


Figura 4. Desenho experimental para a descrição morfológica, morfométrica, ultraestrutural e proliferativa do pavilhão auricular apical de preás.

4.3. Processamento histológico

Para confecção de lâminas histológicas para avaliação da morfologia da pele, os fragmentos foram processados conforme Tolosa et al. (2003) descreve, com adaptações no tempo para cada etapa do processamento histológico. Assim, após um período de sete dias na presença do fixador (paraformaldeído tamponado a 4% em PBS), as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool variando de 70% a 100%. Posteriormente, amostras foram diafanizadas em solução de xilol e impregnadas em parafina. Subsequentemente, amostras foram incluídas em parafina para a obtenção dos blocos. Após a obtenção dos blocos, os fragmentos foram seccionados usando um micrótomo em 5,0 μm e seguidos para a coloração e marcação dos tecidos e células, sendo utilizada a hematoxilina-eosina, tricrômico de Gomori, Weigert-Van Gienzon e AgNOR.

4.4. Avaliação morfológica e morfométrica das camadas da pele, identificação e quantificação de células

Para a identificação e quantificação das células, tecidos e suas camadas, lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina para a visualização dos seguintes parâmetros: identificação

e mensuração (em μm) da epiderme e suas respectivas camadas (basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea), identificação e mensuração da derme (em μm); identificação e mensuração da espessura da cartilagem (em μm), contabilização e localização das células de Langerhans, fibroblastos, melanócitos, queratinócitos, condrócitos, glândulas sebáceas e sudoríparas (**Quadro 2**).

Para a padronização na obtenção das análises acima, 20 imagens (magnitude 40x), foram capturadas e registradas, usando um fotomicroscópio (Leica, DM5000 B; Wetzlar, Alemanha) acoplado a uma câmera digital (Leica DFC3000 FX; Wetzlar, Alemanha). Posteriormente, as imagens foram analisadas com auxílio do software Image J.

Quadro 2. Caracterização e descrição das estruturas do pavilhão auricular apical. Fonte: SAMUELSON, 2007.

Camadas e constituintes da pele		
Descrição Epidérmica	Camada Basal	Células, como as germinadoras e melanócitos sintetizadores de melanina.
	Camada Espinhosa	Células como queratinócitos, células de Langerhans e Merkel.
	Camada Granulosa	Células contendo grânulos querato-hialina.
	Camada Lúcida	Células achatadas.
	Estrato Córneo	Células mortas rica em queratina.
Descrição Dérmica	Camada Papilar	Camada de tecido conjuntivo frouxo e grande presença de células como os fibroblastos, macrófagos, plasmócitos, leucócitos, mastócitos e fibras colágenas.
	Camada Reticular	Camada de tecido conjuntivo denso, fibroblastos, glândulas sebáceas e sudoríparas.
Descrição da Cartilagem	Cartilagem Elástica	Presença de condrócitos, rica em fibras elásticas, poucas fibras colágenas e contínuas ao pericôndrio.
	Pericôndrio	Camada de tecido conjuntivo que promove a nutrição, oxigenação e eliminação de substâncias metabolizadas pelas células do tecido cartilaginoso.

4.5. Avaliação morfológica e morfométrica da matriz extracelular

Para a identificação e quantificação de fibras colágenas, lâminas foram coradas com tricrômico de Gomori. A coloração, ocorreu por um procedimento de passo único, onde combinou colorações de hematoxilina férrica de Weigert e solução tricrômica. Já para a identificação de fibras elásticas, lâminas foram coradas pelo método de Weigert-Van Gienson, onde processo se deu pela combinação dos corantes hematoxilina férrica de Weigert e o corante de Weigert e Van Gienson.

Dessa forma, para a padronização na obtenção de análises, um total de 10 imagens foram obtidas para fibras colágenas (magnitude 40x) e 10 imagens para fibras elásticas (magnitude 100x) usando o microscópio (Leica, DM5000 B; Wetzlar, Alemanha) acoplado a uma câmera digital (Leica DFC3000 FX; Wetzlar, Alemanha). Finalmente, as imagens obtidas foram analisadas com o auxílio do software Image J quanto a área total de fibras colágenas do tecido, e posteriormente submetidas ao cálculo percentual para a obtenção da quantidade total de fibras por área de tecido analisado.

4.6. Processamento e análise da ultraestrutura do pavilhão auricular apical

Inicialmente, foi realizado o processamento de amostras oriundas do pavilhão auricular apical de preás. Para tanto, fragmentos foram fixados em solução de glutaraldeído (2,5%) em 5,0 mL de PBS durante 7 dias. Após a fixação, os fragmentos foram lavados em PBS 0,1 M e pH 7,4 por meio de banhos de imersão durante 10 min, sendo este processo repetido duas vezes e pós-fixados em solução de tetróxido de ósmio 2% por uma hora. Na sequência, os fragmentos foram lavados e desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico (15-100%) durante 5 minutos

Após a etapa de desidratação, as amostras foram encaminhadas ao ponto crítico, para que houvesse a remoção de água e posteriormente fossem metalizados com ouro. Em seguida, os tecidos foram avaliados no microscópio Tescan Performance in Nanospace (Type, VEJA 3 LMU) e obtidas fotoeletromicrografias para a visualização ultraestrutural do tecido. Portanto, a partir deste processamento foram analisados os seguintes parâmetros: organização morfológica da pele quanto às camadas, sendo a epiderme, derme e cartilagem que estará localizada na subjacência da pele. Além disso, também foram identificados estruturas anexas que fazem parte da pele, como o folículo piloso.

4.7. Avaliação do potencial proliferativo

Para a análise do potencial proliferativo, a técnica de AgNOR foi realizada, onde a partir da ligação da prata as NORs foi possível visualizar a formação de grânulos escuros, que são proteínas distribuídas pelo núcleo das células. Assim, 12 imagens (magnitude 100x) por animal foram obtidas usando um fotomicroscópio (Leica, DM5000 B; Wetzlar, Alemanha) acoplado a uma câmera digital (Leica DFC3000 FX; Wetzlar, Alemanha). Posteriormente, foi realizado a quantificação de 100 núcleos de células marcados e selecionados aleatoriamente, onde se calculou os valores de AgNOR área/célula (μm^2) e AgNOR número/célula.

4.6. Análise dos dados

Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão de um total de oito repetições (um animal/uma repetição), sendo apresentados de forma descritiva.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação morfológica e morfométrica das camadas da pele, identificação e quantificação de tecidos e células do pavilhão auricular apical de preás

Por meio da microscopia de luz, observou-se um tecido organizado de forma regular, com evidente distinção entre epiderme, caracterizada por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e a derme formada por uma rica matriz extracelular (**Figura 5A**). Assim, primeiramente na epiderme foi possível identificar as camadas basal ($4,8 \pm 0,53 \mu\text{m}$), espinhosa ou camada intermediária ($23,36 \pm 8,11 \mu\text{m}$) e o estrato córneo ($3,85 \pm 0,6 \mu\text{m}$) (**Figura 5B-6A**), aferindo-se uma espessura total de $32,01 \pm 4,4 \mu\text{m}$ (**Figura 6B**). Adicionalmente, nesta mesma região, foi observado que a camada basal como uma camada única de células e a camada intermediária com média de quatro camadas de células epidermais (**Figura 5B**).

Ainda, como constituição celular na região epidermal, foi possível visualizar as células de Langerhans, queratinócitos e melanócitos (**Figura 5B**). Já na região mais profunda, evidenciou-se a derme que continha uma área de $258,24 \pm 22,89 \mu\text{m}$, obtendo-se $290,25 \pm 23,68 \mu\text{m}$ para espessura total do tecido (**Figura 6B**). Além disso, na região dermal foram identificados os fibroblastos e glândulas anexas, sendo estas evidenciadas pelas glândulas sudoríparas e sebáceas (**Figura 5B-C**), localizadas principalmente na região mais superficial, próximas ao folículo piloso, sendo esta a principal estrutura queratinizada da pele (**Figura 5A**).

Adicionalmente, os diferentes tipos celulares presentes na epiderme e na derme foram quantificados (**Tabela 1**), observando que na epiderme os tipos celulares mais abundantes foram queratinócitos ($29,84 \pm 7,61$) e melanócitos ($29,91 \pm 6,2$). Além disso, a região dermal apresentou um número de fibroblastos $112,14 \pm 11,33$ com presença de $1,23 \pm 0,36$ glândulas sudoríparas e $1,34 \pm 0,24$ sebáceas. Finalmente, quanto às características observadas na cartilagem foram evidenciadas um pericôndrio com $10,51 \pm 1,81 \mu\text{m}$ de espessura (**Figura 5D; Figura 6B**), com a presença de $27,51 \pm 4,72$ condrócitos.

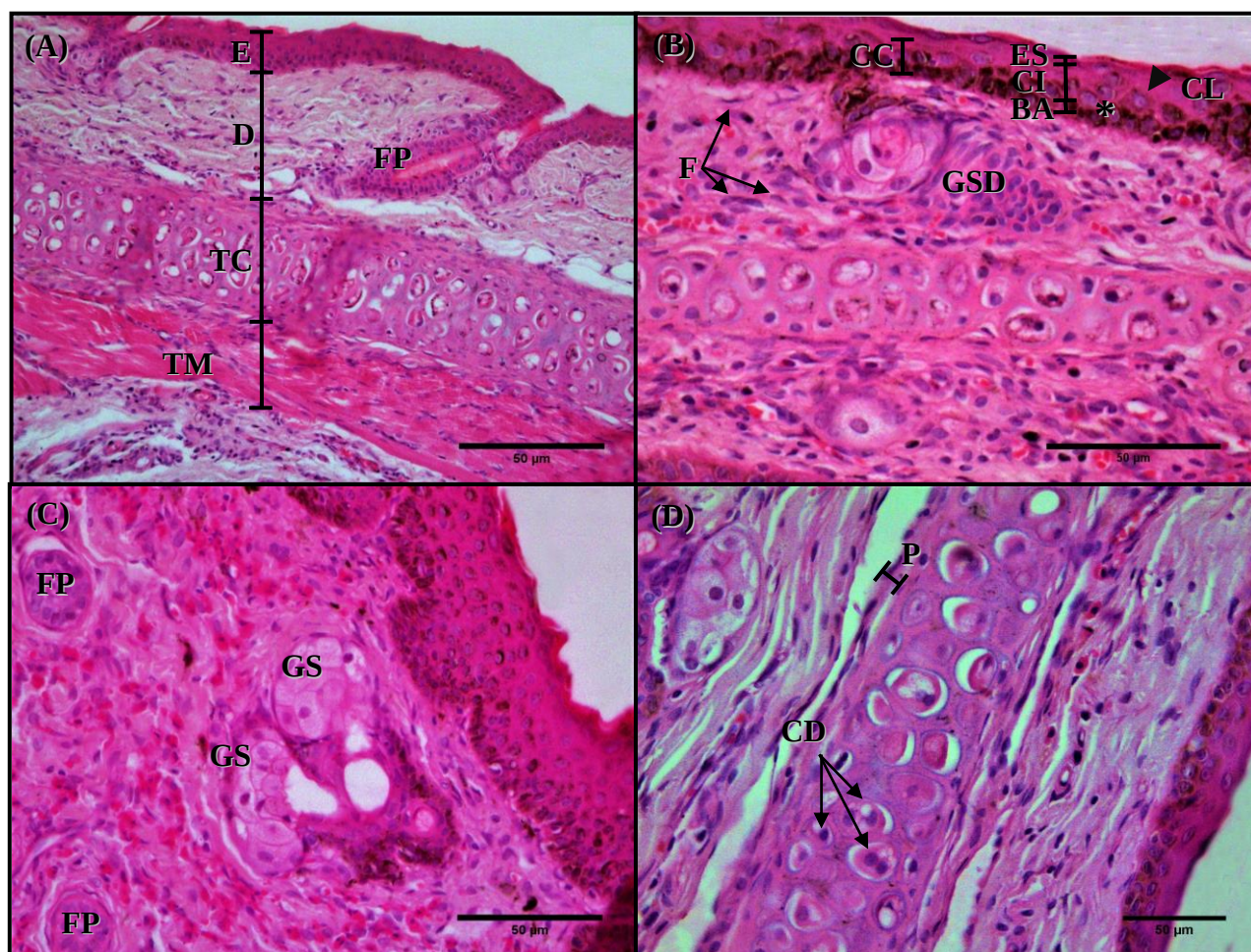


Figura 5. Fotomicrografias do pavilhão auricular apical de preás coradas com HE. **(A)** Panorama geral da cútis, evidenciando suas camadas, Epiderme (E), Derme (D), Tecido cartilagenoso (TC), Tecido muscular (TM), Folículo piloso (FP). **(B)** Corte perpendicular da pele indicando o Estrato córneo (ES), Camadas Intermediárias (CI), Camada basal (BA), Célula de Langerhans (CL), Queratinócito (▲), Melanócito (*), Camada de células (CC), Fibroblastos (F), Glândula sudorípara (GSD). **(C)** Anexos da derme, Glândulas sebáceas (GS) e Folículo piloso (FP). **(D)** Tecido cartilagenoso, Condrócitos (CD), Pericôndrio (P). A 20x. B, C e D 40x.

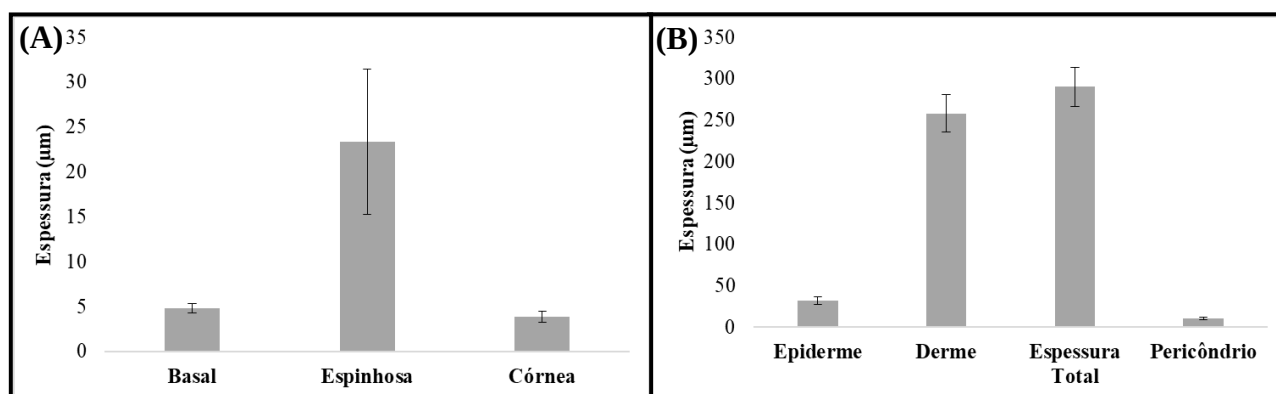


Figura 6. Mensuração da epiderme e suas camadas, derme, área total e pericôndrio do pavilhão auricular apical de preás utilizando a coloração HE. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. **(A)** Mensuração das camadas epidérmicas. **(B)** Mensuração da epiderme, derme, espessura total do tecido e pericôndrio.

Tabela 1. Número de células da epiderme e derme do pavilhão auricular apical de preás.

Células	Quantificação	
	Média $\pm$ D.P.	Variação
Células de Langerhans	24,80 $\pm$ 2,41	15 – 34
Queratinócitos	29,84 $\pm$ 7,61	15 – 56
Melanócitos	29,91 $\pm$ 6,21	16 – 51
Fibroblastos	112,14 $\pm$ 11,33	68 – 158
Condrócitos	27,51 $\pm$ 4,72	15 – 41

5.2. Avaliação morfológica e morfométrica da matriz extracelular do pavilhão auricular apical de preás

A partir da análise do perfil de fibras colágenas e elásticas da matriz extracelular de preás (**Figura 7**) foi possível observar o padrão do espessamento de fibras colágenas na camada da derme, não sendo possível distinguir derme papilar e reticular. Adicionalmente, uma densidade total de colágeno de 72,0 % $\pm$ 0,1 foi obtida (**Figura 7B**). Na região dérmica, a identificação de fibras elásticas por meio do uso da hematoxilina de Weigert-Van Gienson

revelou uma baixa proporção de fibras elásticas, quando comparadas as fibras colágenas (Figura 7C).

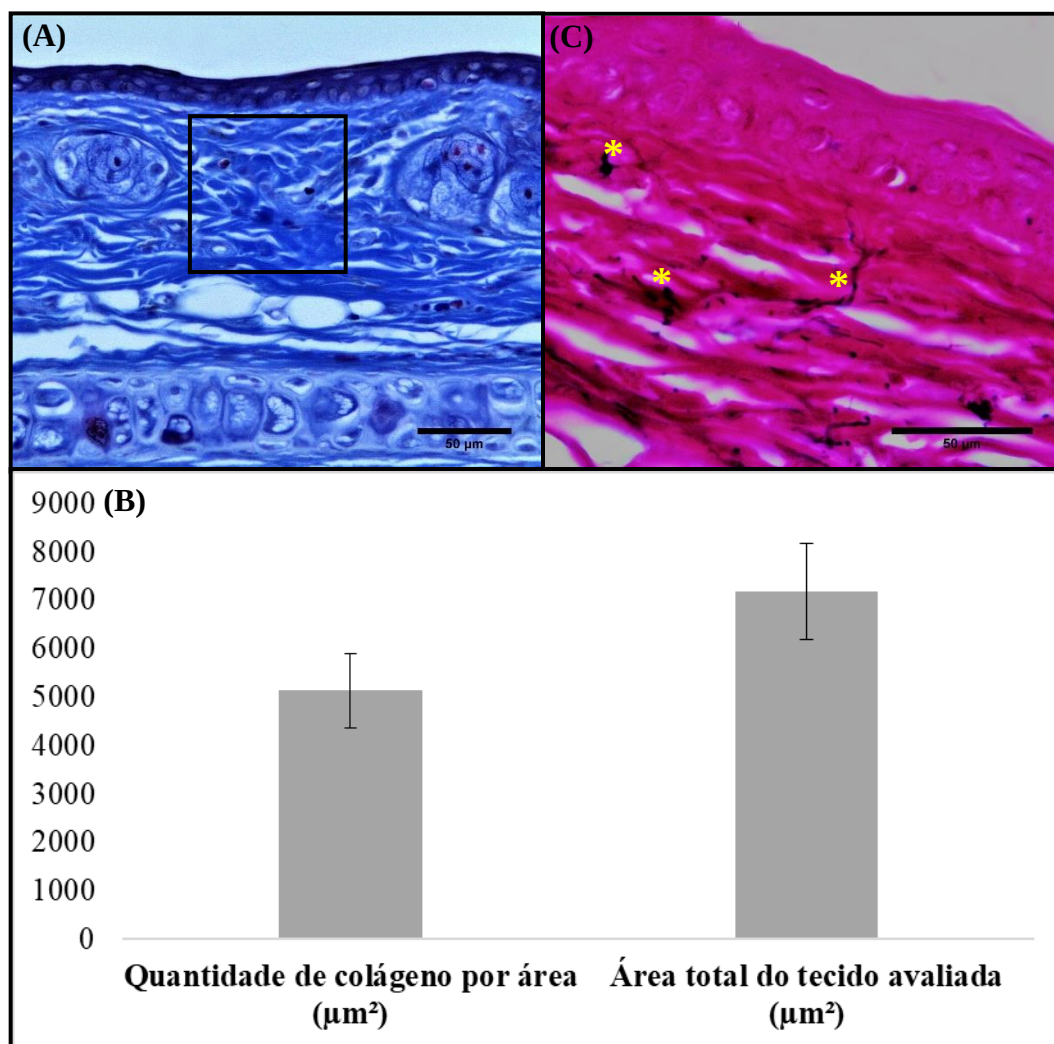


Figura 7. Perfis de fibras colágenas e elásticas do pavilhão auricular apical de preás. **(A)** Corte perpendicular da pele indicando a área de colágeno avaliada, corado por tricrômico de Gomori. **(B)** Valores por área e área total de colágeno. **(C)** Corte perpendicular da pele indicando fibras elásticas, corado por hematoxilina de Weigert-Van Gieson. Fibras elásticas (*). **A** 40x. **C** 100x.

5.3. Descrição ultraestrutural do pavilhão auricular apical de preás

A partir da avaliação ultraestrutural do pavilhão auricular apical de preás foi possível visualizar um panorama geral do tegumento (**Figura 8A**), sendo possível distinguir as camadas que formam a pele, sendo estas a epiderme e a derme (**Figura 8B**). Além disso, abaixo da derme foi possível evidenciar o tecido cartilaginoso (**Figura 8B**).

Assim, detalhando as estruturas encontradas em cada uma destas camadas, observou-se que na epiderme há uma camada mais superficial, o estrato córneo (**Figura 8C**). Já na derme, a qual está localizada logo abaixo da epiderme, foi possível identificar as fibras que constituem a matriz extracelular (**Figura 8D**). Além disso, na região mais profunda da pele, foi possível distinguir o tecido cartilaginoso, por meio da visualização dos condrócitos (**Figura 8E**), bem como as lacunas que são as regiões nas quais as células estão localizadas (**Figura 8F**).

Ainda, por meio das análises ultraestruturais do pavilhão auricular apical de preás, foi possível visualizar como constituintes anexos a pele a ocorrência de pelos (**Figura 8G**), estruturas queratinizadas formadas pelas células que estão na derme, e prolongadas até o ducto exterior à epiderme.

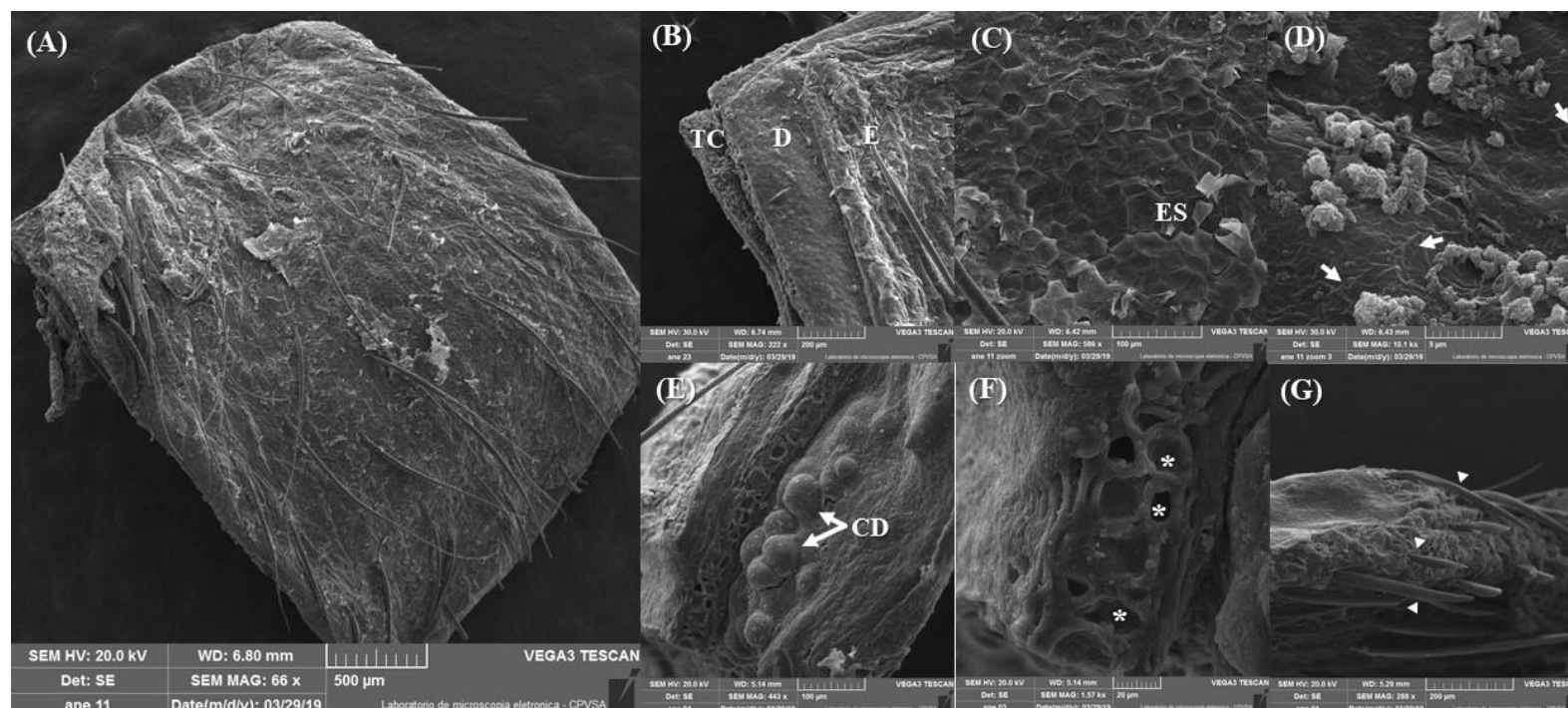


Figura 8. Eletromicrografia de varredura do pavilhão auricular apical de preás. **(A)** Secções da pele. **(B)** Corte evidenciando camadas da pele. Epiderme (E). Derme (D). Tecido cartilaginoso (TC). **(C)** Estrato córneo (ES) desprendendo-se da epiderme. **(D)** Região dermal revelando fibras do tecido (setas). **(E)** Corte perpendicular evidenciando condrócitos (CD). **(F)** Tecido cartilaginoso demonstrando lacunas de condrócitos (*). **(G)** Presença de pelos (setas-triângulo) como anexos da derme.

5.4. Avaliação da atividade proliferativa de células do pavilhão auricular apical de preás

A técnica de AgNOR foi utilizada para determinar o número e a área de grânulos escuros de fibroblastos, uma vez que estes indicam a atividade proliferativa celular. Nesse contexto, os NORs puderam ser observados em fibroblastos localizadas na região dermal (**Figura 9A**). Portanto, para a atividade proliferativa de fibroblastos observou-se $1,36 \pm 0,15$ para número de NORs/célula e $1,01 \pm 0,13$ de NORs de área/célula (**Figura 9B**).

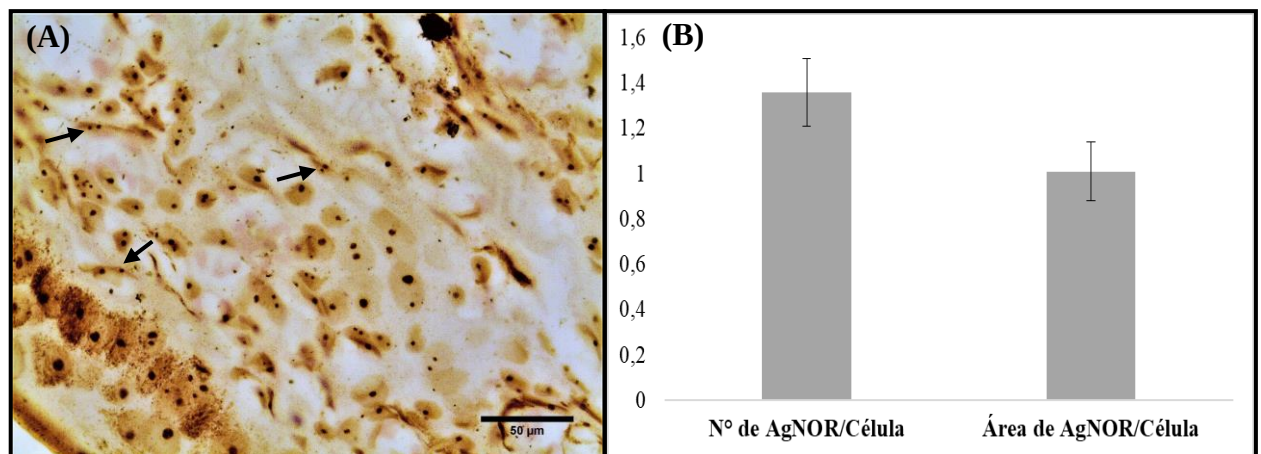


Figura 9. Avaliação do potencial proliferativo de fibroblastos da derme do pavilhão auricular apical de preás, marcadas por meio do nitrato de prata (AgNOR). **(A)** Fotomicrografia identificando NORs de fibroblastos (setas). 100x. **(B)** Média $\pm$ desvio padrão quanto ao número e área de NORs de fibroblastos.

6. DISCUSSÃO

O conhecimento acerca do padrão morfológico da pele do pavilhão auricular apical de preás é fundamental para o estabelecimento de bancos somáticos voltados para roedores silvestres. Nesse contexto, sabe-se que a arquitetura epidérmica de mamíferos é constituída por cinco camadas, sendo estas a basal, espinhosa, granulosa, lúcida e o estrato córneo bastante queratinizado (HIB, 2003). Contudo, na pele auricular de preás apenas foi possível visualizar a camada basal, espinhosa e o estrato córneo. Assim, essa característica pode estar associada principalmente ao tipo de pele estudada, sendo caracterizada como uma pele fina (SOUZA et al., 2009), onde as camadas da granulosa e lúcida estão menos evidentes ou quase sempre ausente (HIB, 2003; SILVEIRA et al., 2009). Tal característica foi similar ao observado em ratos Wistar (BEM, 2008), catetos (BORGES et al., 2017) e onça-pintada (PRAXEDES et al., 2019).

Ainda, sobre a epiderme, foi realizada a mensuração da espessura de cada uma de suas camadas constituintes. Assim, quando comparamos a epiderme de preás com a de pacas (ISOLA et al., 2013), foi observado que pacas apresentaram o dobro do espessamento da camada córnea e da área total da epiderme para cada região avaliada do tegumento. Em contrapartida, ao compararmos as camadas epidérmicas de cutias, foi observado em preás uma camada espinhosa mais espessa, quando comparada a estes animais (NASCIMENTO et al., 2018). Contudo, a região basal e o estrato córneo foram menores quando comparados ao mesmo animal. Isso pode ter ocorrido porque apesar desses roedores pertencerem a mesma ordem são espécies de famílias diferentes, indicando possivelmente a particularidade existente para cada espécie, ou ainda, que o ambiente pode refletir sobre os padrões morfológicos da pele, uma vez que este órgão está em contato direto com o meio ambiente. Estudos anteriores demonstraram que as propriedades deste órgão variam de acordo não só com o local em que cada espécie habita (KLAUER et al., 1999; BIELAVSKI et al., 2018), como também a idade e o gênero da espécie. Adicionalmente, a ocorrência de desprendimento da camada córnea pode levar a quantificação de uma maior espessura da epiderme (SILVEIRA et al., 2009). Por outro lado, um estudo realizado por Ciena et al. (2017) em que descrevem as características morfológicas da região da língua de cobaias mostraram que a camada epidérmica é muito maior quando comparado aos preás.

No que se refere à presença de células constituintes da epiderme de preás foi observado, principalmente, a presença de queratinócitos que localizavam-se, predominantemente, na camada basal e espinhosa, próximas aos melanócitos, conforme

descrito para mamíferos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; ANDRADE; FERRARI, 2015). Em geral, estas células são de grande importância para a pele, pois sintetizam a melanina, pigmento este relacionados a pelagem do animal (HIB, 2003; ANDRADE; FERRARI, 2015).

Desse modo, foi observado $29,84 \pm 7,61$ de queratinócitos e $29,91 \pm 6,21$ melanócitos presentes na epiderme de preás. Esse número de células difere ao que é apresentado para as cutias, onde os autores visualizaram uma média de $14,74 \pm 4,24$ queratinócitos e $12,59 \pm 4,66$ melanócitos (NASCIMENTO et al., 2018). Já em estudos com catetos, Borges et al. (2017) observaram uma média de $43,4 \pm 16,4$ de melanócitos, valor quase que o dobro para o que foi verificado em preás. Essas divergências nos valores podem ser justificadas em virtude da atividade proliferativa das células localizadas no estrato basal da epiderme (SILVA, 2015), uma vez que em catetos foi observado uma espessura da camada basal de $22,5 \mu\text{m}$, quando comparado ao preá em que a espessura de sua camada foi $4,8 \pm 0,53 \mu\text{m}$.

Já no que diz respeito à região dermal foi possível identificar a presença de fibras colágenas e elásticas, além dos fibroblastos como principal tipo celular. Ainda, foi possível visualizar também estruturas queratinizadas, como o pelo o qual estava localizado especialmente na região superficial da derme e as glândulas anexas, sendo a sebácea e sudorípara que estavam esparsas sobre a camada dérmica associadas ao folículo piloso. Entretanto, no presente estudo não foi possível distinguir a derme superficial ou papilar, bem como a derme profunda ou reticular.

Esse resultado provavelmente está relacionado a esta ser uma região de pele fina, corroborando com o descrito para outras espécies de roedores, como cutias (NASCIMENTO et al., 2018) e cobaias (CIENA et al., 2017) onde também não foi possível distinguir tais camadas. Além disso, em pacas, foi possível identificar e diferenciar as duas camadas dermais (ISOLA et al., 2013), provavelmente porque neste estudo os autores descreveram a região como pele grossa. Ainda, em ratos domésticos, Santos et al. (2006) mostraram que a derme de rato Wistar não apresentava as camadas da região dermal, relatando que a pele pode variar conforme a região que esteja sendo estudada e que a derme sofre, normalmente, espessamentos, justificando a não distinção entre essas camadas.

Assim, além da caracterização da camada dérmica da pele do pavilhão auricular apical de preás, foi realizado também mensuração desta região, obtendo-se uma espessura total de $258,24 \pm 22,89 \mu\text{m}$, o que divergiu de outros roedores silvestres e domésticos, como observado na pele do pavilhão auricular de cutias ($183,10 \pm 44,01 \mu\text{m}$; NASCIMENTO et al. 2018, na derme da região torácica de pacas ($3120,90 \pm 40,30 \mu\text{m}$; ISOLA et al., 2013) e em ratos Wistar ($673,63 \pm 222,46 \mu\text{m}$, SILVA, 2015). Por outro lado, em outras espécies

silvestres, Borges et al. (2017) observaram que a região dermal da pele de catetos apresentava uma espessura de 222,6 μm . Já em pele da região torácica de suínos, obteve-se 3848,2 μm e em macacos-rhesus 1457,2 μm (GRABAU et al., 1995). Em geral, foram observadas diferenças significativas para todas as espécies descritas quando comparadas aos preás. Isso pode estar relacionado, em virtude da atividade sintética dos fibroblastos, já que estas células estão intimamente relacionadas a produção de fibras que constituem a região dérmica (MOIR, 2004).

No que diz respeito à constituição celular da derme de preás, os fibroblastos constituem o tipo celular mais abundante, sendo de grande importância para a manutenção da camada dérmica, bem como, por serem utilizados em ferramentas biotecnológicas visando a conservação de espécies (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; PRAXEDES et al., 2019). Portanto, levando em consideração esta premissa, foi realizada a quantificação de fibroblastos na derme da pele de preás, onde obteve-se $112,14 \pm 11,33$. Esse valor difere de outras espécies filogeneticamente próximas aos preás, como cutias ($103,53 \pm 24,73$) e ratos Wistar à qual os autores obtiveram um número de $7,14 \pm 4,71$ células (SILVA, 2015; NASCIMENTO et al., 2018). Por outro lado, Borges et al. (2017) quantificaram este mesmo tipo celular na derme do pavilhão auricular de catetos e observaram um número de $127,0 \pm 41,1$ células. Já em onça-pintada, Praxedes et al. (2019) verificaram um número de $20,6 \pm 3,2$ células. Dessa forma, percebe-se que preás possuem uma elevada quantidade de fibroblastos, quando comparados a outras espécies e esses valores se aproximam ao que foi reportado para cutias, roedor filogeneticamente próximo.

Ainda, na derme foram observadas como estruturas anexas, as glândulas sebáceas e sudoríparas, onde se obteve um número de $1,34 \pm 0,24$ para glândulas sebáceas e $1,23 \pm 0,36$ de glândulas sudoríparas em preás. Em geral, essas glândulas desempenham papéis fundamentais por meio da secreção de fluidos corporais, promovendo o controle e a homeostase do animal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Dessa forma, comparando-se a quantidade de glândulas presentes em preás e em outros roedores, observou-se que a partir da descrição morfológica da pele da cabeça de *Spalax* (*Spalax ehrenbergi*) não é possível identificá-las (KLAUER et al., 1999). Isso pode estar relacionado ao habitat do animal, pois o mesmo vive em ambientes desérticos e com pouca água, sendo um gasto energético desnecessário para a espécie na liberação de água, diferentemente dos preás que vivem em regiões tropicais (KLAUER et al., 1999).

Já no que diz respeito à quantificação de fibras presentes na derme, observou-se um percentual de $72\% \pm 0,1$ de fibras colágenas, valor superior ao que é descrito para roedores,

como a paca com 50% de colágeno na pele da região torácica e medial do carpo (ISOLA et al., 2013) e em ratos com 45% (SILVA, 2015). Já em onça-pintada foi observado um percentual de fibras colágenas de onças-amarelas e pretas de 65% e 49%, respectivamente (PRAXEDES, 2019). Adicionalmente, comparando-se esse resultado ao que foi observado para mamíferos domésticos como cães e gatos, observou-se o diâmetro do perfil de colágeno com 87% (SOUZA et al., 2009). Já comparando com suínos e preás, houveram também divergências, uma vez que autores observaram uma baixa concentração de colágeno da região da pele avaliada (KHIAO et al., 2019).

Em geral, a divergências de valores observados sob as diferentes espécies se dá principalmente pela manutenção do número de células na derme, que dependem tanto do balanço entre a proliferação e a morte celular (apoptose) de fibroblastos, já que estes são produtores das fibras que constituem a derme (SILVA, 2015). Além disso, pode estar associado à faixa etária do animal, uma vez que com o tempo a síntese de colágeno da derme decresce por diversos fatores, como o número de células e a ação efetiva de hormônios, como o estrogênio que induz a atividade proliferativa das células (LANGE, 2001; PAPALÉO et al., 2005).

Além de fibras colágenas presentes na derme de preás, foi realizada a identificação de fibras elásticas. Assim, a partir das análises realizadas, foi evidenciado a presença de fibras elásticas sobre a camada dérmica, o que corroborou com os estudos observados tanto em cutias quanto em ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), bem como em búfalos mediterrâneos (*Bubalus bubalis*), bovinos da raça Red Sindi (*Bos indicus*), suínos e humanos (RIBEIRO et al., 2013; BRITO et al., 2013; KHIAO et al., 2019). Assim, em geral, as fibras elásticas são de grande importância para os tecidos do pavilhão auricular, promovendo a elasticidade do tecido, bem como auxiliando na fixação da pele sobre as estruturas adjacentes, garantindo suporte ao longo da vida para o animal, uma vez que a falta desse componente comprometeria a arquitetura do pavilhão auricular e assim causaria doenças degenerativas ou inflamatórias (KHIAO et al., 2019).

Abaixo da derme do pavilhão auricular apical de preás, foi observado um terceiro tecido, sendo este o tecido cartilaginoso o qual promove a manutenção e a forma da estrutura do tegumento do animal, como pôde ser observado por meio da análise da ultraestrutura e morfológica. Assim, ao que se refere a este tecido, o mesmo é considerado um tipo de tecido conjuntivo com características de suporte à qual garante a forma de estruturas por se apresentar altamente resistente (HIB, 2003). Contudo, este tecido apresenta uma particularidade, não apresentar vasos sanguíneos, sendo nutrido então pelo pericôndrio. Em

geral, o pericôndrio é uma camada de tecido conjuntivo em volta a cartilagem fornecendo a nutrição do mesmo (HIB, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Assim, no que se refere ao tecido cartilaginoso de preás, foi identificado o pericôndrio na região mais superficial do tecido. Ainda na região do pericôndrio, foi possível verificar células semelhantes a fibroblastos chamadas de condroblastos. Estas células são imaturas e posteriormente formam os condrócitos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Os condrócitos são o principal tipo celular do tecido cartilaginoso, esta célula é responsável em garantir e formar toda a matriz cartilaginosa. Segundo relatos histológicos, as mesmas estão localizadas em lacunas do tecido (HIB, 2003). Assim, foi observado $27,51 \pm 4,72$ células. Esse número foi similar ao observado em cutias (NASCIMENTO et al., 2018), ratos Wistar (CARDOSO, 2018).

Além de avaliações morfológicas destes tecidos por diferentes colorações, foi caracterizada por meio da técnica de MEV a pele apical do pavilhão auricular de preás. Assim, a partir dos resultados obtidos, percebeu-se, inicialmente que a região estudada, ultraestruturalmente, se divide em duas camadas, sendo a epiderme e derme conforme é observado descrições para roedores e mamíferos silvestres, padrão este também evidenciado por meio da histologia clássica (SAMUELSON, 2007).

Finalmente, avaliando-se a atividade proliferativa de fibroblastos por AgNOR, na pele de preás foram obtidos valores que estão de acordo ao que foi descrito por Bezerra (2018) na avaliação de células de placenta de preás. Em contrapartida, estudos realizados com cutias mostraram que o número AgNORs em fibroblastos da derme do pavilhão foi maior quando comparado ao de preás, onde os autores obtiveram valores de $1,69 \pm 0,67$ número de AgNOR/célula e $1,85 \pm 1,0$ para área de AgNOR/célula (AQUINO et al., 2019). Já em outros mamíferos silvestres, Borges et al. (2017) e Praxedes et al. (2019) observaram que a atividade proliferativa de fibroblastos de catetos foi de 2,48 para área de AgNOR/célula e de onça-pintada foi 1,2 para atividade proliferativa, respectivamente.

7. CONCLUSÕES

Este foi o primeiro trabalho que caracterizou o pavilhão auricular apical de preás, permitindo-se concluir que há similaridades e diferenças quanto à arquitetura do pavilhão auricular apical desses animais. Dessa forma, diferentes parâmetros observados neste estudo divergiram de outros roedores e mamíferos silvestres, para a organização e espessura das camadas epidermais, número de células que as formam, concentração de fibras colágenas e potencial proliferativo dos fibroblastos.

Finalmente, por meio deste estudo, puderam-se estabelecer padrões no que diz respeito ao perfil morfológico, morfométrico, ultraestrutural e proliferativo do pavilhão auricular apical de preás, permitindo, conhecer e auxiliar em protocolos que visem a conservação de amostras somáticas não só desta espécie, mas de outros roedores silvestres próximos filogeneticamente.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABHISHEK, K.J; SINGH, D; DUBEY, K; MAURYA, R; MITTAL, S; PANDEY, A.K. Models and methods for *in vitro* toxicity. ***In vitro Toxicology***, p. 45–65, 2018.

ALHO, C.J.R. Importância da biodiversidade para a saúde humana: uma perspectiva ecológica. ***Estudos Avançados***, v. 26, p. 151–165. 2012.

ALBANESE, C; SCARPONI, C; GIUSTIZIERI, M.L; GIROLOMONI, G. Keratinocytes in inflammatory skin diseases. ***Inflammation & Allergy***, v. 4, p. 329–334, 2005.

ANDRADE, F.G; FERRARI, O. Atlas digital de histologia básica. Brasil: UEL, 2015. 75 p.

AQUINO, L.V.C; PEREIRA, A.F; PRAXEDES, E.A; NASCIMENTO, M.B; SILVA, M.B. Avaliação histomorfológica de fibras colágenas e da atividade proliferativa do tecido somático de cutias (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1758) – Resultados Preliminares. Brasil, 2019. No prelo.

ARRIEIRA, R.L; MOTA, T.F.M; FILHO, H.O. Análise cienciométrica da ordem Rodentia (Mammalia: Erethizontidae) como ferramenta para o delineamento de áreas prioritárias à conservação. ***Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde***, v. 19. p. 93–102. 2013.

AZULAY, R.D. Dermatologia I. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 6a ed., 2015.

BAKEEVA, L; VAYS, V; VANGELI, I; ELDAROV, C; HOLTZE, S; HILDEBRANDT, T; SKULACHEV, V. Delayed onset of age-dependent changes in ultrastructure of myocardial mitochondria as one of the neotenic features in naked mole rats. ***International Journal of Molecular Sciences***, v. 20, p. 1–11, 2019.

BARCELOS, D.C. Efeitos da atividade turística sobre a fauna de mamíferos terrestres em um parque nacional brasileiro. 2018. 93p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade de Brasília.

BARBOSA, F.S. Modelo de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea. 2001. 119p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

BEM, D.M. Análise histológica em tecido epitelial sadio de ratos Wistar (*in vivo*) irradiados com diferentes intensidades do ultra-som. 2008. 45p. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, São Carlos.

BEZERRA, F.V.F; FAVARON P.O; MESS, A.M; JÚNIOR, H.N.A; OLIVEIRA, G.B; PEREIRA, A.F; MIGLINO, M.A; OLIVEIRA, M.F. Subplacental development in *Galea spixii*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 11, p. 2175–2182, 2018.

BEZERRA, A.M.R. Revisão taxonômica do gênero *Galea meyen*, 1832 (Rodentia, Caviidae, Caviinae). 2008. 132p. **Tese (Doutorado)** – Universidade de Brasília, Brasília.

BIELAVSKI, C.H; SGNAULIN, H; HALL, K.C; MORENO, L; FERNANDEZ, M; ARAÚJO, T. Sistema tegumentar. 4p. 2018. Universidade Federal de Pelotas, PR.

BORGES, A.A; BEZERRA, F.V.F; COSTA F.N; QUEIROZ NETA, L.B.N; SANTOS, M.V.O; OLIVEIRA, M.F; SILVA, A.R; PEREIRA, A.F. Histomorphological characterization of collared peccary (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) ear integumentary system. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootécnia**, v. 69. p. 948–954. 2017.

BRITO, M.C; CURY, D.P; BARBOSA, A.C.S; SILVEIRA, M.P; CHOPARD, R.P. Morphological and morphometric study of collagen and elastic fibers of the gastroduodenal junction of adult and old Wistar rats. **Journal Morphological**, v. 30. p. 281–288, 2013.

BUCKLEY, R.C; MORRISON, C; CASTLEY, J.G. Net effects of ecotourism on threatened species survival. **Plos One**, v. 11, p. 1–12. 2016.

CARDOSO, L.D. Avaliação histológica de cartilagens elásticas submetidas a diferentes processos de conservação e tratamento alcalino. 2018. 65p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal de Goiás, GO.

CATZEFLIS, F; PATTON, J; PERCEQUILLO, A; WEKSLER, M. 2016. *Galea spixii*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T8825A22189453.en>> Acesso em: 27 de Junho de 2019.

CIENA, A.P; SANTOS, A.C; VASCONCELOS, B.G; RICI, R.E.G; NETO, A.C.A; ALMEIDA, S.R.Y; MIGLINO, M.A; WATANABE, I. Morphological characteristics of the papillae and lingual epithelium of guinea pig (*Cavia porcellus*). **Acta Zoológica**, v. 100, p. 1–8, 2017.

COSTA, C.A.S; BORGES, A.A; SANTOS, M.V.O; QUEIROZ-NETA, L.B; PEREIRA, A.F. Ferramentas para a avaliação de células e tecidos somáticos após a criopreservação em mamíferos. Uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, p. 820–829, 2016.

COSTA, C.A.S; BORGES, A.A; SANTOS, M.L.T; QUEIROZ-NETA, L.B; SANTOS, M.V.O; FRANÇA, P.H.F; OLIVEIRA, M.F; SILVA, A.R; PEREIRA, A.F. Aplicação da vitrificação para fins de conservação de tecido somático de cutias (*Dasyprocta leporina*). In: XXI Seminário de Iniciação Científica (SEMIC) da UFERSA, 2015, Mossoró.

CHACUR, M.G.M; IBRAHIM, D.B; ARREBOLA, T.A.H; SANCHES, O.C; GIUFFRIDA, R; OBA, E; RAMOS, A.A. Avaliação da técnica de coloração AgNOR em testículos de ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 447–454, 2015.

CUJPERS, M.J.I; FRANK, B.S.W; JANSEN, J.A. Scanning electron microscopy stereoimaging for three-dimensional visualization and analysis of cells in tissue-engineered constructs: technical note. **Tissue Engineering**, v. 17, p. 1–6, 2011.

DAS, M; CHATTERJEE, B. Ecotourism: A panacea or a predicament? **Tourism Management Perspectives**, v. 14, p. 3–16. 2015.

DECO-SOUZA, T; PAULA, T.A.R; SAMPAIO, D.C; PAULINO, E.C; BOSCO, J.G.B; RIBEIRO, G.A; CARRETA-JR, M. Comparação entre duas concentrações de glicerol para criopreservação de sêmen de suçuarana (*Puma concolor*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 512–516, 2013.

DEDAVID, B.A; GOMES, C.I; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura: Aplicações e preparação de amostras. Brasil: EDIPUCRS, 2007. p. 60.

DZOBO, K; THOMFORD, N.E; SENTHEBANE, D.A; SHIPANGA, H; ROWER, A; DANDARA, C. Advances in regenerative medicine and tissue engineering: Innovation and transformation of medicine. **Stem Cells International**, v. 30. p. 1–25, 2018.

ENDO, K; SUZUKI, N; YOSHIDA, O; SATO, H; FUJIKURA, Y. The barrier component and the driving force component of transepidermal water loss and their application to skin irritant tests. **Skin Research and Technology**, v. 13, p. 425–435, 2007.

ESKANDARI, N; LEAH, A; MARQUEZ-CURTIS, L.E; MCGANN, J.A.W. Cryopreservation of human umbilical vein and porcine corneal endothelial cell monolayers. **Cryobiology**, v. 85, p. 63–72, 2018.

FLETCHER JR, R; DIDHAM, R.K; LEITE-BANKS, C; BARLOW, J; EWERS, R.M; ROSINDELL, J; HOLT, R.D; GONZALES, A; PARDINI, R. Is habitat fragmentation good for biodiversity?. **Biological Conservation**, v. 226, p. 9–15. 2018.

GRABAU, J.H; DONG, L; MATTIE, D.R. Comparison of anatomical characteristics of the skin for several laboratory animals. **Geo-Centers Inc Newton Centre**. 1995.

GOMES, K.M.S; COSTA, I.C; SANTOS, J.F; DOURADO, P.M.M; FORNI, M.F; FERREIRA, J.C.B. Induced pluripotent stem cells reprogramming: epigenetics and applications in the regenerative medicine. **Revista Associada a Medicina Brasileira**, v. 63, p. 180–189, 2017.

HIB, J. 2003. Sistema tegumentar, p.215-233. In: Hib J. (Ed.), Di Fiori Histologia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

ISOLA, J.G.M.P; MORAES, P.C; RAHAL, S.C; MACHADO, M.R.F. Morfologia, ultraestrutura e morfometria do tegumento da paca (*Cuniculus paca* Linnaeus, 1766) criada em cativeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, p. 674–682. 2013.

JARDIM, E.C.G; MANRIQUE, G.R; MENDONÇA, J.C.G; HANSSESIAN, A; BARROS, R.M.G. Uso de técnicas de análise histológica e imuno-histoquímica em odontologia. **Archives of Health Investigation**, v. 2, p. 40–49, 2013.

JAYAT, J; OJEDA, R. 2008. *Microcavia shiptoni*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T13321A3633098.en>> Acesso em: 27 de Junho de 2019.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Pele e anexos. In: JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histologia básica: texto & atlas. Brasil: Guanabara Koogan, 2013. p. 354–365.

KADOTA, S; PABON, L; HANS, R; MURRY, C.E. *In vivo* maturation of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes in neonatal and adult rat hearts. **Stem Cell Reports**, v. 8. p. 278–289. 2017.

KERBER, L. Imigrantes em um continente perdido: O registro fossilífero de roedores Caviomorpha (Mammalia: Rodentia: Ctenohystica) do cenozoico do Brasil. **Terra Didática**, v. 13. p. 185–211. 2017.

KLAUER, G; BURDA, H; NEVO, E. Adaptive differentiations of the skin of the head in a subterranean rodent, *Spalax ehrenbergi*. **Journal of Morphology**, v. 233. p. 53–66, 1999.

KHIAO, M; RICHARDSON, K.C; LOEWA, A; HEDTRICH, S; KAESSMEYER, S; PLENDL, J. Histological and functional comparisons of four anatomical regions of porcine skin with human abdominal skin. **Anatomia, Histology and Embryology**, v. 3. p. 207–217, 2019.

LANGE, F; KROTH, A; STEFFANI, J.A; LORENCETTI, N. Influência da laserterapia no processo cicatricial de queimaduras de terceiro grau. **Fisioterapia Brasileira**, v. 5. p. 335–340, 2001.

LEE, S; LEE, K; KIM, S.H; JUNG, Y. Enhanced cartilaginous tissue formation with a cell aggregate-fibrin-polymer scaffold complex. **Polymers**, v. 9, p. 1–16, 2017.

LIU, Z; CAI, YIJUN, YAN, W; WANG, Z; POO, M; SUN, Q. Cloning of macaque monkeys by somatic cell nuclear transfer. **Cell**, v. 172, p. 1–7, 2018.

LOBO, L.M; SANTOS, A.C; OLIVEIRA, M.F; NETO-ASSIS, A.C. Development of adrenal glands from the embryonic phase to puberty in Spix's yellow-toothed caviar (*Galea spixii*, Wagler, 1831). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 61, p. 1–12, 2018.

LOPES, D.V.S; SILVA, D.E; SILVA, F.M.S; PARAÍSO, L.A; SOARES, T.L; SOUZA, M.C.B. Áreas de proteção ambiental (APA) de conservação da bacia de celmm. **Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 4. p. 73–88. 2017.

LUZ, V.B; PIRES, C.F; MATIAS, M.C; AZEVEDO, H.C. Protocolo para caracterização histológica do ovário de ovinos. **Embrapa**, p. 1–14, 2016.

MACÊDO, L.B; MOURA, C.E.B; OLIVEIRA, M.F; PAULA, V.V; BEZERRA, F.V.F; QUEIROZ, G.F. Imunolocalização de receptores de leptina no ovário de preás (*Galea spixii* Wagler, 1831). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 558–564, 2018.

MALVASIO, A; ROCHA-NASCIMENTO, J.M; SANTOS, H.D; ATAÍDES, A.G; PORTELINHA, T.C.G. Morfometria e histologia das gônadas de machos e fêmeas recém-eclodidos de *Podocnemis expansa* e *Podocnemis unifilis* (Testudines, Podocnemididae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 34, p. 105–112, 2012.

MARTINS, L.L. Anatomia macroscópica e ultraestrutural da orelha da paca (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766). 2013. 49 p. **Tese (Doutorado)** – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo.

MAZUQUELI, J.P.G; MELO, A.G.C; DORETTO, E. Levantamento qualitativo de mamíferos silvestres no município de Lucianópolis – SP. **Rev. Científica Eletrônica de Engenharia Florestal da FAEF**, v. 31, p. 48–62, 2018.

MEHRABANI, D; MAHBOOBI, R; DIANATPOUR, M; ZARE, S; TAMADON, A; HOSSEINI, S.E. Establishment, culture, and characterization of guinea pig fetal fibroblast cell. **Veterinary Medicine Internation**, v. 12. p. 1–6, 2014.

MOIR, R.C. Envelhecimento do sistema tegumentar: Revisão sistemática da literatura. 2004. 111p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MONTANARI, T. Histologia: Texto, atlas e roteiro de aulas práticas. **Editora UFRGS**, 3. ed. Porto Alegre, RS, 2016.

MORETO, A.O; OLIVEIRA, F.D; BERTASSOLI, B.M; ASSIS, A.C.N. Morfologia Comparada do Aparelho Respiratório de Capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 267–277, 2017.

NASCIMENTO, M.B.; PEREIRA, A.F.; BORGES, A.A.; AQUINO, L.V.C.; PRAXEDES, E.A. Caracterização morfológica de tecidos somáticos derivados de cutias (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1758). In: Anais do XXIV Seminário de Iniciação Científica da UFERSA, Mossoró, RN, Brasil, 2018.

NUNES, C.S; CINSA, L.A. Princípios do processamento histológico de rotina. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**. v. 8, p. 31–40, 2016.

OLIVEIRA, G.B; OLIVEIRA, R.E.M; BEZERRA, F.V.F; CÂMARA, F.V; JÚNIO, H.N.A; OLIVEIRA, M.F, M.O. Origem e distribuição da artéria celíaca em preás (*Galea spixi* Wagler, 1831). **Ciências Animal Brasileira**, v. 18. p. 1–9. 2017.

ORSO, J; FERREIRA, A.S; KUFNER, D.E. Ecoturismo e conservação ambiental: Proposta de projeto para um jardim zoológico em Chapecó (SC). **Anuário de Pesquisa e Extensão UNOESC Xanxerê**, p. 1–17. 2017.

OGURA, A; INOUE, K; WAKAYAMA, T. Recent advancements in cloning by somatic cell nuclear transfer. **Royal Society Publishing**, v. 368, p. 1-12, 2012.

OZORIO, R.Z; BEZERRA, N.P; VIEIRA, F.S. Lições e reflexões sobre o turismo de base comunitária na reserva mamirauá. Brasil: Tefe, 2016. p. 296.

PAPALÉO, N.P; CARVALHO, F.E.T. Geriatria fundamentos, clínica e terapêutica. São Paulo: Atheneu, 2005: 210p.

PRAXEDES, E.A; OLIVEIRA, L.R.M; SILVA, M.B; BORGES, A.A; SANTOS, M.V.O; SILVA, H.V.R; OLIVEIRA, M.F; SILVA, A.R; PEREIRA, A.F. Effects of cryopreservation techniques on the preservation of ear skin – An alternativa approach to conservation of jaguar, *Panthera onca* (Linnaeus, 1758). **Cryobiology**, v. 88. p. 15–22, 2019.

PRAXEDES, E.A; BORGES, A.A; SANTOS, M.V.O; PEREIRA, A.F. Use somatic cell banks in the conservation of wild felids. **Zoo Biology**, v. 4. p. 258–263. 2018.

RIBEIRO, I.C.A; FIGUEIREDO, M.A; COSTA, F.B; PEREIRA-SAMPAIO, M.A; CHAGAS, M.A. Stereological study of the elastic fiber and smooth muscle cell system in the bovine and buffalo pênis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1. p. 107–112, 2013.

ROACH, N. 2016. *Cavia intermedia*. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-2.RLTS.T136520A22189125.en>> Acesso em: 27 de Junho de 2019.

RUAS, R.M.S; FURTADO, D.C; GUERRA, G.A.D; LOPES, C.T.A; DOMINGUES, S.F.S. Caça, captura e uso da fauna silvestre no Brasil como crimes ambientais e tabu científico: Reflexão sobre categorias teóricas. **Holos**, v. 5, p. 27–45, 2017.

SALVADOR, C.H; FERNANDEZ, F.A.S. Population dynamics and conservation status of the insular cavy *Cavia intermedia* (Rodentia: Caviidae). **Bio One Research Envolver**, v. 89. p. 1–10, 2008.

SAMPAIO, D.T; RUIZ-MIRANDA, C.R; BELLAN, D.O. Aspectos da caça comercial de preás – gênero *Cavia pallas*, 1766 – em Campos dos Goytacazes, RJ. **Vértices**, v. 14, p. 21–35. 2012.

SANTOS, A.C; VIANA, D.C; BERTASSOLI, B.M; VASCONCELOS, B.G; OLIVEIRA, D.M; RICCI, R.E.G; OLIVEIRA, M.F; MIGLINO, M.A; ASSIS-NETO, A.C. Adrenal glands of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii* Wagler, 1831): morphological and morphometric aspects. **Brazilian Journal Biology**, v. 76, p. 645–655. 2016.

SANTOS, M.F.S; CZECHKO, N.G; NASSIF, P.A.N; RIBAS-FILHO, J.M; ALENCAR, B.L; MALAFAIA, O. Avaliação do uso do extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 21. p. 1–6, 2006.

SANTOS, S.S; LUCENA, R.F.P; SOARES, H.K.L; SOARES, V.M.S; SALES, N.S. Use of mammals in a semi-arid region of Brazil: an approach to the use value and data analysis for conservation. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 15. p. 1–14, 2019.

SIENGDEE, P; KLINHOM, S; THITARAM, C; NGANVONGPANIT, K. Isolation and culture of primary adult skin fibroblast from the asian elephant (*Elephas maximus*). **PeerJ**, p. 1-16, 2018.

SILVA, H.V.R; NUNES, T.G.P; RIBEIRO, L.R; FREITAS, L.A; OLIVEIRA, M.F; NETO, A.C.A; SILVA, A.R; SILVA, L.D.M. Morphology, morphometry, ultrastructure, and mitochondrial activity of jagua (*Pantera onca*) spem. **Animal Reproduction Science**, v. 203. p. 84–93, 2019.

SILVA, A.R; SILVA, A.M; PRAXEDES, E.C.G; PEREIRA, A.F. Conservação de Roedores Histricognatos Silvestres da América do Sul Utilizando Estratégias Reprodutivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41. p. 231–236, 2017.

SILVA, R.S. Histomorfometria tegumentar de ratas wistar ooforectomizadas. 2015. 44p. **Monografia (Graduação)** – Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão.

SILVA, A.R; SOUZA, A.L.P; SANTOS, E.A.A; LIMA, G.L; PEIXOTO, G.C.X; SOUZA, P.C; CASTELO, T.S. Formação de bancos de germoplasma e sua contribuição para a conservação de espécies silvestres no Brasil. **Ciência Animal**, v. 22, p. 219–234, 2012.

SILVEIRA, G.M; SIQUEIRA, H.F.F; PEREIRA, G.C.B; PEREIRA, F.R. Diferenças histológicas entre a pele fina e a pele grossa. In: XI Encontro de Iniciação à Docência da UFPB, Paraíba, PB, BRASIL, 2009.

SNAK, A; AGOSTINI, K.M; LENZI, P.F; MONTANUCCI, C.R; DELGADO, L.E; ZABOTT, M.V. Perfil parasitológico de mamíferos silvestres cativos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24. p. 193–200, 2017.

SOUZA, T.V.S.B; THAPA, B; RODRIGUES, C.G.O; IMORI, D. Economic impacts of tourism in protected areas of Brazil. **Journal of Sustainable Tourism**, p. 1–16, 2017.

SOUZA, T.M; FIGHERA, R.A; KOMMERS, G.D; BARROS, C.S.L. Aspectos histológicos da pele de cães e gatos como ferramenta para dermatologia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 2. p. 177–190, 2009.

TELES, V.C; ANDREANI, L; VALADARES, L.F. Uso de microscopia de luz e eletrônica como técnicas de análise morfológica. **Embrapa**. p. 1–9, 2017.

TONETTI, A.M; BIONDI, D; LEITE, J.C.M; SILVA, P.W. Mapeamento e distribuição de *Hydrochoerus hydrochaeris* (LINNAEUS, 1766) nos parques públicos de Curitiba–PR. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoológica**, v. 21. p. 29–32. 2018.

TOLOSA, E.M.C; RODRIGUES, C.J; BEHEMER, O.A; FREITAS-NETO, A.G. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. 241p.

THOMAS, M.R.O. *Microcavia shiptoni*. **The Annals and Magazine of Natural History**, v. 15. p. 419, 1925.

VILELA, D.A.R; BARRETO, C; OLIVEIRA, D.M.P. Principais ameaças e medidas de salvaguarda aos animais silvestres. **MPMG Jurídico**, p. 18–25. 2016.

VIEIRA, A.C.S.R. Utilização da técnica do AgNOR em patologia: Uma revisão da literatura. 2013. 44p. **Monografia (Graduação)** – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

WAGLER, J. Einige mittherilngen uber thiere mexicos. **Isis**, v. 14, p. 510–535, 1831.D

WINTLE, B.A; KUJALA, H; WHITEHEAD, A; CAMERON, A; VELOZ, S; KUKKALA, A; MOILANEN, A. Global synthesis of conservation studies reveals the importance of small habitat patches for biodiversity. **PNAS Latest Articles**, v. 3, p. 909–914. 2018.

ZACARIOTTI, R.L; BONDAN, E; DURRANT, B. A importância da conservação *ex situ* para preservação de espécies ameaçadas de extinção e/ou endêmicas. **Herpetologia Brasileira**, p. 33–35. 2013.