

MÉTODO DE PRODUÇÃO DE ANIMAIS *ob/ob* COM MENOR CUSTO E MAIOR PRODUÇÃO DE ANIMAIS EXPERIMENTAIS POR FÊMEA MATRIX

ALICE KÜNZGEN SCHEER¹; CLÉDIA SILVEIRA FLORES DA SILVA²; AMANDA BARBOSA ATRIB³; STELA BITTENCOURT DA SILVA CARDOSO⁴; GABRIELA LOPES GARCIA⁵; CARLOS CASTILHO BARROS⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – alicekunzgen@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – clediajag@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – amanda_b_atrib@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – stelabittencourt@live.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – lopesgabrielagarcia@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – barroscpel@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a obesidade é um dos principais problemas de saúde da atualidade, atingindo principalmente os países desenvolvidos, mas que está aumentando também em países de baixa e média renda. As estimativas globais mostram que a prevalência mundial de obesidade quase triplicou entre 1975 e 2016, e os números tendem a ficar ainda mais altos a cada ano (OMS, 2018). A OMS alerta também os fatores de risco da obesidade para a incidência de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes, hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e até mesmo alguns tipos de câncer.

No mundo inteiro, diversos grupos de pesquisa vêm fortemente desenvolvendo estudos a fim de achar uma solução para esta pandemia. Diversas ferramentas são usadas nestes estudos, desde o desenvolvimento de novas moléculas até experimentos em humanos. Neste caminho, modelos animais de obesidade tem se tornado muito importantes, sendo os camundongos C57BL6^{LEP-/-} (*ob/ob*), deficientes para o hormônio leptina, um dos principais modelos animais usados nos estudos desta área.

A leptina é um hormônio produzido no tecido adiposo e sinaliza ao hipotálamo a quantidade de reserva de energia que está guardada na forma de gordura no indivíduo (FARR; GAVRIELI; MANTZOROS, 2015). A ausência total de leptina nos camundongos *ob/ob* gera uma paralisia do eixo hipotálamo/ hipófise/ gonadal, impedindo a produção adequada de hormônios sexuais, tornando assim os animais inférteis (FARR; GAVRIELI; MANTZOROS, 2015). Por isso, em sua criação nos biotérios, se faz necessário o cruzamento de animais heterozigotos para a mutação *ob*, gerando apenas um animal *ob/ob* para cada 4 filhotes desmamados. Além disso, como tanto os animais heterozigotos quanto os animais não portadores da mutação são magros e indistinguíveis pelo fenótipo, obrigando os pesquisadores a genotipar todos os filhotes magros para encontrar os animais adequados para manutenção da colônia.

Por outro lado, existe um forte movimento para reduzir o uso de modelos animais em experimentação de todas as áreas. Regras de comissões de ética em experimentação com animais vem pressionando os pesquisadores para usarem o menor número de animais possíveis, com intuito de reduzir a necessidade de criação de animais para experimentação.

Neste contexto, uma técnica de criação que aumentasse o número de animais e reduzisse o gasto com genotipagem poderia atender às comissões de ética e reduzir os gastos com genotipagem, espaço e ração dos animais.

2. METODOLOGIA

Camundongos *ob/ob*, de linhagem C57BL/6, machos, com 90 dias de idade foram usados como aceptores de transplante de tecido adiposo doados por irmãos magros de mesma ninhada. Todos os procedimentos foram aprovados em comissão de ética desde 2008 pelo Comitê de Ética da Universidade de Mogi das Cruzes (CEMEA/UMC 02/08). Os doadores foram anestesiados com isoflurano até completa perda dos reflexos palpebrais e interdigitais e eutanasiados. Em condições estéreis, o tecido adiposo de depósitos intra-abdominais, como epididimal, perirenal ou mesenterial foram coletados e fragmentados em pedaços de 50 a 100 mg. Estes fragmentos foram então implantados no subcutâneo dos animais receptores. Para o transplante, duas pequenas incisões de pele são feitas na linha média dorsal (que deve ser raspado o pelo) dos animais com tamanho de 1 cm e espaçamento de 2 cm para a deposição dos fragmentos de tecido em diversas posições, favorecendo assim a fixação dos fragmentos e sua vascularização adequada para a produção desejada da leptina.

Após a sutura cirúrgica com fio 4-zeros de nylon, os animais são medicados com analgésicos e antibióticos (cetoprofeno 5mg/kg IM e enrofloxacina 11 mg/kg 12/12h) de acordo com a Tabela de Doses para Biotério do Ministério da Educação juntamente com a Universidade Federal de Alfenas.

Após 30 dias, os animais são colocados por uma semana em caixas contendo duas matrizes magras heterozigotas para a mutação *ob*, e trocados para novas caixas semanalmente, a fim de fecundar o maior número de fêmeas possíveis durante seu período de fertilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os camundongos *ob/ob* transplantados com tecido adiposo emagreceram em torno de 30% de sua massa corporal inicial, ficando quase no mesmo peso de camundongos magros de sua idade. As fêmeas fecundadas produzem o mesmo número de filhotes que normalmente produziram em cruzamentos com machos férteis, tendo uma variação em torno de 6 a 8 filhotes por ninhada. Destes, 50% foram homozigotos e 50% heterozigotos. Como o macho matrix transplantado é homozigoto para a mutação *ob*, não há nascimento de filhotes magros não portadores, dispensando assim a genotipagem das proles, uma vez que os genótipos possíveis podem ser separados pela observação dos fenótipos.

Foram calculadas as economias resultantes do uso da técnica, sendo:

- Menor número de caixas na maternidade (1/2 do sistema padrão);
- Maior nascimento de animais experimentais (50% x 25% do sistema padrão);
- Menor consumo de ração na manutenção da colônia (1/2 do consumo na maternidade);
- Menor gasto com reagentes e pessoal devido a eliminação da necessidade de genotipagem das proles na formação de novas maternidades.

4. CONCLUSÕES

Foi comprovado que a técnica de geração de fertilidade pelo transplante de tecido adiposo em machos *ob/ob* gera maior economia na manutenção das colônias deste modelo animal e reduz o número de animais necessários para a produção de animais experimentais em pesquisas relacionadas ao combate da obesidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight**; 2018. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Acesso em agosto, 18.

FARR, O.M.; GAVRIELI, A.; MANTZOROS, C.S. Leptin applications in 2015: What have we learned about leptin and obesity? *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, v.22, n.5, p.353-359, 2015.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. **Tabela de Doses para CEUA e Biotério**, Alfenas, 2018. Acessado em 18 ago. 2022. Online. Disponível em: <https://www.unifal-mg.edu.br/cebio/wp-content/uploads/sites/45/2018/06/TABELA-DE-DOSES-para-CEUA-e-BIOTERIO-250417.pdf>