Elizabeth Quetulli Manoelina De Paula Leite

TRANSGENIA APLICADA A ANIMAIS DE LABORATÓRIO

.

Juiz de Fora
2022

Elizabeth Quetulli Manoelina De Paula Leite

TRANSGENIA APLICADA A ANIMAIS DE LABORATÓRIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Examinadora do Centro Universitário Presidente Antônio Carlos, como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.
Orientador: Marcella Martins Terra

Juiz de Fora
2022

Elizabeth Quetulli Manoelina De Paula Leite

TRANSGENIA APLICADA A ANIMAIS DE LABORATÓRIO

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Marcella Martins Terra

Profª. Ms. Deusângela Graçano Araújo

Profª. Msc. Anna Marcella Neves Dias

Juiz de Fora
2022

TRANSGENIA APLICADA A ANIMAIS DE LABORATÓRIO
TRANSGENIA APPLIED TO LABORATORY ANIMALS

ELIZABETH QUETULLI MANOELINA DE PAULA LEITE[1], MARCELLA MARTINS TERRA[2]

Resumo

Introdução: A transgenia tem sido apontada como uma grande promessa para o desenvolvimento não só científico, como econômico de uma maneira geral, evidenciando a importância de estudos nessa área. Com o avanço da ciência, condições sanitárias e genéticas adequadas, bem como os princípios éticos na experimentação animal tornaram-se exigências, levando à criação de uma autêntica especialidade, a ciência em animais de laboratório. O desenvolvimento de modelos experimentais, conta com o uso de técnicas de biotecnologia, visando uma melhor qualidade animal e tornam-se importantes na medida em que estes auxiliam na compreensão dos fenômenos biológicos e fisiológicos. **Objetivo:** Revisar sobre a transgenia aplicada na ciência de animais de laboratório. **Métodos:** Foi realizada uma revisão de literatura utilizando para busca as principais bases de dados acadêmicos eletrônico como Scielo, Bireme, Google Acadêmico, usando como descritores biotecnologia, ciência de animais de laboratório, animais transgênicos. **Revisão de literatura:** Os modelos animais podem ser utilizados em todos os campos de pesquisas biológicas, da saúde, veterinária, tecnologia, dentre outras. Nas ciências biomédicas permitem o melhor conhecimento da fisiologia, da etiopatogenia das doenças, da ação de medicamentos ou dos efeitos das intervenções cirúrgicas. Para tanto, devem apresentar uma precisão adequada, por meio de comprovação prévia e pela demonstração das limitações em relação à realidade em que irá representar. Sua maior importância está relacionada ao respeito à barreira ética da não intervenção primária experimental em animais. A principal biotecnologia utilizada é a criação de animais transgênicos, que tiveram seu patrimônio genético alterado com a introdução de genes de outras espécies que não a sua. **Considerações finais:** As descobertas obtidas através de experimentos com animais de laboratório, proporcionadas por estudos na área de biotecnologia, gerou inúmeros benefícios para a vida humana e animal. Esses estudos são de extrema importância para a saúde e para a qualidade animal.

Descritores: Biotecnologia, Ciências de animais de laboratório, Animais. transgênicos.

[1] Acadêmico do Curso de Biomedicina da Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC – Juiz de Fora –MG

[2] Professor do Curso de Biomedicina Universidade Presidente Antônio Carlos – UNIPAC, doutorado

Abstract

Introduction: Transgenics has been indicated as a great promise for not only the development of science but for the economic development in a general way, evidencing the importance of studies in this area. With Science advances, proper sanitary and genetic conditions became requirements, taking science in laboratory animals to the creation of an authentic specialty. Development of experimental models counts on the use of biotechnology technics, aiming a better animal quality and they become important according as they assist on the comprehension biological and physiological phenomenon. In biomedical science they allow a better knowledge of the physiology, the etiopathogenesis of diseases, the action of medications or the effects of surgical interventions. To do so, they must present adequate precision, by means of previous proof and by demonstrating the limitations in relation to the reality in which they will represent. Its main importance is related to the respect to the ethical barrier of non-experimental primary intervention in animals. **Objective:** Review about transgenics applied in laboratory animal science. **Methods:** Review the main electronic academic databases such as Scielo, Bireme, Google Scholar, using as descriptors biotechnology, laboratory animal science, transgenic. **Literature review:** Anabolic animals can be used in all fields of biological research in experimental models, it becomes important to conceptualize animal disease. Transgenic animals are those that have had their genome altered by introducing genes from other species that are not theirs. It is a condition in all forms of life present within an organism can be accounted for. **Final Findings**: Experimental findings in laboratory animals, provided by biotechnology studies, have generated numerous benefits for human life and animal enhancements. These studies are extremely important for animal health and quality.

Keywords: Biotechnology. Laboratory animal science. Transgenic animals.

INTRODUÇÃO

A pesquisa científica experimental é de fundamental importância para o avanço científico, permitindo o conhecimento dos mecanismos e processos vitais, e também o aperfeiçoamento dos métodos de prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças tanto na medicina humana como na medicina veterinária[1.]

Os modelos biológicos apropriados são responsáveis por mimetizar a espécie alvo da pesquisa. As espécies animais utilizadas como modelos para o ser humano devem possuir similaridades biológicas, anatômicas e fisiológicas. A biotecnologia tem sido apontada como uma grande promessa para o desenvolvimento não só científico, como econômico de uma maneira geral, evidenciando a importância de estudos nessa área[3]. A definição genética deve ser o primeiro aspecto a ser considerado, após a seleção do modelo experimental [2].

Com o avanço da ciência, condições sanitárias e genéticas tornaram-se exigências, levando à criação de uma autêntica especialidade, a “Ciência em animais de laboratório” [2]

Dentro disto, e pautado na ética e bem-estar animal, se emprega o princípio dos 3 Rs de Russel & Burch propõe a redução do número de animais utilizados em cada experimento, o refinamento das técnicas objetivando evitar a dor e o sofrimento desnecessários, e, do inglês replacement, a substituição por métodos alternativos .[1,2]

Ainda, o refinamento tecnológico na geração de modelos experimentais tem também levado à redução do número de animais/grupo experimental, por reduzir de maneira importante a variabilidade observada em cada experimento[2].

A transgenia é uma biotecnologia que tem contribuído decisivamente para o desenvolvimento de vários setores de atividade, sendo a saúde um dos setores de maior impacto. São várias as aplicações da biotecnologia neste setor, tais como a produção de vacinas e antibióticos, o desenvolvimento de novas drogas, técnicas de diagnóstico molecular, terapias regenerativas e o desenvolvimento da engenharia genética para tratar doenças através de manipulação genética. [3]

São grandes os impactos causados pela evolução dos estudos biotecnológicos no âmbito mundial, seja, na saúde, economia, ciência e a transgenia. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi revisar sobre a transgenia aplicada na ciência de animais de laboratório.

MÉTODOS

Para a elaboração do estudo foi efetuada uma revisão bibliográfica de trabalhos pesquisados eletronicamente por meio dos bancos de dados PubMed, SciELO, MEDLINE, BVS/Bireme, Periódicos da CAPES, LILACS, livros, dissertações e sites especializados como do Ministério da Saúde (MS), Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) e Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA).

Os critérios de inclusão utilizados para seleção dos trabalhos foram: publicações no período de 1998 a 2022, da literatura biomédica portuguesa, inglesa e de língua espanhola. Os descritores utilizados para busca foram: “Biotecnologia”, “Ciências em animais de laboratório”, “Animais”, “Transgênicos”.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Modelo animal

Os modelos animais podem ser utilizados em todos os campos de pesquisa biológica tratando-se de modelos experimentais. Esse modelo animal, obrigatoriamente deve permitir a avaliação de fenômenos biológicos naturais induzidos ou comportamentais, que possam ser comparados aos fenômenos humanos em questão.

Como o nome subentende, modelos induzidos são situações nas quais a condição a ser investigada é induzida experimentalmente, como por exemplo, a indução do Diabetes *Mellitus* com haloxano ou hepatectomia parcial para se estudar a regeneração hepática.[6]

A biotecnologia já vem sendo aplicada na pesquisa experimental na criação de linhagens de animais transgênicos produzidas para serem utilizados em pesquisas laboratoriais. Estes animais desenvolvem doenças humanas, tais como: diferentes formas de tumores, diabetes, obesidade, distúrbios neurológicos, entre outros. [3-5]

As espécies mais utilizadas em pesquisas são o Cães (*Canis familiaris*); o Camundongos (*Mus Musculus*); o Cobaia ou porquinho-da-Índia (*Cavia porcellus*); o Coelho (Oryctolagus cunicullus); o Hamster chinês (*Cricetelus griseus*); o Hamster sírio (*Mesocricetus auratus*); o Macaco Rhesus (*Macaca mulatta*); e o Rato (*Rattus norvegicus*). [7]

É difícil fornecer regras específicas para a escolha do melhor modelo animal porque há muitas considerações que devem ser feitas antes que um experimento possa ser realizado, levando em consideração cada projeto de pesquisa e seus objetivos.

A escolha do modelo deve ser criteriosa e é ponto fundamental do planejamento da pesquisa, a escolha de um modelo inadequado implicará em restrições comprometedoras na análise e interpretação dos resultados e no processo de indução destes resultados para os seres humanos.[8] Portanto, o uso apropriado dos modelos de animais propicia as ferramentas necessárias para o desenvolvimento da ciência, com grande potencial para gerar benefícios altamente significativos nos campos médico, biotecnológico e comercial. Embora importantes questões éticas envolvendo o tema esperem solução apropriada, as técnicas de geração de modelos transgênicos são muito promissoras comercialmente e nas diversas áreas da pesquisa básica e clínica médica. [9,10]

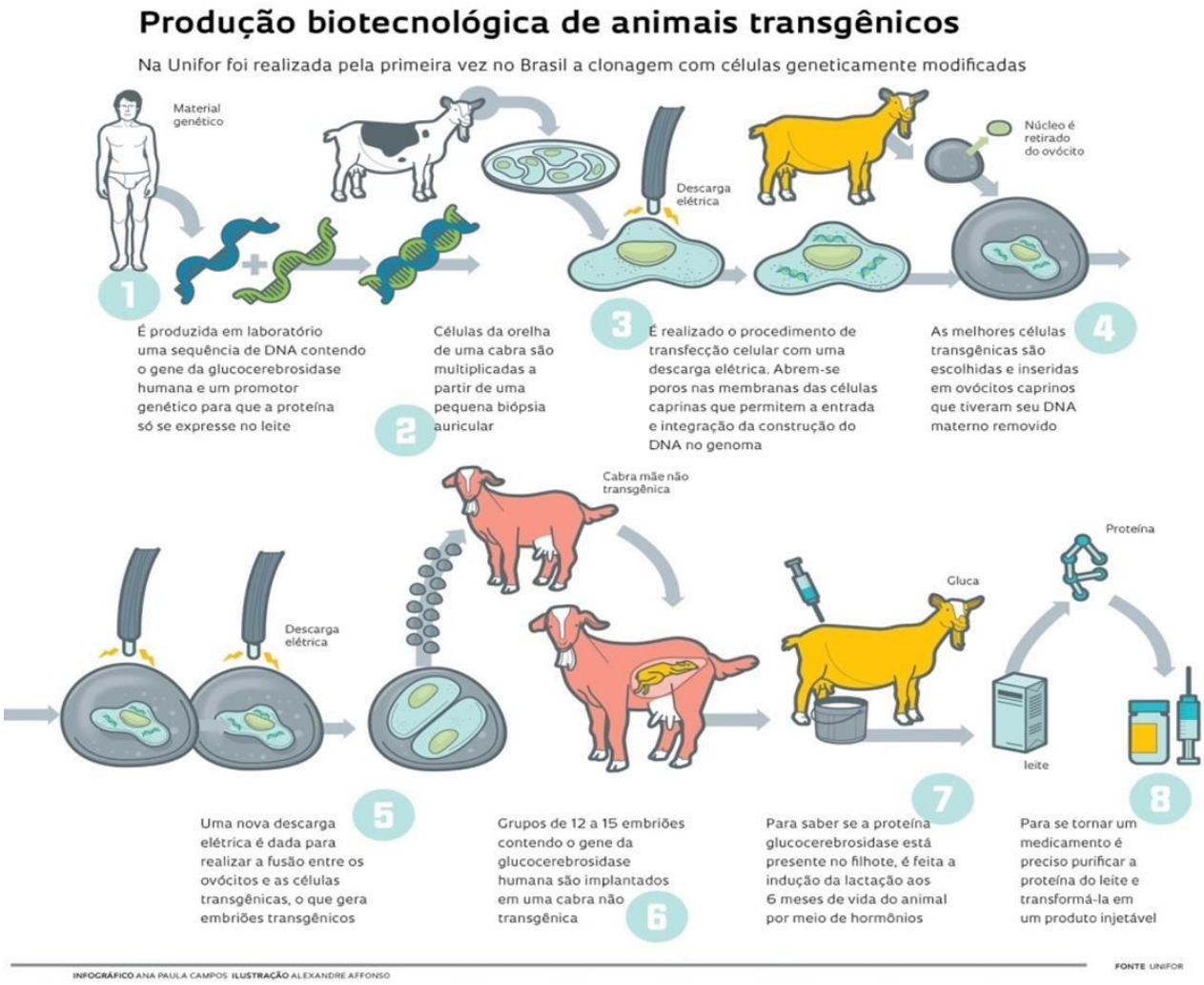
Animais transgênicos

Os animais transgênicos são aqueles que tiveram seu patrimônio genético alterado com a introdução de genes de outras espécies que não a sua. Isto ocorre através da introdução de um gene de interesse no núcleo de um óvulo já fecundado. O objetivo é fazer com que o gene exógeno se expresse neste animal “hospedeiro” que carregam incorporado, em seu genoma, um segmento de DNA de outra espécie. A geração de modelos transgênicos provocou uma redução do número de animais utilizados na experimentação, por terem menor variabilidade genética, tendo as características específicas que se deseja estudar.[6,11]

A técnica foi desenvolvida no final da década de 1970, em camundongos, o mamífero cujo genoma é, até hoje, o mais facilmente manipulável. Atualmente, a transgenia permite tanto a transferência de DNA exógeno para o animal, através da técnica de microinjeção pronuclear, técnica que, realiza a alteração de DNA já existente no animal, através da recombinação homóloga em células-tronco embrionárias (células ES – do inglês *embryonicstem*). A microinjeção no prónúcleo consiste na introdução de uma solução de DNA diretamente no prónúcleo de um ovócito recém-fecundado. Em cerca de 30% dos ovócitos assim manipulados, o DNA

exógeno se integra no genoma e embriões transgênicos que serão produzidos, como demonstrado na Figura 1. [12,11]

Figura 1 Esquema representando a produção de animais transgênicos



Fonte: Teodoro[13]

O primeiro experimento realizado com sucesso foi feito em 1982, quando um DNA de rato foi introduzido em um camundongo. O resultado positivo foi verificado através do aumento do tamanho corporal verificado no camundongo. Em janeiro de 2001 foi divulgado o nascimento do primeiro primata transgênico. Um macaco Rhesus, denominado ANDI (inserted DNA ao contrário) teve incluído em seu patrimônio genético um gene de medusa. O grande impacto gerado por este novo experimento

foi o de demonstrar que é possível realizar estes procedimentos em animais próximos à espécie humana. [14,15]

Diversas espécies animais foram submetidas ao melhoramento genético por meio de técnicas biotecnológicas. Suínos transgênicos apresentaram maior taxa de crescimento com uma qualidade de carne superior, o que se deve a melhora na conversão alimentar. Ovelhas transgênicas demonstraram maior produção de lã, sem a necessidade de suplementar a dieta com aminoácidos. Salmões transgênicos apresentaram uma maior taxa de crescimento (de 30% a 60%) quando comparado aos controles. Estes mesmos animais ainda estão sendo analisados quanto à possibilidade de criar uma geração que expresse uma proteína anticongelamento, permitindo a sobrevivência dessa espécie em baixas temperaturas. Estes exemplos suportam a afirmação de que a biotecnologia é uma ferramenta potencial para o melhoramento genético de animais em menor tempo. [17]

Animais transgênicos também podem ser utilizados para estudar mecanismos moleculares que contribuam para a patologia de doenças humanas, assim como para testar agentes terapêuticos que evitem o início da doença, diminuam seu progresso ou reduzam os sintomas. Camundongos têm sido frequentemente utilizados como modelo animal para muitas doenças humanas, entre elas: fibrose cística, arteriosclerose, osteogênese imperfeita, talassemia, obesidade, e AIDS, entre outras. A transgenia em animais também tem sido aplicada na pesquisa de câncer e tem se mostrado uma fonte alternativa para a elucidação da influência da genética, da fisiologia e do ambiente no desenvolvimento do câncer.

Uma outra aplicação, dentro da área de pesquisas aplicadas à saúde humana, é a utilização de animais, em geral suínos, doadores de órgãos para humanos (xenotransplante). Suínos transgênicos têm sido usados para expressarem altos níveis de fatores de inibição na superfície de vasos e capilares sanguíneos o que ajuda a impedir a rejeição.[16]

Aplicação transgênica

Ao longo dos séculos têm-se produzido animais com novas combinações genéticas, utilizando métodos tradicionais de reprodução, mediante cruzamentos seletivos e hibridização, mas sempre com a limitação de que os genes que se cruzavam, deviam pertencer a mesma espécie ou a espécies muito parecidas. O termo

transgenia é definido como a introdução, alteração ou inativação de uma sequência gênica no genoma de organismos pluricelulares, sendo estas mudanças capazes de serem transmitidas à progênie da espécie manipulada. [18]

As marcas na sequência de DNA próximas à região de interesse (genes) permitiriam o acompanhamento da segregação de alelos por gerações e, por consequência, da característica de interesse a elas associada. Essas marcas são identificadas pela associação dos alelos segregantes com valores fenotípicos referentes à característica estudada. Como a capacidade de produção de um animal, o resultado da interação entre o material genético e o ambiente, esses marcadores representariam a possibilidade de seleção de animais também com base no genótipo, antes mesmo da expressão do fenótipo. [17,19]

O método mais utilizado na introdução de genes é a transgenia por adição, através da qual é inserida no genoma uma ou várias cópias de um gene de interesse - daí suas outras denominações: adição gênica e modelo de super-expressão de genes. O gene adicionado pode ser endógeno ou exógeno. O primeiro tipo já existe no genoma do animal. Ele é usado quando se quer produzir uma quantidade maior da proteína codificada já existente, aumentando a quantidade de cópias dele no genoma. Genes exógenos, como o nome sugere, pertencem a outra espécie e são usados para fazer um animal produzir uma nova proteína, ausente na forma desejada na espécie receptora. [11,19]

Linhagens de células-tronco embrionárias (ES) são células não diferenciadas, derivadas do botão embrionário de blastocistos, que têm como característica principal a pluripotência. Ou seja, quando reintroduzidas em um blastocisto, as células ES possuem capacidade de retomar o desenvolvimento normal, colonizando diferentes tecidos do embrião incluídos a linhagem germinativa. Essas células podem ser modificadas geneticamente em cultura através da recombinação homóloga, processo que promove a substituição do alelo normal de um gene específico pela versão mutada do mesmo, construída no laboratório. Dessa forma, são obtidas linhagens de células ES geneticamente modificadas. Estas são agregadas a mórulas de camundongos *in vitro* e, assim, incorporadas ao embrião. Os camundongos resultantes serão quimeras formadas de células do embrião recipiente e das células ES recombinantes. Se estas últimas colonizarem a linhagem germinativa dos animais quiméricos, a mutação será então transmitida às novas gerações de camundongos, criando uma linhagem de

camundongos *NOCKOUT*. [19] As alterações genéticas animais desenvolvidas ao longo das últimas três décadas provocaram uma grande revolução no campo da biologia, permitindo a análise de vários aspectos da função gênica *in vivo*. As pesquisas biomédicas baseadas nas alterações genéticas nos modelos animais oferecem esperança para a cura das principais doenças que afligem a humanidade. O uso de animais transgênicos em pesquisas é um aspecto central na direção dessa concretização e, além disso, oferece a possibilidade de reduzir o número de animais nas experimentações.[19, 20]

A geração de espécies animais transgênicas não visa apenas acelerar os programas tradicionais de reprodução e melhorar a saúde animal e a qualidade dos produtos animais para consumo, mas também podemos citar outras aplicações de interesse em estudos conduzidos com animais transgênicos como fonte de células, tecidos e órgãos para transplante em receptores humanos, ou seja, xenotransplante, na fabricação de biofármacos de alta qualidade, como proteínas recombinantes[21], além de estudos na área de neurociências, através de tecnologias de neuromodulação.[22]

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As descobertas obtidas por experimentos em animais de laboratório, proporcionadas por estudos de biotecnologia, gerou inúmeros benefícios para a vida humana e melhoramento animal. Esses estudos são de extrema importância para a saúde e para a qualidade animal.

As técnicas de transgenia resultaram em curas de várias doenças que nos atingem. Os maiores centros de pesquisas através dos animais transgênicos como os camundongos, coelhos, porcos, ovelhas e vacas usadas no desenvolvimento de tratamento de doenças deram suporte a criação de diversas vacinas, e atualmente continuam contribuindo no desenvolvimento de novas biotecnologias como estudos de xenotransplantes e neuromodulação

Fica claro a importância e a evolução da ciência em animais de laboratório e seus inúmeros benefícios para as áreas da saúde, economia e ciência. Portanto devemos sempre prezar pela qualidade sanitária e bem-estar dos animais, respeitando sempre os princípios éticos. A biotecnologia trouxe uma grande revolução científica e crescerá no futuro.

REFERÊNCIAS

1. Rêgo JF, Silva CB , Alcântara DS , Ribeiro JMM , Rodrigues HWS, Costa FMJ Mendonça IL. Ética e bem-estar em animais de laboratório. Resbcal. 2019;7(1):6976.

2. Damy SB, Camargo RS, Chammas R, Figueiredo LFP. Aspectos fundamentais da experimentação animal - aplicações em cirurgia experimental. Rev. Assoc. Med. Bras. 2010;56 (1):103-111.

3. Batista C. Biotecnologia. Toda Matéria. [periódico na Internet]. 2020. [citado em 2022 jun 29]; [cerca de 1p.]. Disponível em: https://www.todamateria.com.br/biotecnologia/.

4. Santos BF. Modelo Animal. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS, orgs. Animais de Laboratório: criação e experimentação. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ; 2002: 23-24.

5. Goldim RJ. Animais transgênicos. Núcleo Interinstitucional de Bioética. [periódico da internet.]. 2001; [citado 2022 jun 29]; 1:[cerca de 1 p.]. Disponível em: https://www.ufrgs.br/bioetica/animtran.htm.

6. Ferreira LM, Ferreira LRK. Experimental model: historic and conceptual revision. Acta Cir Bras. 2003; 18:1-3.

7. Hochman B, Ferreira LM, Vilas Bôas FC, Mariano M. Experimental model in hamsters (Mesocricetus auratus) to study heterologous graft of scars and cutaneous deseases in plastic surgery. Acta Cir Bras. 2004;19: 69-78.

8. Stuart TE. Network positions and propensities to collaborate: an investigation of strategic alliance formation in a high-technology industry. Administrative Science Quarterly.1998;43(3):668-98.

9. Rivera EAB. Ética na Experimentação Animal. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS, orgs. Animais de Laboratório: criação e experimentação. 1 ed. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ; 2002: p.25-28.

10. Salén JCW. Animal models: principles and problems. In: Rollin BE, Kesel ML. The experimental animal in biomedical research: care, husband Ryan dwell-being an overview by species. 3aed. Boston: CRC Press; 1995.

11. Silva, MLP; Espirito-Santo NB. Bioterismo: Ciência e Biotecnologia. REV RIEE. 2009;1(3):131–9

12. Fagundes DJ, Taha MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. São Paulo: Acta Cir. Bras. Jan/fev 2004;19(1):59-65.

13. Teodoro, TM. Produção biotecnológica de animais transgênicos. [periódico na internet]. 2018 [citado em 2022 abr 20]; [cerca de 1p.]. Disponível em:

http://www.biomedicinaemacao.com.br/2016/05/animais-transgenicos-no-auxilioao.html.

14. Pesquero JB, Baptista HA, Motta FLT, Oliveira SM de. Aplicações dos animais transgênicos. Rev SciAm Brasil. 2007;1-6.

15. Pereira LDV. Animais Transgênicos: Nova Fronteira Do Saber. Ethics. 2007;40-2.

16. Animais transgênicos, o começo de uma nova era? BeefPoint [periódico na internet]. 2010 [citado em 2022 abr 31]; 1:[cerca de 1p.]. Disponível em: http://www.beefpoint.com.br/animais-transgenicos-o-comeco-de-uma-nova-era-63217/

17. Animais transgênicos e as características de interesse econômico. Portal da educação [periódico na internet]. 2018 [citado em 2022 abr 20]; 1:[cerca de 1p.]. Disponível em: https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/biologia/animais-transgenicose-as-caracteristicas-de-interesse-economico/16642

18. Azevedo V. A importância da biotecnologia na área animal. CIB (Conselho de Informações sobre Biotecnologia). [periódico na internet]. 2004 [citado em 2022 mar 20]: [cerca de 2p.]. Disponível em: http://cib.org.br/estudos-e-artigos/a-importanciada-biotecnologia-na-area-animal/

19. Coutinho LL, Rosário MF do, Jorge EC. Biotecnologia animal. Estud Avançados. 2010; 24(70):123–47.

20. Alves DP, Passos LAC, Guaraldo AMA, Zanfolin M. Gnotobiologia. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS editores. Animais de Laboratório - criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2002. p. 211-224.

21. Hryhorowicz M, Lipiński D, Hryhorowicz S, Nowak-Terpiłowska A, Ryczek N, Zeyland J. Application of Genetically Engineered Pigs in Biomedical Research. Genes [periódico na Internet]. 2020; 11:670. Disponível em: https://www.mdpi.com/2073-4425/11/6/670.

22. Boehm MA, Bonaventura J, Gomez JL, Solís O, Stein EA, Bradberry CW, Michaelides M. Translational PET applications for brain circuit mapping with transgenic neuromodulation tools. Pharmacol Biochem Behav. [periódico na Internet]. 2021; 204:147-173. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173147.