

**Escola Superior de Ensino do Instituto Butantan**  
**Programa de Pós-graduação *Lato Sensu***  
**Especialização em Biotérios**

**Maria Rita Silveira Souza Gonçalves**

**Estratégias para a manutenção reprodutiva de uma linhagem de  
camundongos obesos diabéticos: BKS.Cg - m+/+Leprdb/JUnib**

**São Paulo**  
**2024**

**Maria Rita Silveira Souza Gonçalves**

**Estratégias para a manutenção reprodutiva de uma linhagem de camundongos  
obesos diabéticos: BKS.Cg - m+/*+*Leprdb/JUnib**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Especialização em Biotérios do Programa de Pós-graduação *Lato Sensu* da Escola Superior do Instituto Butantan como requisito básico para a obtenção do título de Especialista em Biotérios.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Andréia Ruis Salgado

Coorientadora: Dra. Daniele Masselli Rodrigues Demolin

**São Paulo**

**2024**

**Catálogo na Publicação  
Instituto Butantan  
Dados inseridos pelo(a) aluno(a)**

Gonçalves, Maria Rita Silveira Souza

Estratégias para a manutenção reprodutiva de uma linhagem de camundongos obesos diabéticos: BKS.Cg - m+/+Leprdb/JUnib / Maria Rita Silveira Souza Gonçalves ; orientador(a) Andréia Ruis Salgado, coorientador(a): Daniele Masselli Rodrigues Demolin - São Paulo, 2024.

27 p. : il.

Monografia (Especialização) - Escola Superior do Instituto Butantan, Programa de Pós-Graduação Lato Sensu - Especialização em biotérios.

Versão corrigida final

1. Camundongo db/db. 2. Reprodução . 3. Obesidade. Diabetes tipo 2. 4. Manejo em biotério I. Salgado, Andréia Ruis . II. Instituto Butantan. III. Programa de Pós-Graduação Lato Sensu - Especialização em biotérios. IV. Título.

Geração por Sistema Automatizado.  
Bibliotecária Bruna Marques CRB8-9303 - Responsável Técnica

## AUTORIZAÇÃO PARA ACESSO E REPRODUÇÃO DE TRABALHO

Eu, Maria Rita Silveira Souza Gonçalves, aluna do Curso de Especialização em Biotérios, autorizo a divulgação do meu trabalho de conclusão de curso por mídia impressa, eletrônica ou qualquer outra, assim como a reprodução total deste trabalho de conclusão de curso após publicação, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

Prazo de liberação da divulgação do trabalho de conclusão de curso após a data da avaliação:

Imediato

06 meses

12 meses

Outro prazo \_\_\_\_\_ Justifique:

São Paulo, 11 de junho 2024

*MR.*

.....  
Aluna: Maria Rita Silveira Souza Gonçalves

De acordo: *Andréia Ruis Salgado*  
.....  
Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Andréia Ruis Salgado

## **AGRADECIMENTOS**

Neste momento especial, gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora, Andréia Ruis Salgado, pela orientação acolhedora, paciência e apoio durante o processo de elaboração deste trabalho.

Agradeço profundamente aos meus pais, Izabel e Sebastião (in memoriam), família Elisa Souza, Hugo Severo e amigos, a meus irmãos de coração Jhenifer Alves, Rafael Máximo e Clarice Issei pelo amor, apoio e incentivo constantes ao longo desta jornada acadêmica. Palavras de encorajamento e apoio foram essenciais para superar os desafios e alcançar meus objetivos.

Não poderia deixar de mencionar minha esposa, Camilla, e nossa filha, Quezia, pelo apoio incondicional, compreensão e paciência durante todo o período dedicado a este trabalho. O amor e o suporte de vocês foram fundamentais para meu sucesso.

Por fim, gostaria de expressar minha sincera gratidão ao CEMIB/UNICAMP, em especial à diretora Dr<sup>a</sup>. Daniele Demolin, por proporcionar a oportunidade de estudar e realizar este trabalho, enriquecendo minha jornada acadêmica e profissional. Também sou imensamente grata à equipe da Seção de Produção de Linhagens Tradicional Certificada (C1) pelo apoio dedicado a mim ao longo deste processo.

Com gratidão,

Maria Rita Silveira Souza Gonçalves

## RESUMO

GONÇALVES, Maria Rita Silveira Souza. **Estratégias para a manutenção reprodutiva de uma linhagem de camundongos obesos diabéticos: BKS.Cg - m+/+Leprdb/JUnib**. 2024. 26p. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Biotérios) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2024.

O estudo sobre a manutenção reprodutiva da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib realizado no Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na área da Ciência em animais de Laboratório – CEMIB/UNICAMP, apresentou resultados significativos para a pesquisa biomédica relacionada à obesidade e ao diabetes tipo 2. O objetivo geral foi investigar estratégias para otimizar a reprodução desses camundongos uma vez que a manutenção das características genéticas da linhagem é fundamental para a obtenção de resultados e sua reprodutibilidade. Para tanto, foram analisados os genótipos resultantes de acasalamentos, observando-se variações significativas nos índices glicêmicos ao longo do desenvolvimento dos animais. A compreensão dos fatores influenciadores, como genética e ambiente, permitiu o desenvolvimento de estratégias práticas, incluindo a seleção criteriosa de genitores com base em seus perfis metabólicos. A coleta de dados revelou uma média de glicemia mais elevada na colônia resultante da seleção de matrizes com índices glicêmicos mais altos. A análise estatística mostrou um aumento progressivo nos índices glicêmicos ao longo das gerações, demonstrando um padrão de hereditariedade dessas características metabólicas. Os resultados obtidos foram discutidos à luz da literatura prévia, destacando-se a importância da estratégia direcionada de acasalamento na manutenção da linhagem estudada. A análise genética apontou para a influência da herança genética na expressão dessas características metabólicas, fornecendo insights valiosos para pesquisas futuras sobre a obesidade e o diabetes tipo 2 em camundongos. Em conclusão, o estudo contribuiu significativamente para o avanço do conhecimento sobre a manutenção reprodutiva da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib, fornecendo uma base sólida para o estabelecimento destas colônias e protocolos mais eficientes de manejo em ambientes de pesquisa biomédica. Essas descobertas têm o potencial de impactar positivamente estudos futuros relacionados à obesidade, diabetes tipo 2 e outras doenças metabólicas, oferecendo novas perspectivas para a compreensão e tratamento dessas condições em humanos.

**Palavras-chave:** Camundongo db/db. Reprodução. Obesidade. Diabetes tipo 2.  
Manejo em biotério.

## SUMMARY

GONÇALVES, Maria Rita Silveira Souza. **Strategies for the reproductive maintenance of a strain of diabetic obese mice: BKS.Cg - m+/+Leprdb/JUnib.2024.26p.** Final Paper (Specialization in Vivariums) – Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2024.

The study on the reproductive maintenance of the BKS. Cg-m+/+Leprdb/JUnib carried out at the Multidisciplinary Center for Biological Research in the area of Science in Laboratory Animals – CEMIB/UNICAMP, presented significant results for biomedical research related to obesity and type 2 diabetes. The general objective was to investigate strategies to optimize the reproduction of these mice, since the maintenance of the genetic characteristics of the strain is essential to obtain results and its reproducibility. To this end, the genotypes resulting from matings were analyzed, observing significant variations in the glycemic indexes throughout the development of the animals. Understanding influencing factors, such as genetics and environment, has allowed for the development of practical strategies, including the careful selection of parents based on their metabolic profiles. Data collection revealed a higher mean blood glucose in the colony resulting from the selection of matrices with higher glycemic indexes. Statistical analysis showed a progressive increase in glycemic indices over generations, demonstrating a pattern of heritability of these metabolic traits. The results obtained were discussed in the light of the previous literature, highlighting the importance of the targeted mating strategy in the maintenance of the studied lineage. Genetic analysis pointed to the influence of genetic inheritance on the expression of these metabolic traits, providing valuable insights for future research on obesity and type 2 diabetes in mice. In conclusion, the study contributed significantly to improve the knowledge about the reproductive maintenance of the BKS strain. Cg-m+/+Leprdb/JUnib, providing a strategies for the establishment of these colonies and more efficient management protocols in biomedical research es. These findings These findings the facility future studies related to obesity, type 2 diabetes, and other metabolic diseases, offering ne perspectives for understanding and treating these conditions in humans.

**Keywords:** Mouse db/db. Reproduction. Obesity. Type 2 diabetes. Vivarium in management.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Camundongos obeso db/db.....	16
<b>Figura 2:</b> Coleta de sangue da cauda.....	18
<b>Figura 3:</b> Medição da glicemia.....	19

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Dados Matrizes, Peso e Glicemia .....	20
<b>Tabela 2</b> - Dados estoque db/db,sexo, idade, Peso e Glicemia .....	22

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS GERAL .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Específicos .....</b>	<b>14</b>
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Identificação dos Desafios na Manutenção Reprodutiva .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Compreensão dos Fatores Influenciadores .....</b>	<b>16</b>
<b>3.2.1 Genéticos .....</b>	<b>16</b>
<b>3.2.2 Ambientais .....</b>	<b>17</b>
<b>3.2.3 Manejo dos Animais .....</b>	<b>17</b>
<b>3.3 Coleta de dados.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3.1 Análise Estatística .....</b>	<b>19</b>
<b>3.4 Desenvolvimento de Estratégias Práticas .....</b>	<b>21</b>
<b>3.4.1 Experimentação .....</b>	<b>21</b>
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>25</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>26</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A diabetes é uma doença metabólica com crescimento sistemático e global.

Segundo uma estimativa realizada entre 2019 a 2021, havia naquele período, um total de 537 milhões de pessoas com a doença em todo o mundo, sendo esperado 1,3 bilhão de pessoas até 2050. No Brasil, 9,14% da população adulta do país convivem com a doença, perfazendo um total de 16,8 milhões de indivíduos.

Estes números além de alarmantes, estimulam a pesquisa desta doença por grupos de pesquisa de todo o mundo, procurando, senão a cura, melhores alternativas para o controle da enfermidade e melhora na qualidade de vida dos doentes.

Grande parte dos resultados foram obtidos com o uso de animais de laboratório.

O camundongo é amplamente utilizado na pesquisa biomédica devido às suas características únicas, como a alta homologia genética com os seres humanos, reprodução prolífica e capacidade de reproduzir fisiopatologias semelhantes, de acordo com os estudos de Mattaraia e Oliveira (2012). Além disso, eles são frequentemente utilizados em estudos de oncologia, cardiologia, imunologia, fisiologia, entre outras áreas, devido à sua versatilidade e disponibilidade de vasta literatura sobre seu manejo reprodutivo, controle sanitário e genética. Os autores destacam a importância de entender as interações reprodutivas e sociais dos camundongos e desenvolver metodologias adequadas para este modelo animal.

No estudo conduzido por Suriano et al. (2021), os camundongos ob/ob deficientes em leptina e camundongos db/db deficientes em receptor de leptina foram destacados como modelos de grande importância e uso na pesquisa biomédica para estudar as condições de obesidade e desenvolvimento de diabetes tipo 2. Embora apresentem ganho de peso semelhante e obesidade maciça, esses modelos exibem diferenças significativas em relação ao desenvolvimento da diabetes, o que levanta questões sobre os mecanismos subjacentes à sinalização da leptina. Estes dados reforçam ainda mais a importância deste modelo no entendimento desta molécula no estabelecimento da doença.

A investigação sobre neurodegeneração retiniana diabética tem se beneficiado do uso do modelo do camundongo db/db. Estudos conduzidos por Bogdanova et al. (2014) demonstraram a utilidade desse modelo na compreensão

dos mecanismos subjacentes à patogênese da retinopatia diabética. Suas descobertas sugerem que o camundongo db/db pode servir como uma ferramenta valiosa para a avaliação de estratégias terapêuticas destinadas a prevenir ou interromper a progressão da doença.

A linhagem BKS.Cg - m+/+Leprdb/JUnib é utilizada em estudos relacionados à obesidade e diabetes tipo 2, sendo fundamental compreender os desafios envolvidos na manutenção reprodutiva desses animais em ambiente de criação em biotérios. Não obstante a importância destes animais tanto para os estudos com a leptina como para a obesidade, é bastante desafiadora a reprodução da linhagem e a manutenção de suas características originais do ponto de vista geracional, ou seja, a preservação de uma glicemia elevada e estável nas progênes e nas gerações subsequentes.

Por esta razão, tornou-se interessante a investigação de estratégias para otimizar a reprodução e a obtenção da glicemia em valores significativamente maiores que os grupos controle não afetados.

Neste sentido, o estudo da manutenção reprodutiva da linhagem BKS.Cg - m+/+Leprdb/JUnib é de suma importância para garantir a validade e a replicabilidade dos resultados obtidos em pesquisas que utilizam esse modelo animal. Além disso, contribui para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes no manejo de camundongos obesos diabéticos, promovendo a qualidade e a confiabilidade dos experimentos realizados.

Este trabalho buscou avaliar a os resultados obtidos com uma estratégia reprodutiva adotada no manejo de colônias de animais BKS.Cg - m+/+Leprdb/JUnib em ambiente de criação em biotério. Tanto o ambiente, como outros fatores que possam influenciar a fertilidade e a viabilidade reprodutiva, foram considerados com o propósito de otimizar a reprodução e a manutenção dos valores de glicemia que caracterizam os animais desta linhagem.

## **2 OBJETIVOS GERAL**

Investigar estratégias para a manutenção reprodutiva da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib, no Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na área da Ciência em animais de Laboratório – CEMIB/UNICAMP, visando contribuir para a validade e replicabilidade dos resultados obtidos em estudos que utilizam esse modelo animal e promover o desenvolvimento de práticas mais eficazes no manejo de camundongos obesos diabéticos.

### **2.1 Específicos**

Identificar os desafios na manutenção reprodutiva da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib em biotérios de criação, compreendendo os fatores que influenciam a fertilidade e a viabilidade reprodutiva desses camundongos obesos diabéticos, para assim, desenvolver estratégias práticas para otimizar a reprodução e a saúde dos animais obesos diabéticos, levando em consideração as particularidades dessa linhagem, tais como: obter um padrão de glicemia da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib relacionando-a com a idade em semanas.

Selecionar as matrizes que apresentam precocemente filhotes com maior índice glicêmico, para a expansão da colônia. Essas ações visam contribuir com a qualidade das pesquisas científicas, fornecendo animais que estejam expressando sua mutação de forma consistente e relevante para os estudos conduzidos.

Disseminar os resultados obtidos para a comunidade científica envolvida em pesquisas relacionadas à obesidade, diabetes tipo 2 e estudos utilizando a linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib como modelo animal, fornecendo informações úteis para profissionais da área da saúde interessados em estratégias de manejo e cuidado de animais de laboratório e apresentando recomendações práticas para instituições de pesquisa e biotérios que trabalham com essa linhagem, visando melhorar suas práticas e resultados na manutenção reprodutiva desses animais.

### 3 METODOLOGIA

Este estudo adotou procedimentos metodológicos detalhados para investigar estratégias destinadas à manutenção reprodutiva da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib, no CEMIB/UNICAMP. As etapas metodológicas incluíram a identificação dos desafios na manutenção reprodutiva, a compreensão dos fatores influenciadores e o desenvolvimento de estratégias práticas. A seguir, serão apresentados os detalhes de cada uma dessas etapas para uma compreensão mais abrangente do processo metodológico adotado neste estudo.

#### 3.1 Identificação dos Desafios na Manutenção Reprodutiva

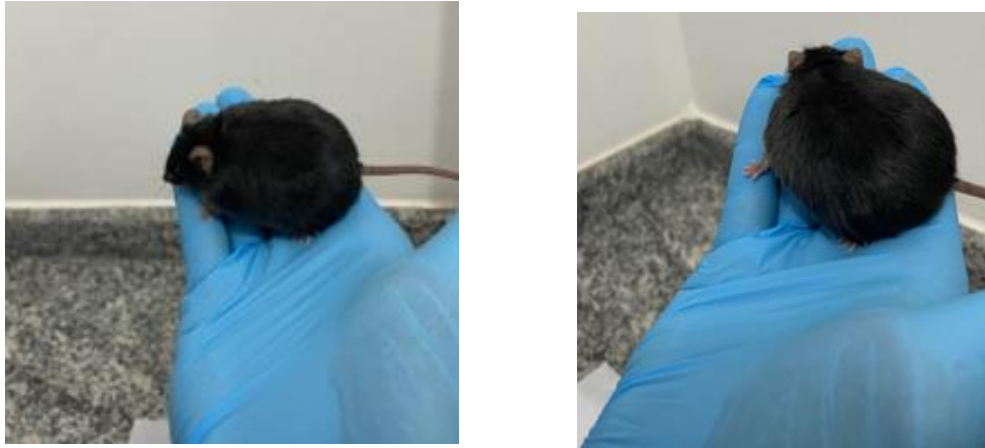
Matrizes da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib foi importada no The Jackson Laboratory, USA – 2002 pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório - CEMIB/ UNICAMP, para criação e fornecimento à pesquisa científica. Esta linhagem foi obtida a partir de mutação espontânea autossômica recessiva para diabetes (db) na linhagem endogâmica C57BLKS/J. Ela foi subsequentemente cruzada com a linhagem de camundongo BKS carreando o gene da cor da pelagem acinzentada (m).

Os possíveis genótipos resultantes destes acasalamentos são facilmente identificáveis através da cor da pelagem e *score* corporal. Os *wild type* não são obesos e sua pelagem é acinzentada e não apresentam diabetes. As matrizes são heterozigotas, não são obesas e sua pelagem é preta. Os homozigotos para a mutação que resulta em diabetes espontânea (Lepr<sup>db</sup>) apresentam obesidade mórbida e pelagem preta. Além disso, polifagia, poliúria, polidipsia, hiperglicemia, atrofia das células beta pancreáticas e são hipoinsulinêmicos.

A obesidade começa em 3 a 4 semanas de idade, a insulina plasmática começa a se elevar em 10 a 14 dias e o açúcar em 4 a 8 semanas. Esta linhagem é usada em estudos de fases I a III da diabetes tipo II e obesidade.

Os animais desta linhagem apresentam dificuldades reprodutivas decorrentes da doença, de uma obesidade e de uma glicemia elevada, tornando bastante difícil o manejo da colônia com o propósito de fornecimento para a pesquisa.

**Figura 1:** Camundongos obeso db/db



Fonte: CEMIB/UNICAMP

### **3.2 Compreensão dos Fatores Influenciadores**

Na busca por estratégias eficazes para a manutenção reprodutiva da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib, é fundamental compreender os fatores que influenciam diretamente esse processo. A compreensão dos fatores influenciadores não apenas permite identificar desafios específicos, mas também possibilita o desenvolvimento de intervenções direcionadas e personalizadas, visando otimizar a reprodução e a saúde dos animais obesos diabéticos.

Os fatores influenciadores podem abranger uma ampla gama de aspectos, desde questões genéticas e ambientais até fatores relacionados ao manejo dos animais. A interação complexa desses elementos desempenha um papel crucial na fertilidade e na viabilidade reprodutiva da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib.

#### **3.2.1 Genéticos**

Características específicas da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib que podem impactar a reprodução e a saúde dos camundongos. Fatores genéticos foram analisados para entender como variantes podem influenciar a fertilidade.



### **3.2.2 2 Ambientais**

O impacto da temperatura, umidade e iluminação nos processos reprodutivos. Essas variáveis foram monitoradas e ajustadas para avaliar seus efeitos diretos na saúde reprodutiva dos camundongos.

A qualidade e a composição dos alimentos fornecidos, bem como a disponibilidade de água, foram controladas para determinar seus efeitos sobre a viabilidade reprodutiva.

### **3.2.3 3 Manejo dos Animais**

Práticas de manuseio pelos técnicos e os níveis de estresse associados foram avaliados. Entende-se que o estresse pode impactar negativamente a fertilidade.

Procedimentos de limpeza e desinfecção foram analisados para garantir um ambiente saudável, minimizando riscos de contaminação que poderiam afetar a reprodução.

A compreensão detalhada desses elementos proporciona uma base sólida para a formulação de estratégias eficazes e sustentáveis para a manutenção reprodutiva da linhagem em questão. A análise dos fatores mencionados permitiu identificar desafios específicos buscando melhorar os resultados reprodutivos e promover o bem-estar dos animais.

Ao analisar os fatores que influenciam, esperamos não apenas identificar desafios, mas também encontrar oportunidades de obter bons resultados reprodutivos, promover o bem-estar animal e contribuir com fornecimento estável de animais para a pesquisa biomédica relacionada à obesidade e ao diabetes tipo 2.

### 3.3 Coleta de dados

Nesta etapa, foram realizados levantamentos e coletas de dados sobre a fertilidade e viabilidade reprodutiva dos camundongos heterozigotos (magros). Para isso, foram utilizados métodos específicos de medição da glicemia, como testes de glicose no sangue, para identificar matrizes que apresentem filhotes com maiores níveis de glicemia de forma precoce. Também foram considerados parâmetros zootécnicos relacionados com a reprodução, tais como a identificação de casais reprodutivamente constantes, baixa mortalidade, ganho de peso e, quando possível, a análise do intervalo entre os partos. Essa seleção criteriosa das matrizes é essencial para a expansão da colônia.

Assim, não apenas os níveis de glicemia, mas também outros parâmetros relevantes para a saúde reprodutiva dos camundongos. Esses procedimentos visaram garantir a obtenção de dados precisos e confiáveis para a análise da influência dos fatores reprodutivos na linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib.

**Figura 2:** Coleta de sangue da cauda.



**Fonte:** CEMIB/UNICAMP

**Figura 3:** Medição da glicemia.



Fonte: CEMIB/UNICAMP

### 3.3.1 Análise Estatística

Nesta seção, abordaremos a etapa de análise estatística, crucial para a compreensão dos dados coletados sobre a fertilidade e viabilidade reprodutiva dos camundongos heterozigotos. Utilizaremos métodos estatísticos para examinar os conjuntos de dados obtidos e identificar padrões, tendências e correlações entre os diversos fatores influenciadores investigados.

A análise estatística desempenha um papel fundamental na interpretação dos resultados, permitindo-nos extrair *insights* significativos e fundamentados a partir das informações coletadas. Ao empregar técnicas estatísticas apropriadas, buscamos identificar relações causais ou associativas entre os fatores reprodutivos estudados, contribuindo assim para uma compreensão mais abrangente dos mecanismos subjacentes à fertilidade e à viabilidade reprodutiva nessa linhagem específica de camundongos e contribuindo para uma melhor compreensão do processo reprodutivo dos camundongos heterozigotos e para o desenvolvimento de estratégias mais eficazes na gestão dessa colônia.

**Tabela 1- Dados Matrizes, Peso e Glicemia**

Semana 12			
Matriz	Sexo	Peso (g)	Glicemia (mg)
CM1	♀ <sup>1</sup>	38	116
CM1	♀ <sup>2</sup>	26	70
CM2	♀	30	112
CM3	♀	30	85
CM3	♂	30	119
CM4	♀	32	63
CM4	♂	36	76
CM5	♀	38	81
CM5	♂	38	117
CM6	♀ <sup>1</sup>	38	79
CM6	♀ <sup>2</sup>	46	91
CM6	♂	36	70
CM7	♀	30	88
CM7	♂	30	93
CM8	♀ <sup>1</sup>	30	112
CM8	♀ <sup>2</sup>	28	99
CM8	♂	26	11
CM9	♀ <sup>1</sup>	34	93
CM9	♀ <sup>2</sup>	32	108
CM9	♂	30	120
CM10	♀ <sup>1</sup>	28	64
CM10	♀ <sup>2</sup>	24	112
CM10	♂	36	105
CM11	♀ <sup>1</sup>	24	130
CM11	♀ <sup>2</sup>	22	99
CM12	♀	26	87
CM12	♂	28	95
CM13	♀ <sup>1</sup>	20	102
CM13	♀ <sup>2</sup>	20	147

CM13	♂	26	104
------	---	----	-----

**Fonte:** CEMIB/UNICAMP - CM representa as diferentes matrizes da colônia de camundongos db/db do CEMIB/UNICAMP.

Os dados apresentados na tabela correspondem à avaliação de 13 matrizes da colônia que foram submetidas a análise durante a semana 12. Cada linha representa uma matriz específica, identificada pela sigla CM (Colônia de Camundongos CEMIB) seguida do número de cada. As variáveis registradas incluem o sexo da matriz e seu peso corporal, expresso em gramas (g). Além disso, foram registrados os níveis de glicemia, indicados em miligramas por decilitro (mg/dL).

Esses dados foram importantes para compreender a saúde metabólica e reprodutiva das matrizes da colônia de camundongos, fornecendo informações essenciais para avaliar a eficácia das estratégias de manejo e cuidado adotadas. A análise desses dados revelou os padrões e correlações relevantes para a manutenção reprodutiva e a saúde geral dos camundongos.

### **3.4 Desenvolvimento de Estratégias Práticas**

A etapa Desenvolvimento de Estratégias Práticas foi delineada com base nos *insights* obtidos da coleta de dados das matrizes da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib. Esses dados orientam a implementação de um método de acasalamento direcionado, seguindo as orientações de Andrade et al. (2006) para criação e manejo camundongos, priorizando a seleção de genitores com maiores índices glicêmicos. O objetivo principal é promover a reprodução de matrizes capazes de gerar filhotes com maior propensão à obesidade e com índices glicêmicos elevados em estágios precoces. Essa abordagem visa aprimorar a qualidade da linhagem, contribuindo para estudos mais robustos sobre obesidade e diabetes tipo 2.

#### **3.4.1 Experimentação**

Os dados apresentados na tabela abaixo são oriundos de estoques identificados de camundongos obesos, onde a ênfase foi dada aos estoques com

índices glicêmicos mais altos, essenciais para o desenvolvimento de estratégias de acasalamento direcionadas. Cada linha da tabela corresponde a um indivíduo identificado pela sigla EC (Estoque CEMIB) número variável e X (estoque de fêmeas), onde Y (estoque de machos) e animais WT (*Wild Type*).

Os estoques com índices glicêmicos mais elevados foram cuidadosamente selecionados como base para os acasalamentos direcionados dos pais, visando à produção de filhotes com características metabólicas específicas. Essa abordagem visa investigar o impacto da hereditariedade e do ambiente pré-natal na saúde metabólica dos descendentes, bem como identificar estratégias para otimizar a produção de camundongos com perfis metabólicos desejáveis.

**Tabela 2** - Dados estoque db/db, sexo, idade, Peso e Glicemia

Caixa	Sexo	Idade Semana	Peso (g)	Glicemia (mg)
EC1X	♀2	23	38	96
EC1X	♀4	23	38	126
EC2X	♀1	16	34	167
EC2X	♀2	16	48	261
EC3Y	♂	16	36	88
EC4X	♀1	11	26	114
EC4X	♀2	11	18	78
EC5Y	♂1	10	42	285
EC5Y	♂2	10	44	263
EC6Y	♂	8	26	129
EC6Y	♂WT	8	24	83
EC7X	♀WT	8	14	119

Fonte: CEMIB/UNICAMP

## 4 RESULTADOS

A glicemia das 13 matrizes, com idades variando entre 6 e 41 semanas, foi avaliada, revelando uma variação entre 147 e 60 mg/dL, com uma média de 99,36 mg/dL. Posteriormente, foram examinados 10 camundongos obesos provenientes dessas matrizes, com idades entre 6 e 18 semanas. Eles apresentaram uma glicemia média de 104,95 mg/dL, com variações entre 50 e 247 mg/dL.

Com base nesses resultados, três matrizes foram selecionadas para a expansão da colônia, e um retroacasalamento foi realizado em um desses casais. Atualmente, a colônia conta com 16 casais, e temos considerado o mapa genético para rastrear seus ancestrais comuns. Após quatro gerações, observamos que o índice glicêmico médio dos animais obesos é de 366 mg/dL, com um valor máximo de 591 mg/dL em um animal de 11 semanas de idade.

Esses resultados permitem concluir que a seleção das matrizes com base nos índices glicêmicos mais altos resultou em uma colônia com média de glicemia mais elevada. Além disso, o rastreamento genético revelou um aumento progressivo no índice glicêmico ao longo das gerações, demonstrando uma hereditariedade dessas características metabólicas.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo foram analisados e interpretados à luz da literatura previamente citada, seguindo uma abordagem clara e objetiva. Foram consideradas as implicações teóricas dos resultados e suas possíveis aplicações práticas, assim como a concordância ou discordância com outros autores. A análise dos dados destacou aspectos novos e importantes, fornecendo subsídios para as considerações finais.

Observa-se que os resultados deste estudo corroboram os achados anteriores em relação à influência dos fatores reprodutivos na manutenção da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib. A seleção criteriosa das matrizes com base nos índices glicêmicos mais altos resultou em uma colônia com uma média de glicemia mais elevada.

Além disso, as análises genéticas revelaram um aumento progressivo no índice glicêmico ao longo das gerações, reforçando o caráter genético relacionado com a hereditariedade dessas características metabólicas. Esses achados contribuem para o entendimento da herança genética da obesidade e do diabetes tipo 2 em camundongos, fornecendo *insights* importantes para futuras pesquisas nessa área.

Considerando a experiência adquirida neste estudo, sugere-se que futuras pesquisas explorem ainda mais os mecanismos genéticos subjacentes às características metabólicas desses camundongos. Além disso, investigações adicionais sobre o impacto do ambiente pré-natal e pós-natal na expressão dessas características podem fornecer uma compreensão mais abrangente dos fatores que influenciam a saúde metabólica nesse modelo animal.

Portanto, a discussão apresentada neste estudo fornece uma análise crítica dos resultados obtidos, destacando sua relevância e fornecendo direcionamentos para pesquisas futuras.



## 6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo destacam a importância da estratégia direcionada de acasalamento na manutenção da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib em condições de biotério. A identificação criteriosa das matrizes que apresentaram filhotes com características metabólicas desejáveis, como obesidade e elevados índices glicêmicos, demonstrou ser um método eficaz para aumentar a proporção de animais diabéticos na colônia.

Além disso, a análise genética revelou a hereditariedade dessas características metabólicas ao longo das gerações, fornecendo *insights* valiosos para futuras pesquisas sobre a herança genética da obesidade e do diabetes tipo 2 em camundongos.

O emprego de uma estratégia de seleção direcionada para o manejo da linhagem BKS.Cg-m+/+Leprdb/JUnib se mostrou eficiente e eficaz, sendo uma alternativa viável para biotérios que mantenham colônias com características semelhantes.

O emprego de mapas genéticos no manejo de colônias com perdas reprodutivas é indispensável pois além de possibilitar a análise de indicadores específicos, permitem a rastreabilidade necessária à seleção de matrizes, permitindo, desta forma, a preservação das características originais da linhagem.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. (Eds.). Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p.

BRAGA, L. M. G. M. Controle reprodutivo em biotérios de criação de animais de laboratório com ênfase em roedores. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 41, 2017.

CHEN, H. et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. Cell, v. 84, n. 3, p. 491-495, fev. 1996. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81294-5.

COVINGTON, B. A.; CHEN, W. Animal Models for Understanding the Mechanisms of Beta Cell Death during Type 2 Diabetes Pathogenesis. Biomedicines, v. 12, n. 3, p. 473, fev. 2024. DOI: 10.3390/biomedicines12030473. PMID: 38540087; PMCID: PMC10967882.

DAVIS, R. C. et al. Early hepatic insulin resistance precedes the onset of diabetes in obese C57BLKS-db/db mice. Diabetes, v. 59, n. 7, p. 1616-1625, jul. 2010. DOI: 10.2337/db09-0878. Erratum in: Diabetes. 2010 Oct;59(10):2695. PMID: 20393148; PMCID: PMC2889760.

GUEORGUIEV, M.; GÓTH, M. L.; KORBONITS, M. Leptin and puberty: a review. Pituitary, v. 4, n. 1-2, p. 79-86, jan.-abr. 2001. DOI: 10.1023/a:1012943029127. PMID: 11824512.

LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. de M.; KO, G. M. Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório - 2ª Edição. Editora Atheneu, 2017.

LIRA, E. C. (Organizador). Bioética e manejo de animais de laboratório. Ponta Grossa, PR: Atena, 2022. DOI: 10.22533/at.ed.308221909. ISBN 978-65-258-0130-8

MATTARAIA, V. G. de M.; OLIVEIRA, G. M. de (Org.). Comportamento de Camundongos em Biotério. São Paulo: SBCAL, 2012.

PÁDUA, M. F. de; PÁDUA, T. F. de; PAULI, J. R. Exercício físico reduz a hiperglicemia de jejum em camundongos diabéticos através da ativação da AMPK. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 15, n. 3, p. 179-184, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbme/a/VWjW737MjJyNQ4P3GFtRdqr/#>>. Acesso em: 05/03/2024.

THE JACKSON LABORATORY. JAX® Mice Strain - BKS.Cg-Dock7m +/- Leprdb/J (000642). Disponível em: <<https://www.jax.org/strain/000642>>. Acesso em: 20 mar. 2024.

THE PLOS ONE STAFF. Correction: The db/db Mouse: A Useful Model for the Study of Diabetic Retinal Neurodegeneration. PLoS One. 2014 Aug 19;9(8): e106227. doi:

10.1371/journal.pone.0106227. Erratum for: The db/db Mouse: A Useful Model for the Study of Diabetic Retinal Neurodegeneration. PMCID: PMC4138206.