

PRINCIPAIS ANOMALIAS NA CLONAGEM BOVINA: REVISÃO DE LITERATURA

MAIN ANOMALIES IN BOVINE CLONING: LITERATURE REVIEW

¹ANDRADE, Rosana Lucio; ²BORGES, Laís Damiani; ³NUNES, Lucas Eduardo Leite;
⁴CANUTO, Lucas Emanuel Ferreira

^{1a4}Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário das
Faculdades Integradas de Ourinhos

RESUMO

A técnica de transferência nuclear de células somáticas, foi descrita pela primeira vez em 1938, na qual descreve a criação de clones por meio da introdução de um núcleo doador em um óvulo. Quando em 1996, pela primeira vez um mamífero foi clonado, nasce então Dolly. No Brasil os primeiros resultados da clonagem aconteceram em 2001 na Bahia, onde nasceu uma fêmea bovina. Apesar da técnica ser totalmente revolucionária, ainda existem defeitos e estudos minuciosos ainda são feitos sobre tal assunto. Clones podem atualmente ser produzidos graças à evolução da tecnologia de transferência nuclear ou reconstrução embrionária e por bipartição embrionária. A produção de clones é de grande interesse não só para melhoramento genético, mas também para biomedicina, biotecnologia e diversas áreas de pesquisa. A clonagem é ainda uma tecnologia muito cara e muito mais difícil, comparada a outras técnicas de melhoramento genético aplicado a animais. A técnica de clonagem ainda está em aperfeiçoamento e trás um alto índice de mortalidade em experimentos com animais. Fatores limitantes como defeitos genéticos e envelhecimento precoce, fazem crescer discussões a respeito da clonagem animal. Visto como desperdício pelas associações de defesa dos animais, tem aberto grande discussão sobre o assunto.

Palavras chave: Clone; Genética; Reprodução.

ABSTRACT

The nuclear somatic cell transfer technique was first described in 1938 in which it describes the creation of clones by introducing a donor nucleus into an egg. When in 1996, for the first time a mammal was cloned, Dolly was born. In Brazil the first results of the cloning happened in 2001 in Bahia, where a female bovine was born. As no technique is perfect, nuclear transfer would be no different. Although the technique is totally revolutionary, there are still flaws and minute studies are still done on such subject.

Clones can currently be produced thanks to the evolution of nuclear transfer technology or embryonic reconstruction and by embryonic bipartition. The production of clones is of great interest not only for genetic improvement, but also for biomedicine, biotechnology and several research areas. Cloning is still a very expensive technology and much more difficult, compared to other genetic improvement techniques applied to animals. The cloning technique is still under development and brings a high mortality rate in animal experiments. Limiting factors such as genetic defects and premature aging, increase discussions about animal cloning. Seen as a waste by animal defense associations, it has opened up a great deal of discussion on the subject.

Keywords: Clone; Genetics; Reproduction

INTRODUÇÃO

A clonagem animal ou transferência nuclear representa um dos maiores avanços científicos no campo da biotecnologia animal, esta técnica geralmente é reproduzida em laboratório; isto é, induzida artificialmente, e que tem por objetivo reproduzir animais geneticamente valiosos (PEREIRA; FREITAS, 2009).

A clonagem é utilizada em animais que tem características zootécnicas desejáveis, como maior massa muscular em animais de abate ou maior produção em animais de leite (animais de alto valor genético). Os animais clonados também podem ser usados como uma “fábrica de remédios”, onde serão usados em testes científicos podem inserir genes para moléculas de que os humanos precisam como remédios, como a insulina para diabéticos, o animal produtor de remédios pode continuar a ser clonado, criando um suprimento infinito de medicamentos de que os pacientes precisam (SILVA, 2016; FERNANDES, 2019).

A clonagem permite uma melhor seleção de animais de corte, como o nelore, guzerá e angus, com isso consegue um maior aproveitamento de carcaça em animais de corte e uma maior produção de leite em animais da raça Holandesa e Jersey, em relação a locais onde a temperatura e a umidade são adequadas para eles, possibilitando um melhor manejo, um ambiente adequado e com isso um aumento de produção (FERNANDES, 2019).

A transferência nuclear (TN) ou clonagem requer várias etapas complexas e importantes para o sucesso da técnica; entre elas a transferência do núcleo de uma célula doadora para o receptor, processo que varia conforme a célula utilizada (GUIMARÃES *et al.*, 2012). Dessa fusão surge um novo embrião, que em condições ideais são transferidos para o útero de uma receptora (PEREIRA; FREITAS, 2009), os animais oriundos dessa técnica possuem características geneticamente idênticas as do doador (SILVA, 2004).

Pensando nas vantagens econômicas oferecidas por esta ferramenta, estudos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de melhorar a eficiência dessa técnica (FORELL *et al.*, 2008), porém os desafios são grandes e vários problemas surgem ao longo desse processo.

Apesar das inúmeras vantagens, esta técnica ainda necessita de estudos mais aprofundados, pois sua eficiência ainda é baixa, decorrente de anomalias que ocorrem no período gestacional (GUIMARÃES *et al.*, 2012). A maioria desses problemas está relacionada com deficiências imunológicas, distúrbios cardiorrespiratórios, hepáticos, deficiência placentária entre outros (BARBOSA, 2014).

Com o intuito de conhecer mais sobre o processo de clonagem, este trabalho pretende discutir a respeito das diversas anomalias que dificultam a clonagem de bovinos; tornando essa técnica mais restrita.

Portanto, para melhor compreensão sobre o assunto abordado recorreu-se a uma pesquisa de cunho bibliográfico, e com base nos pressupostos teóricos de alguns autores procurou-se coletar dados considerados importantes, objetivando descrever essas anomalias que ocorrem em bovinos no processo de clonagem.

DESENVOLVIMENTO

REVISÃO DA LITERATURA

A primeira experiência com sucesso foi realizada em 1952, pelos Drs. Robert Briggs e Thomas J. King. Eles obtiveram os primeiros clones de rãs, por substituição de núcleos celulares. No Brasil foi iniciada em março de 2001 com o nascimento de Vitória, uma bezerra da raça simental desenvolvida pela equipe de Rodolfo Rumpf, da Embrapa. De lá pra cá, nenhum outro animal foi clonado, embora alguns grupos venham desenvolvendo pesquisa, principalmente em clonagem de bezerros. Esses animais são escolhidos por terem apelo comercial e por terem um período de gestação longo o que gera, normalmente, apenas um indivíduo. A clonagem de bovinos poderia facilitar a reprodução de animais com certas características genéticas como, por exemplo, uma maior produção de leite ou a alta taxa de músculos. Para os galináceos, que podem se reproduzir em um período curto de tempo e gerar inúmeros indivíduos, a clonagem não seria tão interessante. Existe, ainda, a possibilidade de animais serem clonados para fins terapêuticos, servindo para a experimentação ou visando à produção de órgãos compatíveis com o ser humano. Tais animais poderiam ser, um dia, produzidos em série para transplantes.

A técnica de transferência nuclear foi descrita pela primeira vez pelo embriologista Hans Spemann, em 1938; porém foi somente em 1952 que pesquisadores conseguiram realizar este experimento em anfíbios (GUIMARÃES *et al.*, 2012).

Desde então, este assunto é tema de discussão e experimento na área científica; porém a clonagem de mamíferos ainda era um desafio para os pesquisadores (BARBOSA, 2014).

Somente em 1986, Willadsen um pesquisador dinamarquês conseguiu êxito em suas pesquisas com a transferência nuclear, utilizando ovócitos de ovelhas conseguiu a reprodução de três cordeiros a partir de núcleos de embriões de oito a dezesseis células (MELLO, 2003). Com esta conquista, outros pesquisadores obtiveram êxito em

seus experimentos, clonando várias espécies de animais, ainda que, com resultados relativamente baixos (BARBOSA, 2014).

O nascimento da ovelha Dolly em 1996 acendeu o debate sobre clonagem que se tornou um assunto de grande repercussão, pela primeira vez um mamífero tinha sido reproduzido a partir de células de um animal morto e congelado (SILVA, 2004). O sucesso dessa experiência encheu de otimismo toda sociedade, era a esperança para o tratamento de vários tipos de doenças, além de possibilitar a preservação de animais em extinção e reproduzir aqueles de alto valor comercial (SILVA, 2004).

De acordo com Barbosa (2014) os primeiros resultados de clonagem no Brasil surgiram a partir de 2001, no dia 17 de março nascia em Brasília Vitória, bovino fêmea resultante de células embrionárias. No ano seguinte nascia o Marcolino da USP, primeiro clone resultante de uma célula diferenciada jovem (OLIVEIRA, 2015). No mesmo ano nascia em Jaboticabal — SP Penta, o primeiro clone gerado a partir de célula diferenciada adulta. Em 2003, nasce Lenda, bezerra holandesa clonada a partir de material genético retirado do ovário de uma vaca morta (BARBOSA, 2014). Em 2004, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia produz o primeiro clone do clone da América Latina, Vitoriosa, resultante do material genético retirado da orelha da vaca Vitória (BARBOSA, 2014). Dando continuidade a produção de indivíduos geneticamente idênticos.

“Ressuscitar” animais de estimação Um outro fator considerável é o sonho de “ressuscitar” animais de estimação, que tornou-se realidade nos Estados Unidos, onde a empresa Genetic Savings and Clone, com sede próximo a São Francisco, realiza clonagem de gatos por US\$ 50 mil “a cópia”. A Genetic Savings and Clone tenta agora reeditar a experiência com outro grande amigo do homem, o cachorro. A clonagem é feita através da uma retirada de DNA do estômago do animal vivo ou imediatamente após sua morte (WILSON E, 2004).

Estudos mostram que as anormalidades que ocorrem durante a gestação de clones bovinos estão relacionadas a problemas na placentação e a reprogramação anormal do núcleo da célula doadora, provocando anormalidades em fetos bovinos clonados (PEREIRA, 2013).

Entre as anomalias que acontecem durante a clonagem podemos destacar as alterações placentárias, responsável pelo grande número de abortos de clones bovinos. Essas anormalidades podem estar associadas à deficiência no desenvolvimento

placentário, sendo responsáveis pelas perdas de prenhes de aproximadamente, 82% dos bovinos clonados entre o 30º e 90º dia de gestação (GUIMARÃES *et al.*, 2012).

De acordo com o estudo de Pereira e Freitas (2009), essas perdas precoces estão relacionadas com deficiências funcionais que acontecem no início da placentação; caracterizado pelo número reduzido de placentomas, aproximadamente 60% menores em números e 50% maiores em tamanho, resultando em alterações placentárias e disfunções perinatais (PEREIRA; FREITAS, 2009).

Os motivos das alterações placentárias ainda são desconhecidos, o que se sabe é que essas falhas provavelmente acontecem devido à problemas na recondução dos núcleos de células diferenciadas a um estágio embrionário nos embriões clonados, levando a erros genéticos (GUIMARÃES *et al.*, 2012).

De acordo com Barbosa (2014) a hidroalantóide se caracteriza por alterações placentárias, na qual a vascularização fica comprometida, isto devido a uma falha no balanceamento dos fluídos placentários. Segundo a autora, essa anomalia ocorre devido a concentração plasmática materna da glicoproteína (PSP60); substância produzida pelas células trofoblásticas binucleadas.

Essa anomalia ocorre geralmente em bovinos e é detectada normalmente no terceiro trimestre de gestação (BARBOSA, 2014). A hidroalantóide se caracteriza pela distensão abdominal, devido ao acúmulo de líquido no alantoide, o que provoca um aumento dos placentomas, matando o feto devido a compressão do líquido (PEREIRA; FREITAS, 2009).

Esta é uma anormalidade frequente em bovinos clonados, os animais acometidos por esta síndrome nascem com peso superior aos dos neonatos normais, apresentando algumas características típicas dessa síndrome, como; placentas endematosas, umbigo grosso e vasos umbilicais aumentados; sinais que condiz com distúrbios do metabolismo de carboidratos na placenta e \ ou do feto (PEREIRA, 2013; BIRGEL JUNIOR *et al.*, 2011).

Estudos comprovam que a macrossomia é uma síndrome que se destaca em neonatos provenientes de clonagem, cerca de 30% dos bovinos clonados apresentam este fenômeno (PEREIRA, 2013).

Birgel Junior *et al.* (2011) relatam que 23% dos animais clonados apresentam hipoglicemia e/ou distúrbios de termorregulação no primeiro dia de vida, de acordo com os autores esta patologia pode estar relacionada a macrossomia, visto que, em mulheres grávidas já foi observado quadro de diabetes gestacional compatível com

distúrbios decorrentes da hipóxia durante a vida perinatal com consumo das reservas de glicogênio hepático.

Dessa forma, o aumento dos teores plasmáticos de insulina pode ser um indício de distúrbio na regulação de energia intrauterina responsável pelas anomalias que resultam em óbitos em clones (MARCHESE, 2014). Barbosa (2014) comenta que este distúrbio ocorre por volta do 100º dia de gestação e apresenta uma taxa de 30% de mortalidade.

Dentre as várias anomalias que acometem os animais resultantes de transferência nuclear podem-se observar as alterações no sistema respiratório e cardíaco (19%), esses distúrbios estão relacionados a imaturidade pulmonar, sopros cardíacos na 1ª e 2ª bulhas, hipertrofia concêntrica do miocárdio, edema pulmonar, aspiração de mecônio entre outras (PEREIRA, 2013).

De acordo com Birgel Junior *et al.* (2011) os distúrbios cardiorrespiratórios normalmente estão relacionados à produção inadequada e/ou consumo do surfactante pulmonar que associada ao aumento da pressão da artéria pulmonar (primária ou secundária) pode levar o animal a morte; para reverter esse quadro aconselha-se a administração de 300 a 1000 mg de surfactante nas primeiras horas de vida do animal.

Os clones também apresentam problemas imunológicos; observa-se a ocorrência de anemia de grau moderado a grave, essa anemia observada era de origem ferropriva, porém pode ser revertida com o uso sais de ferro nos primeiros dias de vida dos bezerros e, como medida preventiva, na suplementação das receptoras nos últimos meses de gestação (BIRGEL JUNIOR *et al.*, 2011).

Em animais clonados as anomalias umbilicais estão presentes em 37% (MARCHESE, 2014), nesses casos o aumento da espessura no cordão umbilical dificulta sua ruptura espontânea, deixando as artérias umbilicais expostas, o que pode levar a uma hemorragia. Para evitar complicações é necessário o uso de clamps, além da desinfecção com tintura de iodo a 2% (BIRGEL-JUNIOR *et al.*, 2011).

Problemas do trato gastrointestinal, renais, distúrbios do sistema nervoso central, problemas posturais e musculoesqueléticos são mais alguns problemas relatados em bezerros clonados (PEREIRA, 2013).

Apesar da técnica de clonagem ter contribuído para um grande avanço no campo da biotecnologia animal, pesquisas mostram que ainda existem limitações na produção de animais clonados (GUIMARÃES et al., 2012).

Estudos indicam que os problemas relacionados a perdas de clones não ficam limitados às gestações, animais clonados geralmente nascem mortos ou fracos, e sobrevivem por poucas horas ou dias (MELLO, 2003).

Pesquisas apontam que a baixa eficiência e o desenvolvimento anormal de animais clonados acontecem devido a reprogramação incompleta e da expressão gênica anormal de determinados genes (PEREIRA, 2013).

Acredita-se que tais genes são muito importantes para o desenvolvimento fetal e placentários, esses genes são: IGF2, IGF2R e H19, o desenvolvimento embrionário depende das modificações epigenéticas que acontece na célula doadora do núcleo; alterações que neles ocorrem podem gerar vários distúrbios placentários (BARBOSA, 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar das várias vantagens que se tem com a clonagem de bovinos, estudos mostram que ainda há muito o que pesquisar para melhorar a eficácia dessa técnica. Muitas das alterações responsáveis pela mortalidade de clones são decorrentes de desordens placentárias que resultam muitas vezes em anomalias responsáveis por distúrbios de saúde observados nos clones.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. C. **Clonagem em bovinos: descrição das principais anomalias**. Monografia-Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2014.
- BIRGEL JUNIOR, E.H.; MEIRELLES, F.V.; MAIORKA, P.C.; KUBRUSLY, F.S.; OLLHOFF, R.D. Medicina interna de bezerros clonados — Distúrbios clínicos observados nos primeiros 30 dias de vida. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 24-31, 2011.
- FORELL F., FELTRIN C., SANTOS L. C., COSTA U. M., VIEIRA A. D., HÖLKER M.; RODRIGUES J.L. Otimização do sistema de produção de clones por transferência nuclear de célula somática (NTSC). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, n. 3, p. 221-228, 2008.
- GUIMARÃES, C. F.; MEIRELLES, M. G.; OLIVEIRA, B. M. M.; POGLIANI, F. C.; FERNANDES, C. B. Clonagem em ruminantes: anomalias placentárias e disfunções perinatais. **Veterinária em Foco**, Canoas, v.9, n.2, p.100-109 jan./jun, 2012.

MARCHESE, F. J. M. **Perfil bioquímico de bezerros da raça nelore, originados por meio da técnica de transferência nuclear de célula somática (TNCS) — clonagem.** Dissertação (Mestrado) — Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2014.

MELLO, M. R. B. **Clonagem em bovinos:** Uso de fibroblastos fetal e adulto como fonte doadora de núcleo. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2003.

OLIVEIRA, B. I. C. Clonagem Animal Por Transferencia Nuclear Em Bovinos. **Revista Científica Eletrônica De Ciências Aplicadas da Fait** - ISSN:1806-6933 Ano XII Número 4 — Outubro de 2015 — Periódico Anual

PEREIRA, A. F.; FREITAS, V. J. F. Clonagem em ruminantes: progressos e perspectivas atuais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.3, p.118-128, jul./set. Belo Horizonte, 2009.

PEREIRA, L. S. **Aspectos anatomopatológicos de clones bovinos abortados e neonatos.** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 90p. Brasília, 2013.

SILVA, T. J. C. Clonagem: o que aprendemos com Dolly?. **Ciências Culturais.** v.56, n.3. São Paulo, 2004.

WILSON, E. **Clonagem de animais de estimação:** um novo negócio nos Estados Unidos. Disponível em <<http://www1.uol.com.br/diversao/afp/2004/03/28/ult32u7774.shl>> Acesso em: 28 de março de 2004