

Estudo da variação sazonal dos parâmetros bioquímicos de roedores e lagomorfos do Biotério da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil*

Marilda Osti Spinelli¹⁺, Robison José da Cruz¹, Cyntia Marques dos Santos Correa de Godoy¹, Milena Coutinho Motta¹ e Sueli Blanes Damy²

ABSTRACT. Spinelli M.O., da Cruz R.J., de Godoy C.M.S.C., Motta M.C. & Damy S.B. [Study of seasonal variation biochemical parameters of rodents and lagomorphs from the Vivarium of the Faculty of Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.] Estudo da variação sazonal dos parâmetros bioquímicos de roedores e lagomorfos do biotério da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 36(2):219-225, 2014. Faculdade de Medicina, Divisão Técnica de Apoio ao Ensino e Pesquisa, Biotério Central, Avenida Doutor Arnaldo, 455, Cerqueira César, São Paulo, SP 01246-903, Brasil. E-mail: marilda@biot.fm.usp.br

This work aimed to study the seasonal variation of the biochemical parameters of mice inbred BALB / c and C57BL / 6 mice, rats and rabbits New Zealand, the Vivarium of the Faculty of Medicine, University of Sao Paulo. Which is its clinical significance, assessing the analytes plasma ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransaminase), urea, urea-BUN (blood urea nitrogen), creatinine, total cholesterol and fractions VLDL (very low density lipoprotein), HDL (high density lipoprotein) and LDL (low density lipoprotein)? The results showed an increase in concentrations of analytes, statistical significance, especially in summer. The hypotheses that causes nutritional, infectious, water stress or climatic variations did not affect them, suggesting that to assess the health status of colonies of laboratory animals, biochemical parameters must be considered within the range of variation expected for each colony under study.

KEY WORDS. Animal house, plasma biochemistry, rodents and lagomorphs, climate action.

RESUMO. Este trabalho teve como objetivo o estudo da variação sazonal dos parâmetros bioquímicos de camundongos isogênicos BALB/c e C57Bl/6, ratos Wistar e coelhos New Zealand, do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Qual o significado clínico, avaliando os analitos plasmáticos ALT (alanina aminotransferase), AST (aspartato aminotransaminase), Uréia, BUN-Uréia (blood urea nitrogen), Creatinina, Colesterol total e frações VLDL (very low density lipoprotein), HDL (high density lipo-

protein) e LDL (low density lipoprotein)? Os resultados apontaram um aumento das concentrações dos analitos, de significância estatística, principalmente no verão. As hipóteses de que causas nutricionais, infecciosas, estresse hídrico ou variações climáticas não influenciaram os mesmos, sugerindo que para avaliar o estado sanitário de colônias de animais de laboratório, os parâmetros bioquímicos devem ser considerados dentro da amplitude de variação esperada para cada colônia em estudo.

* Recebi em 3 de setembro de 2012.

Aceito para publicação em 21 de janeiro de 2014.

¹ Biomédica, MBA. Divisão Técnica de Apoio ao Ensino e Pesquisa, Biotério Central, Faculdade de Medicina (FM), Universidade de São Paulo (USP), Av. Dr. Arnaldo, 455, Cerqueira César, SP 01246-903, Brasil. E-mails: cruz@biot.fm.usp.br, cyntia@biot.fm.usp.br, milena@biot.fm.usp.br

⁺ Autora para correspondência, E-mail: marilda@biot.fm.usp.br

² Médico-veterinário, PhD. Disciplina Técnica e Cirúrgica (FM), (USP), Av. Dr. Arnaldo, 455, 4º andar, Cerqueira César, SP 01246-903. E-mail: damy@usp.br

PALAVRAS-CHAVE. Biotério, bioquímica plasmática, roedores e lagomorfos, ação climática.

INTRODUÇÃO

Os valores de parâmetros fisiológicos dos animais em experimentação, geralmente são determinados em países com longa tradição na manutenção de biotérios. Desta forma, esses passam a ser admitidos como constantes para os animais de uma mesma linhagem, espalhados pelos mais diversos países (C.C.A.C. 1984, Brinco 2007, Chorilli et al. 2007).

Os roedores (camundongos, ratos e hamsters), têm sido os animais mais utilizados pelos centros de pesquisa, sendo de grande importância para os estudos científicos em diversas áreas devido a apresentarem características fisiológicas e genéticas semelhantes aos humanos (Dial 1995, Brinco 2007, Almeida et al. 2008).

Para lagomorfos (coelhos - New Zealand), hoje temos a sua utilização na grande maioria para os diagnósticos de funções fisiopatológicas, como: renal, hepatopatas, coagulação sanguínea, genética, manutenção e estruturação óssea buço maxilar, ortopedia, dentre outras (Harkness & Wagner 1993).

Com a prática da realização de exames laboratoriais é possível obter resultados que demonstrem os parâmetros fisiológicos e comportamentais dos animais de laboratório, aos quais podem ser severamente alterados devido à presença de interferentes, principalmente quando relacionados à instabilidade do clima ambiental (Harkness & Wagner 1993, Nicolósi M 2002).

A disponibilidade de informações relacionadas ao perfil bioquímico de roedores e lagomorfos, está normalmente envolvida com peso, sexo e idade dos animais em estudo, além da interferência climática (Weisbroth et al. 1974, Sacher & McPherson 2000, Rodrigues et al 2003). Para que o pesquisador assegure resultados experimentais fidedignos, todas variáveis devem ser levadas em consideração (Zhou 2004, Franco 2005).

Os animais de experimentação apresentam comportamento diferenciado mesmo quando criados em condições semelhantes em diferentes instituições, pois as intempéries climáticas, localização geográfica e outros fatores, respondem por tais alterações (C.C.A.C. 1984, Fagundes & Taha 2004).

A partir de análise de registros dos resultados de alguns parâmetros bioquímicos realizados rotineiramente pelo Laboratório de Controle de Qualidade Genética e Sanitária Animal do Centro de Bioterismo da Faculdade de Medicina da USP,

Universidade de São Paulo (Wolfords et al. 1986, Mitruka & Rawsley 2004), foi levantada a seguinte pergunta: Por que os camundongos e ratos criados em condições constantes de temperatura, iluminação, pressão, manejo, formulação de ração e controle de ruídos, apresentavam variações nos parâmetros bioquímicos sanguíneos e qual o seu significado?

Na busca da resposta a estas questões, foram analisados os resultados dos mesmos parâmetros na colônia de coelhos que apresenta condições ambientais não padronizadas, chegando-se à conclusão de que as alterações eram sazonais.

Buscando um aprofundamento no estudo e na resposta das questões levantadas, este trabalho teve como objetivo avaliar os analitos: ALT (Alanina aminotransferase), AST (Aspartato aminotransferase), Uréia, BUN-Uréia (Blood urea nitrogen), Creatinina, Colesterol total e frações VLDL (Very low density lipoprotein), HDL (High density lipoprotein) e LDL (Low density lipoprotein) encontrados no sangue de camundongos, ratos e coelhos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Dentro do programa de controle de qualidade sanitária do Centro de Bioterismo da FMUSP, foram coletados, randomicamente, machos e fêmeas, de camundongos das linhagens: C57BL/6, Balb/c; ratos da linhagem Wistar; e coelhos da raça New Zealand, distribuídos em aproximadamente 2 animais/mês, durante os anos de 2009/2010, todos entre 10 a 11 semanas, totalizando 24 animais por linhagem e/ou espécie, conforme preconiza os princípios internacionais de ética e bem estar animal (Comitê de Ética do complexo HC/FMUSP, certificado nº 251/11 (Mazzaccara et al. 1986).

Na triagem bacteriológica foram detectados os seguintes microrganismos, *Mycoplasma pulmonis*, *Helicobacter* spp., *Pasteurella pneumotropica*, nas colônias convencionais de camundongos, ratos e coelhos analisados na presente pesquisa.

Ambiente

Nas salas de criação de roedores, foram feitos diariamente registro de temperatura de 22±2°C.^{17,18}, fotoperíodo 12 horas claro / 12 horas escuro. A água e a ração comercial, com formulações adequadas para cada espécie (Nuvital), sendo fornecidas *ad libitum*. As trocas de gaiolas e a cama de maravalha foram feitas duas vezes por semana, após desinfecção das gaiolas e esterilização da maravalha (Green 1986, Yoshida et al. 2000).

A sala de criação de lagomorfos não possui sistema de ar condicionado, variando a temperatura de acordo com a variação do ambiente externo. A manutenção dos coelhos é feita em gaiolas de arame galvanizado, com fornecimento de ração comercial adequada (Nuvital) e

água *ad libitum*. As gaiolas são lavadas diariamente e desinfetadas (Yoshida et al. 2000, Green 1986).

Temperaturas externas

Os registros das temperaturas da cidade de São Paulo foram encontrados no Boletim Climatológico Anual da Estação Meteorológica do IAG-USP, durante os anos de 2009/2010 (Beiguelsen 1991).

Coleta de amostras de sangue

Os animais foram enviados ao laboratório de Controle de Qualidade Sanitária Animal do Centro de Bioterismo, Faculdade de Medicina da USP (CBFMUSP), localizado em prédio adjacente ao prédio de criação, para a análise bioquímica (Dantas et al. 2006).

Os roedores, após sofrerem anestesia e eutanásia em câmara de CO₂ (Hooper et al. 2009), tiveram coletados aproximadamente 700µl de sangue, via plexo-retro-orbital dos camundongos e punção cardíaca nos ratos, o sangue foi acondicionado em microtubos com anticoagulante EDTA (ácido tetracético) na concentração de 10 mg/dL.

Para a coleta de sangue dos coelhos, foi realizada uma punção na veia auricular, com previa anestesia local, as amostras receberam o mesmo tratamento a coleta de sangue dos roedores (Stockham & Scott 2002, Fetterman & Rebar 2006, Sáez AA 2006).

Processamento das amostras de sangue

O plasma foi separado por processo de centrifugação (Eppendorf, 5804) a 2.500rpm durante 10 minutos, obtendo-se plasma livre de hemólise, interferente crucial nas dosagens. Em seguida as análises bioquímicas foram processadas: ALT, AST, uréia, uréia/BUN, creatinina, colesterol total e suas frações (LDL, HDL, VLDL).

Os ensaios foram realizados por sistema de identificação-espectrofotométrica em analisador bioquímico semi-automatizado (Cobas Mira-Roche Diagnostic System), com utilização de Kits comerciais padronizados

para animais das marcas Bioclin / Biosystems e ou Lab-test (Sawamura et al. 1997).

Análise estatística

Os valores dos resultados dos exames bioquímicos, separados por trimestre correspondentes a cada estação dos anos de 2009 e 2010, foram analisados pelo programa GRAPHPAD Software, aplicando-se o teste t-Student pareado para comparação das médias trimestrais. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de "p" foi menor ou igual a 0,05 (5%).

RESULTADOS

Os resultados dos analitos resumidos nas Tabelas 1, 2, 3 e 4 demonstram as diferenças relacionadas às estações do ano de acordo com a espécie e linhagem animal (C57Bl/6, Balb/c, Wistar e New Zealand).

Os camundongos isogênicos C57Bl/6 (tabela 1), machos e fêmeas, apresentaram aumento das concentrações de AST, ALT, COL tot, VLDL e LDL no verão. A Uréia, BUN-uréia, creatinina, permaneceram razoavelmente estáveis e a fração HDL aumentou entre os machos, na primavera e verão.

A Tabela 2, ilustrando os resultados de camundongos BALB/c, apontou um aumento das concentrações dos analitos analisados entre as fêmeas, e variações maiores de concentrações na primavera (AST, ALT), inverno (uréia e LDL), outono BUN-uréia, creatinina, col total) entre os machos.

Observa-se, nas Tabelas 3 e 4, que tanto para os machos como para as fêmeas de ratos Wistar e coelhos New Zealand, todos os analitos apresentaram aumento de concentrações no verão, com exceção de ALT que foi maior nos coelhos machos na primavera.

Tabela 1. Valores Bioquímicos de C57Bl/6 Convencional do Centro de Bioterismo FMUSP.

Parâmetros	Linhagens									
	C57Bl/6					C57Bl/6				
	Sexo ♂ - 8 a 11 Semanas					Sexo ♀-8 a 11 Semanas				
	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados t Student	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados t Student
Temperatura TM / TE (°C)	22.6 / 19.5	22.1 / 15.2	21.2 / 19.5	25.6 / 26.3	P	22.6 / 19.5	22.1 / 15.2	21.2 / 19.5	25.6 / 26.3	P
AST (U/L)	36±11	40±15	37±19	69±12	0.05	40±3	28±1.5	37 ±21	59±20	0.05
ALT (U/L)	22±18	52±18	37±11	100±0.01	0.04	44±4	39±9.3	44±0.26	76±5	0.02
Uréia (mg/dL)	26±18	33±15	34±13	36±23	0.05	42±6	38±7.8	38±6	42±6	0.03
Bun-uréia (mg/dL)	4±1.5	6±2	5.6±2	8.4± 9.6	0.03	7±1.0	6±1.3	6±1.3	6.9 ±1	0.05
Creatinina (mg/dL)	0.2±1	0.25±0.2	0.23±0.06	0.32±0.3	0.05	2.0±0.6	0.30±0.07	0.17± 0.04	1.6±0.18	0.03
Col.total (mg/dL)	80±12	70±16	69±18	107±23	0.02	58±3	64±4.5	51±8.3	149±33	0.05
VLDL (mg/dL)	11±2	15±5	13.3±3	26±3	0.03	20±1	24±1.9	14±2	26 ±5	0.04
HDL (mg/dL)	25±8	31±12	32±9	34±9	0.05	47±5	24±5.0	54±5	54±6	0.05
LDL (mg/dL)	43±12	40±17	39±11	48±9	0.05	9±0.5	32±7.0	42±18	84±23	0.05

U/L= unidade por litros; mg/dL= miligramas por decilitros; TM = Temperatura do Macroambiente, calculado a mediana de 2009-2010; TE = Temperatura Externa, dados fornecidos Serviços Meteorológicos do IAG/USP 31.

*Exames realizados pelo Laboratório de Controle de Qualidade Sanitária Animal do CB FMUSP.

Tabela 2. Valores Bioquímicos de BALB/c Convencional do Centro de Bioterismo FMUSP.

Parâmetros	Linhagens									
	BALB/c				BALB/c					
	Sexo ♂ - 8 A 11 Semanas				Sexo ♀-8 A 11 Semanas					
	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados <i>t</i> Student	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados <i>t</i> Student
Temperatura TM / TE (°C)	21.8/19.6	22.8/15.6	19.3/19.5	24.2/26.3	P	21.8/19.6	22.8/15.6	19.3/19.5	24.2/26.3	P
AST (U/L)	37±7	24±2	48±5	27±5	0.05	39±1	13±0	32±4	61±29	0.05
ALT (U/L)	41±3	15±30	52±3	24±6	0.02	42±1	36±3	25±7	102±8	0.05
Uréia (mg/dL)	49±5	75±12	38±13	49±5	0.03	19±3	40±1	44±5	73±3	0.05
Bun-uréia (mg/dL)	8±0.1	12±0.4	7±2	8±0.1	0.05	3±3	5.3±1	73±0.84	12±0.6	0.04
Creatinina (mg/dL)	0.2±0.6	0.26±1.3	0.14±0.03	0.27±0.06	0.05	0.20±0.1	0.22±0.02	0.24 ±0.07	0.30±10.05	
Col.total (mg/dL)	119±18	88±2	72.3±7	119 ±18	0.05	57±7	68±2	84 ±8	87±3	0.02
VLDL (mg/dL)	27±3	14±1	22±5	27 ±3	0.04	11±2	11±1	14±2	17±12	0.03
HDL (mg/dL)	50±0	27±2	39±4	50 ±0	0.05	14±1	22±2	34±2	44 ±5	0.05
LDL (mg/dL)	30±15	73±3	19±6	30±15	0.05	36±5	43±3	32±2	64±10	0.03

DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo responder ao nosso questionamento sobre as razões que estariam levando os parâmetros bioquímicos do sangue de camundongos das linhagens BALB/c e C57BL/6, ratos Wistar e coelhos New Zealand, apresentarem variações no decorrer do ano. A suspeita de ser influência ambiental parecia ser descartável, uma vez que tanto os camundongos como os ratos eram mantidos em ambiente padronizado, quanto à temperatura, período de luz/escurecimento, manejo, formulação da ração e ruídos, diferente da colônia de coelhos, criados em ambiente não padronizado, variando as condições internas das salas com as variações climáticas externas. A escolha dos análises ocorreu devido a grande demanda de pedidos pelos pesquisadores do complexo Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Rapkiewicz et al. 1998, Yoshida et al. 2000, Fernandes et al. 2001, Dantas et al. 2006).

Quanto às enzimas AST e ALT que refletem aspectos de função hepática, observou-se que tanto as fêmeas de camundongos C57Bl/6 e BALB/c, machos da linhagem C57Bl/6, machos e fêmeas de ratos Wistar e fêmeas de coelhos New Zealand apresentaram aumento das concentrações no verão, e os machos BALB/c e coelhos New Zealand, na primavera.

Estas enzimas que ocorrem em maior concentração no fígado, e em quantidades menores em rins, miocárdio e musculatura esquelética, são consideradas marcadores específicos de danos no parênquima hepático, tendo como causa o aumento da liberação de enzimas intracelulares, que aumentam sua concentração sérica, devido às lesões estruturais nas membranas celulares, por traumas, alterações circulatórias, aporte insuficiente de oxigênio e substratos. No ser humano, o aumento sérico de 15

a 100 vezes do limite superior normal caracteriza a fase aguda de hepatite ABCD, em esteatose hepática ou infiltração gordurosa do fígado, com ou sem processo inflamatório associado, os níveis séricos das aminotransferase tendem a estar discretamente maiores (Abifadel et al. 2003). Considerando que os resultados das concentrações máximas observadas, tanto de AST como ALT, não ultrapassem duas vezes as menores concentrações e sugerem que estas variações poderiam não ser devido a causas patológicas e sim devido às causas ambientais.

A análise de compostos nitrogenados apontou para uma tendência ao aumento das concentrações de uréia, BUN-uréia e Creatinina no verão para machos C57Bl/6, ratos Wistar e coelhos New Zealand juntamente com as fêmeas BALB/c, Wistar e New Zealand, aumentando no outono para fêmeas C57Bl/6 e machos BALB/c.

Devido a maior parte da uréia da corrente sanguínea ser filtrada pelos rins, sua concentração aumentada indica redução da filtração, mas esta última também é afetada pela produção de uréia pelo fígado (Smith 1998). Quando há aumento de lise protéica, devido à dieta rica em proteínas, aumento do catabolismo protéico, hemorragias gastrintestinais, por exemplo, ocasionam uma maior concentração de amônia e conseqüentemente síntese de uréia (Almeida et al. 2006).

As causas da azotemia podem ser pré renal ou pós renal. No primeiro caso, envolve um processo que ocorre antes dos rins, diminuindo o fluxo de plasma renal, como por exemplo, na desidratação ou diminuição do volume sanguíneo, causando uma diminuição da taxa de filtração glomerular; quando a azotemia é pós renal, a causa inicial está na dilatação dos néfrons, como quando corre uma obstrução do trato urinário, provocando uma constrição das arteríolas glomerulares, reduzindo o flu-

Tabela 3. Valores Bioquímicos de Wistar do Biotério Convencional do Centro de Bioterismo FMUSP.

Parâmetros	Linhagens									
	Wistar					Wistar				
	Sexo ♂ - 8 A 11 Semanas					Sexo ♀-8 A 11 Semanas				
	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados
					t Student					t Student
Temperatura					P					P
TM / TE (°C)	23.1 /19.6	23.3/15.6	18.6/19.5	23.4/26.3		23.1/19.6	23.3/15.6	18.6/19.5	23.4/26.3	
AST (U/L)	22.2±7.0	27.2±4.6	40.7±7.1	61.5±9.5	0.05	20.2±3.0	27.5±15	27.2±4.6	55.2±19	0.05
ALT (U/L)	18.8±7.0	31.5±3.0	42.2±15	48.8±10	0.02	22.60±2.9	37.2±6.1	42.2±27	47.2±5.7	0.02
Uréia (mg/dL)	43.7±5.0	17.5±1.5	48.7±4.0	53.5±5.0	0.03	45.9±5.5	19.5±0.26	45.1±8.0	48.7±7.0	0.03
Bun-uréia (mg/dL)	7.29±0.90	2.99±7.0	8.0±1.3.0	8.84±0.1	0.05	7.56±0.9	3.21±0.38	7.3±1.3	8.0±1.1	0.05
Creatinina (mg/dL)	0.36±0.17	0.26±1.3	0.27±0.05	0.38±0.27	0.05	0.40±9.3	0.40±0.07	0.40±9.3	0.40±0.07	0.05
Col.total (mg/dL)	63.7±6.8	50.7±2.7	74.4±8.0	103.7±16	0.05	66.7±6.3	63.4±6.2	73.6±4.0	74.9±7.2	0.05
VLDL (mg/dL)	12.4±2.0	12.8±2.5	14.5±1.5	29.7±3.7	0.04	12.6±4.0	10.8±1.8	13.8±2.0	14.5±1.5	0.04
HDL (mg/dL)	29.8±2.3	15.8±2.0	38.9±1.9	53.8±6.3	0.05	14.4±4.8	29.9±2.0	32.5±6.4	38.0±1.8	0.05
LDL (mg/dL)	37.9±5.0	22.8±7.6	42.3±4.3	46.2±5.0	0.05	39.5±5.1	20.7±4.0	46.2±5.0	59.2±4.0	0.05

Tabela 4. Valores Bioquímicos de New Zealand do Biotério Convencional do Centro Bioterismo FMUSP.

Parâmetros	Linhagens									
	New Zealand					New Zealand				
	Sexo ♂ - 8 A 11 Semanas					Sexo ♀-8 A 11 Semanas				
	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados	Outono	Inverno	Primavera	Verão	Resultados
					t Student					t Student
Temperatura					P					P
TM / TE (°C)	17.9/19.6	18.8/19.5	23.6/19.5	23.5/26.3		17.9/19.6	18.8/19.5	23.6/19.5	23.5/26.3	
AST (U/L)	26.4±	36.7±16	63.1±14	86.2±3.2	0.05	38.8±27.1	46.8±15	49.5±11.3	86.2±3.2	0.05
ALT (U/L)	36.0±17	24.5±11	45.3±8.1	41.6±11	0.02	36.0±17.0	17.0±3.7	37.0±6.2	45.0±2.8	0.05
Uréia (mg/dL)	14.5±1.2	13.7±2.8	19.4±0.05	31.0±5.0	0.03	19.4±2.9	13.7±2.4	21.3±6.3	30.0±7.0	0.05
Bun-uréia (mg/dL)	2.33±0.5	2.42±0.2	3.15±0.07	3.5±0.75	0.05	3.13±0.5	2.27±0.4	2.88±0.9	5.0±1.2	0.04
Creatinina (mg/dL)	0.46±0.15	0.33±0.01	0.65±0.20	0.96±0.34	0.05	0.40±1.3	0.33±0.04	0.44±0.12	0.57±0.15	0.05
Col.total (mg/dL)	61.7±4.0	53.6±10.0	70.5±10.4	139.0±46.3	0.05	71.0±11.5	70.2±11.4	73.0±19.0	97.7±21.0	0.02
VLDL (mg/dL)	11.5±2.7	6.41±0.5	15.5±2.5	16.4±0.5	0.04	15.0±5.1	14.0±3.7	15.5±2.5	16.0±5.9	0.03
HDL (mg/dL)	30.4±10	10.5±9.0	22.4±15.6	36.5±5.1	0.05	18.6±3.6	9.0±1.2	31.6±14	40.9±7	0.05
LDL (mg/dL)	30.4±10	25.5±7.8	39.6±13.7	59.9±11.3	0.05	34.9±7.8	31.6±1.4	49.6±15.6	64.6±18.4	0.03

xo plasmático renal e a taxa de filtração (Horowitz 2008).

As concentrações de creatinina também estão relacionadas aos processos patológicos relacionados à diminuição da taxa de filtração glomerular, podendo ocorrer também em casos de lesão muscular, quando os miócitos aumentam a produção e liberação (Horowitz GL 2008), no aumento do catabolismo muscular endógeno durante uma sepse ou caquexia por neoplasia também podem aumentar a liberação de creatina e assim, a quantidade de creatinina produzida (Andriolo & Rocha 2007).

Nos resultados apresentados no presente trabalho, as concentrações de uréia, BUN-uréia e creatinina, apresentaram variações estatisticamente significantes entre os trimestres avaliados. No ser humano adulto, os valores de referência normais para uréia variam de 10 a 40mg/dL, e de creatinina 0,60 a 1,30mg/dL. Desta forma, apesar da análise estatística ter apontado diferenças significantes entre as estações do ano analisadas, os limites superiores e inferiores estão dentro do esperado para filtração renal (Emanuelli et al. 2008).

Quanto às concentrações de frações lipoprotéicas, houve aumento de colesterol e suas frações nos meses de verão entre as fêmeas C57BL/6, BALB/6, Wistar e New Zealand; entre machos C57BL/6, Wistar e New Zealand; nos meses de outono, entre as fêmeas BALB/c.

Uma dieta rica em colesterol e ácidos graxos saturados favorece o acúmulo de pequenas frações lipoprotéicas (Ferreira & Andriolo 2008), cujo significado clínico seria a suscetibilidade aumentada destas partículas. Estas modificações oxidativas, consideradas por muitos autores acarreta num importante componente da patogênese da aterosclerose (Horowitz 2008), entretanto os roedores não desenvolvem aterosclerose em condições naturais (Boletim Climático 2010), ao contrário dos coelhos que podem desenvolver placas ateromatosas quando submetidos a dietas hiperlipídicas que não apresentam relação com eventos vasculares agudos, como ocorrem nos seres humanos.

A análise dos resultados tomados como um todo sugere que, uma vez que não houve variação na formulação da dieta fornecida aos animais em pau-

ta, houve variação dos parâmetros analisados tanto para as espécies mantidas em condições padronizadas como nas não padronizadas, e considerando que apesar das variações terem sido diferentes, estatisticamente significantes, todos os parâmetros, não apontam para processos patológicos, onde cada índice estaria exageradamente aumentado, parecendo sugerir que ocorre mesmo uma variação ligada ao ambiente, sendo que as variações fisiológicas das diferentes espécies analisadas demonstram parâmetros comparados dentro da amplitude de variação e não entre as médias e desvios (Almeida et al. 2006, Ferreira & Andriolo 2008).

Verificando-se a hipótese de que agentes infecciosos poderiam provocar as alterações sazonais, entre as bactérias encontradas nas colônias de animais de laboratório aqui retratadas, *Mycoplasma pulmonis*, *Pasteurella pneumotropica*, poderiam isoladamente ou em associação provocar lesões nos pulmões, não alterando, portanto os parâmetros químicos aqui analisados. *Helicobacter* spp. quando associado ao fígado, em camundongos, poderiam causar lesões significativas no fígado, porém em camundongos transgênicos (Chorilli et al. 2007).

Outra hipótese seria um aumento das concentrações em algumas estações do ano, particularmente verão, relacionada a estresse hídrico, provocando uma hemoconcentração. No entanto, durante todo período analisado, a água foi fornecida sem restrição. Desta forma, a sazonalidade das concentrações dos parâmetros bioquímicos analisados, não encontra justificativa, uma vez que as colônias de camundongos e ratos encontravam-se em ambiente padronizado. Portanto, dentro do escopo desta pesquisa, não foram encontradas razões conhecidas para justificar o aumento das concentrações de determinados analitos em alguns meses do ano (Nicolósi 2002, Emanuelli et al. 2008).

Os resultados das variações sazonais apresentados sugerem que para avaliação do estado sanitário de colônias de animais de laboratório, todo o conjunto de resultados, bacteriológicos, virológicos, hematológicos estados nutricionais etc. devem ser analisados com muito critério, e quando correlacioná-los com os parâmetros bioquímicos, estes devem ser considerados dentro da amplitude de variação da colônia (Dantas et al. 2006, Andriolo & Rocha 2007, Horowitz GL 2008).

CONCLUSÃO

O estudo da variação sazonal dos parâmetros bioquímicos apontou um aumento das concentrações dos analitos, principalmente no verão, com

significância estatística. Não foram constatados estados patológicos, mas sugere que para avaliação do estado sanitário de colônias de animais de laboratório, todo o conjunto de resultados: bacteriológicos, virológicos, hematológicos, estados nutricionais e etc., devem ser analisados com muito critério, e quando correlacioná-los com os parâmetros bioquímicos, estes devem ser considerados dentro da amplitude de variação da colônia.

REFERÊNCIAS

- Abifadel M., Varret M., Rabès J.P., Allard D., Ouguerram K., Devillers M., Cruaud C., Benjannet S., Wickham L., Erlich D., Derré A., Villéger L., Farnier M., Beucler I., Bruckert E., Chambaz J., Chanu B., Lecerf J.M., Luc G., Moulin P., Weissenbach J., Prat A., Krempf M., Junien C., Seidah N.G. & Boileau C. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nature Genetics* 2003, 34:154-156.
- Almeida S.A., Faleiros A.C.G., Teixeira D.N.S., Cota U.A. & Chica J.E.L. Valores de referência de parâmetros bioquímicos no sangue de duas linhagens de camundongos, *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, 44:429-432, (2006).
- Andriolo A. & Rocha M.H. *Características e interpretação dos resultados dos exames laboratoriais*, 2ª ed. Sarvier, São Paulo, 2007. p.3-13.
- Beigelmen B., Curso prático de bioestatística, *Ver. Bras. Gen.*, 1991. p.135-152.
- Boletim Climatológico Anual da Estação Meteorológica da IAG/USP, Seção Técnico do serviço Meteorológico, Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo, v. 14, 2010.
- Brinco A.V. *Análise do perfil lipídico em animais submetidos a um modelo de estresse ambiental*. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Gestão Tecnológica em Qualidade Ambiental, Centro Universitário Fevale, 40, 2007.
- C.C.A.C. Canadian Council on Animal Care, *Guide to the care and use of experimental animals*, 1984. p.86-88.
- Chorilli M., Michelin D.C. & Salgado H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev. Cient. Farm. Básica Aplicada*, 28:11-23, 2007.
- Dantas J.A., Ambiel C.R., Cuman R.K.N., Baroni S. & Amado C.A.B. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério central da Universidade Estadual de Maringá, estado do Paraná, *Acta Scient. Health Sci.*, 28:165-170, 2006.
- Dial S.M. Clinicopathologic evaluation of the liver. *Vet Clin North Am*, 52:257-273, 1995.
- Emanuelli M.P., Lopes S.T.A., Maciel R.M., Garmatz B.C. & Tavares M.O. Concentração sérica de fosfatase alcalina, gama - glutamil transferase, uréia e creatinina em coelhos. *Ciê. Anim. Bras.*, 9:251-255, 2008.
- Fagundes D.J. & Taha M.O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécie de animais de uso corrente. *Acta Cirúrg. Bras.*, 19:59-65, 2004.
- Fernandes S.T., Teixeira E.S. & Santos E.S. Influência da temperatura e do tempo de armazenamento das dosagens bioquímicas de uréia e creatinina em soro ou plasma caninos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 53:1-7, 2001.
- Ferreira E.S., Andriolo A., Intervalos de referência no laboratório clínico, *J. Bras. Patol. Med. Labor.*, 44: 11-16, 2008.
- Fettman M.J. & Rebar A. Laboratory evaluation of renal function, p.301-314. In: Thrall M.A., Baker D.C., Campbell R.W., Denicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A. & Weiser G. (Eds), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins, Filadélfia, 2004.
- Franco M. Centro de desenvolvimento de modelos experimentais: CEDEME/COBEA da Universidade de São Paulo. <http://www.cobea.org.br/animais.html>, 2005.
- Green E. *Biology of the laboratory mouse*. Mc Graw-Hill Book Co., New York, NK, 1986.

- Harkness J.E. & Wagner J.E. *Biologia e manejo*, p.8-56. In: Harkness S.E. & Wagner J.E. (Eds), *Biologia e Clínica de Coelho e Roedores*, 3ª ed. Roca, São Paulo, 1993.
- Hooper C., Justen A., Oliveira M., Faria E., Lanna C., Ramos S. & Majerowicz J. Valores Bioquímicos de camundongos da linhagem C57BL/6, *Simpósio de Animais de laboratório, SBCAL*, 2009.
- Horowitz G.L. Reference intervals: practical aspects. *Journal International Federation of Clinical Chemistry (eJIFCC)* 19:1-11, 2008.
- Mazzaccara C., Labruna G., Cito G., Scarfò M., De Felice M., Pastore L. & Sacchetti L. Age-related reference intervals of the biochemical and hematological parameters in C57Bl6, 129SV/EV and C3H/HeJ mouse strains. *PLoS one*, 3:3772, 2008.
- Mitruka B.M. & Rawnsley H.M., *Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals*, New York: Masson Publishing, 1977. p.73-83, 134-135.
- Nicolósi M., Centro de bioterismo da medicina da USP produz animais especiais para pesquisas, *Revista Controle de Contaminação*, 6:52-56, (2002).
- Sacher R.A., McPherson R.A., *Interpretação Clínica dos Exames Laboratoriais*, 11ª ed. Manole, Barueri, 2000.
- Sáez-Alquezar A. *Testes bioquímicos para estudo da função hepática*, p.1191-1195. In: Lopes A.C. (Ed.), *Tratado de Clínica Médica*. Editora Roca, São Paulo, 2006.
- Smith J.D. Mouse models of atherosclerosis. *Lab. Anim. Sci.*, 48:573-578, 1998.
- Sawamura T., Kume N., Aoyama T., Moriwaki H., Hoshikawa H., Aiba Y., Tanaka T., Miwa S., Katsura Y., Kita T. & Masaki T. An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein. *Nature*, 386:73-77, 1997.
- Stockham, S.L. & Scott M.A. *Urinary system*. In *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. Iowa State Press, Iowa, 8:279-334, 2002.
- Rodrigues U.P., Mattaraia V.G.M., Valentini E.J.G. & Damy S.B. Implantação de Boas práticas de produção (cGMP) no biotério central do Instituto Butantã, *Rev. Contr. Contamin.*, 6:20-24, 2003.
- Rapkiewicz K., Medina L. & Holmes D.D. *Clinical Laboratory animal medicine an introduction*. 2ª ed. Iowa State University Press, Ames, 1998. 277p.
- Weisbroth S.H., Flatt R.E. & Kraus A.L. In: *The biology of the laboratory rabbit*, New York, Academic Press, 1974, 34-45. **Qual o título do capítulo????**
- Wolfords T., Schroer R.A., Ghsf X., Gallo P.P., Brodeck M., Flak H.B. & Ruhren R. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *J. Toxicol EnvironmHealth*, 18:161-188, 1986.
- Yoshida H.S., Spinelli M.O., Guedes R., Cruz R.J., Damy S.B. Takano J.O. & Tolosa E.M.C., Valores hematológicos e bioquímicos em linhagens de camundongos isogênicas A.Snell, Balb/c, C57Bl/6J e heterogênica suíça, *Rev. Bras. Med. Vet.*, 22:122-124, 2000.
- Zhou X. Effect of sex and age on serum biochemical reference ranges in C57Bl6J mice. *Comp. Med.*, 54:176-178, 2004.