



## Expressão diferencial do gene interleucina 6 em células do leite de vacas saudas e com mastite

Fonseca, I<sup>1</sup>; Silva, PV<sup>1</sup>; Miranda, CL<sup>1</sup>; Guimarães, MFM<sup>2</sup>; Guimarães, SEF<sup>1</sup>; Machado, MA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa

<sup>2</sup>Embrapa Gado de Leite

isabela\_fonseca@yahoo.com.br

**Palavras-chave:** Real Time PCR, Interleucina-6, Resposta Imune

Na produção animal, dentre os problemas de sanidade, as doenças infecto-contagiosas são as que mais se destacam, sendo a mastite uma das principais doenças. Uma das formas que tem sido mais promissora para a redução dos problemas causados pelas doenças infecto-contagiosas, além dos cuidados sanitários, é a seleção de animais resistentes e a incorporação desta característica aos rebanhos. Como ferramenta para a seleção de animais melhores adaptados e mais produtivos pode ser utilizada a estratégia de genes candidatos, e para a escolha dos melhores é preciso caracterizar a expressão gênica em animais resistentes e susceptíveis às doenças. Desta forma, neste estudo procurou-se caracterizar a expressão do gene Interleucina-6 (*IL-6*) em células presentes no leite de animais sem infecção mamária e com mastite por meio da técnica de PCR quantitativo em tempo real (qPCR). A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória produzida por macrófagos e está envolvida no choque séptico agudo durante a mastite causada por coliformes ou *Streptococcus aureus*. Foram coletadas amostras de 50 mL leite de duas vacas com mastite e duas vacas sem mastite da raça Holandesa. O RNA total das amostras foi extraído utilizando-se o kit RNeasy Mini Kit (*Qiagen*) seguindo-se as recomendações do fabricante com modificações para adaptar o protocolo ao tipo de amostra (leite). Por este protocolo, a concentração de RNA total por amostra foi de 5,1 e 24,6 ng/ $\mu$ L, respectivamente para a amostra de leite sadio e com mastite. Após a extração, dois *pools* foram feitos com o RNA total do grupo de fêmeas com e sem mastite, de modo que as amostras individuais estivessem equivalentemente representadas. O RNA total de cada *pool* foi usado como molde para a confecção da primeira fita de cDNA utilizando o kit SuperScript III First-Strand Syntheses SuperMix (Invitrogen). As reações de PCR em tempo real foram realizadas utilizando-se o kit de SYBR Green<sup>®</sup> PCR Master Mix (*BioRad*), de acordo com as recomendações do fabricante. Para avaliar a expressão do gene foram utilizados *primers* como descritos na literatura. Como referência endógena foi utilizado o gene GAPDH (desidrogenase 3-fosfato gliceraldeído). A expressão do gene *IL-6* foi 3,88 vezes maior em vacas com mastite quando comparadas com vacas livres de infecção. Este resultado sugere que a IL-6 pode estar relacionada à resposta imune de vacas com mastite, sendo necessária a confirmação deste resultado em um grupo maior de animais da mesma raça ou de outra, além de se estudar a expressão de outros genes em diferentes fases de infecção, de modo que o mecanismo de resposta imune relacionado à mastite seja melhor compreendido e venha gerar estratégias mais eficientes de controle e erradicação.

Apoio financeiro: FINER, CAPES, FAPEMIG e CNPq.