

13 Jinc

Jornada de
Iniciação Científica

Anais da 13^a Jornada de Iniciação Científica (JINC)



Universidade
do Contestado



Fundação Universidade do Contestado

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Suínos e Aves
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da 13^a Jornada de Iniciação Científica (JINC)

*Fundação Universidade do Contestado
Embrapa Suínos e Aves
Concórdia, SC
2019*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Suínos e Aves

BR 153, Km 110
Caixa Postal 321
CEP 89.715-899 - Concórdia, SC
Fone: (49) 3441 0400
Fax: (49) 3441 0497
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Fundação Universidade do Contestado - UnC

Rua Victor Sopesla, 3.000
Bairro Salete - Caixa Postal 211
CEP 89.700-970 - Concórdia, SC
Fone: (49) 3441-1000
Fax: (49) 3441-1020
reitoria@unc.br
www.unc.br

Unidade responsável pela edição

Embrapa Suínos e Aves e Fundação
Universidade do Contestado - UnC

Instituição responsável pelo conteúdo

Fundação Universidade do Contestado - UnC

Coordenação editorial: *Tânia M. B. Celant*
Editoração eletrônica: *Vivian Fracasso*
Normalização bibliográfica: *Claúdia A. Arrieche*
Criação da logomarca: *Marina Schmidt*
Arte da capa: *Vivian Fracasso*
Foto da capa: *Jairo Backes*

Nota

Os artigos publicados são de inteira responsabilidade de seus autores. As opiniões neles contidas não representam, necessariamente, a visão da Embrapa Suínos e Aves. A revisão ortográfica e gramatical dos artigos é de inteira responsabilidade dos respectivos autores.

1ª edição

Publicação digitalizada (2019)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Suínos e Aves

Jornada de Iniciação Científica (13. : 2019 : Concórdia, SC).

Anais da 13ª Jornada de Iniciação Científica (JINC), Concórdia, 23 de outubro de 2019. – Concórdia, SC : Fundação Universidade do Contestado : Embrapa Suínos e Aves, 2019.

127 p.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

ISBN 000-00-00000-00-0

1. Produção Animal. 2. Suíno. 3. Ave. I. Embrapa Suínos e Aves.
II. Fundação Universidade do Contestado (UnC).

CDD 636

© Embrapa 2019

EXPRESSÃO DOS GENES *MAP1LC3C* E *EPYC* EM SUÍNOS NORMAIS E AFETADOS COM HERNIA UMBILICAL

Débora Ester Petry Marcelino¹, Mayla Regina Souza², Marina Eduarda Auler³,
Igor Ricardo Savoldi², Adriana Mércia Guaratini Ibelli^{4,5} e Jane de Oliveira Peixoto⁶

¹Graduanda em Engenharia Agrônoma pela FACC-Faculdade Concórdia, Campus Concórdia, bolsista CNPq/PIBIC na Embrapa Suínos e Aves, deboraester.agro@gmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC Oeste, Chapecó, SC

³Graduanda em Farmácia pela Universidade do Contestado-UNC, Concórdia, SC, bolsista CNPq/PIBIC na Embrapa Suínos e Aves

⁴Analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

⁵Professora na Universidade do Contestado, Concórdia, SC

⁶Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves.

Palavras-chave: anel umbilical, qPCR, expressão diferencial.

INTRODUÇÃO

A principal fonte de proteína animal é a carne suína, representando quase metade do consumo e produção de carnes mundial (1). O Brasil ocupa o 4º lugar na produção de carne suína no mundo, produzindo aproximadamente 3.758 mil toneladas (2). O desempenho brasileiro se deve principalmente ao incremento tecnológico e a melhorias no manejo, nutrição, sanidade e aos programas de melhoramento genético aplicados nos suínos, proporcionando maior ganho de peso, melhor conversão alimentar e rendimento de carcaça (3). No entanto, ainda há vários problemas que acometem a produção suinícola, podendo-se citar a hérnia umbilical (HU), que é causada por uma protrusão de órgãos ou tecido através de uma abertura na pele ou músculo (4). Isto pode ocorrer se o anel umbilical permanecer aberto ou fechar-se incompletamente após o nascimento (5). A prevalência de HU nos animais nascidos vivos varia de 0,40 a 2,25%, causando perdas econômicas, afetando o bem-estar animal, o desempenho e o valor de mercado dos suínos (6,7). Devido aos problemas relacionados com a hérnia umbilical, é importante avaliar a expressão de genes relacionados com o desenvolvimento deste tecido. Um dos genes expressos no tecido do anel umbilical é a proteína de ligação aos microtúbulos 1, cadeia leve 3 gama (*MAP1LC3C*), localizada no cromossomo 10 do genoma suíno (8). O *MAP1LC3C* é um gene ortólogo da proteína autofagossomo de levedura Atg8 e, em humanos, está relacionado com a autofagia celular (9). Outro gene que apresenta expressão nos tecidos umbilicais é o *epifican* (*EPYC*), localizado no cromossomo 5 do suíno (10), que têm sido pouco estudado em suínos, mas que em humanos faz parte da família de proteoglicanos ricos em leucina, atuando na regulação da fibrillogênese, interagindo com fibrilas de colágeno e outras proteínas da matriz extracelular. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a expressão dos genes *MAP1LC3C* e *EPYC* em amostras teciduais do anel umbilical de suínos normais e afetados com hérnia umbilical.

MATERIAL E METODOS

O estudo foi realizado na Embrapa Suínos e Aves, no qual foram utilizadas 16 leitões com 90 dias de idade oriundas de uma empresa comercial, sendo 8 normais e 8 afetadas com hérnia umbilical. Amostras teciduais do anel umbilical foram colhidas e congeladas em nitrogênio líquido. Posteriormente, as amostras foram submetidas à extração de RNA total utilizando o reagente Trizol, seguido de purificação em coluna de sílica (Qiagen), conforme recomendações dos fabricantes. A concentração do RNA foi obtida através do equipamento de espectrofotômetro (BioDrop) e em gel de Agarose (1%) para avaliação da integridade. A síntese de cDNA foi realizada com o kit SuperScript® III First-Strand Synthesis SuperMix. Posteriormente, as amostras foram submetidas à quantificação relativa utilizando a técnica de PCR quantitativa (qPCR), realizada com o equipamento QuantStudio 6 Flex (Applied Biosystems), com reações contendo: 7,5 µL de Master Mix (GoTaq® qPCR Master Mix 2x, Promega), 1 µL de cada *primer F* e *R*, 2 µL de cDNA na diluição 1:10, e água ultrapura para completar 15 µL de reação total. Os *primers* utilizados foram desenhados através do programa *Primer-blast* do NCBI: *EPYC* (*Primer F*: 5' CTGCTGTGACTGCCCAA 3' e *Primer R*: 5' TCGATCTCAGCTGGACCCAT 3') e *MAP1LC3C* (*Primer F*: 5' TGGAAACAGCTGGAGGAATGAG 3' e *Primer R*: 5' CCTCTCTTCTGGTTGTTGCTAAGCTC 3'). As reações de qPCR foram feitas em duplicatas e os valores de Ct (*cycle threshold*) foram obtidos. Como normalizadores foram utilizados os genes *RPL32* e *H3F3A*. A análise da expressão diferencial foi realizada utilizando-se a estatística *Mann-Whitney* no programa GraphPad (Prism8), considerando o nível de significância $p < 0,05$ significativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genes *MAP1LC3C* e *EPYC* apresentaram amplificação nas amostras teciduais do anel umbilical, iniciando no ciclo 25 e 26, respectivamente. O gene *MAP1LC3C* foi 10,12 vezes mais expresso em animais afetados em relação aos normais ($p < 0,05$). Já, o gene *EPYC* não foi diferencialmente expresso entre os grupos de animais avaliados aos 90 dias de idade (Figura 1). A alta expressão do gene *MAP1LC3C* nessa população de suínos pode estar relacionada com o desenvolvimento da HU, pois ele é um dos responsáveis por desencadear a autofagia celular, funcionando como um mecanismo para eliminar proteínas defeituosas ou organelas danificadas (11). Diversos estímulos podem desencadear ou alterar o processo da autofagia, como diminuição dos níveis normais dos nutrientes e de fatores de crescimento, já que estes fatores modulam o desenvolvimento normal dos tecidos (12). Situações de estresse celular originam uma acumulação de proteínas incorretamente enroladas ou desenroladas

no lúmen do retículo endoplasmático, o que desencadeia o processo de autofagia celular (13). Portanto, a alta expressão do *MAP1LC3C* pode ocasionar a autofagia excessiva, pelo estresse do retículo endoplasmático. Vale ressaltar que o aumento da autofagia está diretamente relacionado à diminuição de apoptose celular, processo determinante na herniação, podendo ser um possível causador da HU em suínos. Já o gene *EPYC* não foi diferencialmente expresso no estudo realizado, porém é um gene de extrema importância que está relacionado com a regulação da fibrilogênese em humanos, interagindo com fibras de colágeno, que garantem resistência ao tecido. Estudos adicionais com este gene são necessários em suínos em diferentes condições experimentais para verificar sua relação com a HU.

CONCLUSÕES

O gene *MAP1LC3C* foi 10,12 vezes mais expresso nos animais afetados com hérnia umbilical do que nos normais aos 90 dias de idade, evidenciando que este gene é um forte gene candidato causador da HU.

REFERÊNCIAS

1. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service. Abril, 2019. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf> Acesso em: 20 de julho de 2019.
2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual da Associação Brasileira de Proteína Animal**. ABPA, 2018. Disponível em: <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2018.pdf>> Acesso em: 20 de julho de 2019.
3. EMBRAPA, **Sonho Desafio e Tecnologia: 35 anos de contribuições da Embrapa Suínos e Aves**. Ed. 1. Memória Embrapa. Concórdia, Santa Catarina. p. 470. 2011. Disponível em <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/909722/1/publicacao1z33f2s.pdf>> Acesso em: 20 de julho de 2019.
4. A MILLER, P.; MEZWA D. G.; FECZKO P. J.; JAFRI, Z. H.; MADRAZO, B. L. Imaging of abdominal hernias. **Radiographics**, Royal Oak, Usa, v. 15, n. 2, p.333-347, mar. 1995.
5. MATTSSON, P. Prevalence of congenital defects in Swedish Hampshire, Landrace and Yorkshire pig breeds and opinions on their prevalence in Swedish commercial herds. M.Sc. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences. 2011.
6. PETERSEN, H. H.; NIELSON, E. O.; HASSING, A. G.; ERSBØLL, A. K.; NIELSEN, J. P. Prevalence of clinical signs of disease in Danish finisher pigs. **Veterinary Record**, v. 162, n. 12, p.377-382, 22 mar. 2008.
7. SEARCY-BERNAL, R.; GARDNER I. A.; HIRD D. W. Effects of and factors associated with 469 umbilical hernias in a swine herd. **Department of Medicine and Epidemiology**, 1994.
8. National Center For Biotechnology Information (NCBI), gene *MAP1LC3C*. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=map1lc3c+sus+scrofa>> Acesso em: 24 de julho de 2019.
9. HE, H.; DANG, Y.; DAI F.; GUO, Z.; WU, J.; SHE, X.; PEI, Y.; CHEN, Y.; LING, W.; WU, C.; ZHAO, S.; LIU, J. O.; YU, L. Post-translational Modifications of Three Members of the Human MAP1LC3 Family and Detection of a Novel Type of Modification for MAP1LC3B. **Journal of Biological Chemistry**, Shanghai, China, v. 278, n. 31, p.29278-29287, 11 maio 2003.
10. National Center For Biotechnology Information (NCBI), gene *EPYC*. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=EPYC+sus+scrofa>> Acesso em: 24 de julho de 2019.
11. YANG, Z.; KLIONSKY, D. J. Eaten alive: a history of macroautophagy. **Nature Cell Biology**, London, v. 12, n. 9, p. 814-822, 2010.
12. VAN LIMBERGEN, J.; STEVENS, C.; NIMMO, E. R.; WILSON, D. C.; SATSANGI, J. Autophagy: from basic science to clinical application. **Mucosal immunology**, 2(4), pp.315–30. 2009.
13. OGATA, M.; HINO, S.; SAITO, A.; MORIKAWA K.; KONDO S.; KANEMOTO S.; MURAKAMI T.; TANIGUCHI, M.; TANII, I.; YOSHINAGA, K.; SHIOSAKA, S.; HAMMARBACK, J. A.; URANO F.; IMAIZUMI, K. Autophagy Is Activated for Cell Survival after Endoplasmic Reticulum Stress. **Molecular and Cellular Biology**, Ikoma, Japão, v. 26, n. 24, p.9220-9231, 9 out. 2006.

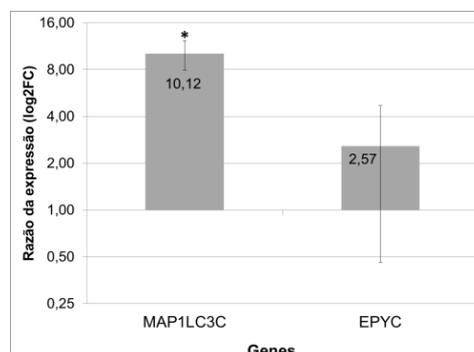


Figura 1. Expressão relativa dos genes *MAP1LC3C* e *EPYC* no anel umbilical entre suínos normais e afetados com hérnia umbilical aos 90 dias de idade. * $p < 0,05$