13Jinc

Jornada de Iniciação Científica

Anais da 13ª Jornada de Iniciação Científica (JINC)

UnC Universidade do Contestado

Embrapa

Fundação Universidade do Contestado

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

Anais da 13ª 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 Sopelsa, 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 Schmidtt*
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 DO GENE *MMP13* EM SUÍNOS NORMAIS E AFETADOS COM HÉRNIA UMBILICAL

Marina Eduarda Auler[1], Mayla Regina Souza[2], Débora Ester Petry Marcelino[3], Adriana Mércia Guaratini Ibelli[4,5], Jane de Oliveira Peixoto[6] e Mônica Corrêa Ledur[2,6]

[1]Graduanda em Farmácia, Universidade do Contestado-UnC, Campus Concórdia, Bolsista CNPq/PIBIC na Embrapa Suínos e Aves, marina.auler89@gmail.com

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

[3]Graduanda em Agronomia, Faculdade Concórdia, Bolsista CNPq/PIBIC na Embrapa Suínos e Aves

[4]Analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

[5]Professora na Universidade do Contestado, Campus Concórdia, SC

[6]Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

Palavras-chave: Expressão gênica, qPCR, metalopeptidase.

INTRODUÇÃO

No decorrer das últimas décadas, a suinocultura evoluiu de forma notável destacando-se no cenário mundial da produção de carnes. Isto se deveu aos incrementos tecnológicos nas áreas de reprodução, patologia, epidemiologia, terapêutica, nutrição e principalmente em genética com o desenvolvimento dos programas de melhoramento genético aplicados aos suínos (1). Com esses incrementos, a produção de suínos aumentou e também resultou em suínos com um maior ganho de peso e maior desenvolvimento de carcaça. Porém, também houve aumento na incidência de problemas ligados à produção como, por exemplo, a maior incidência de hérnias e criptorquidismo. A alta incidência de hérnia umbilical (HU) gera perdas produtivas e econômicas significativas para o setor da suinocultura. A HU é caracterizada pela protrusão de parte do intestino através do anel umbilical, ocasionando aumento de volume na área ventral do abdômen, estando relacionada com o enfraquecimento dos músculos em torno do umbigo. Esta é uma condição multifatorial e seu desenvolvimento pode estar associado a infecções bacterianas, manejo e fatores genéticos (2). Problemas no tecido conectivo e expressão de colágeno influenciam para que a abertura do anel umbilical não feche corretamente, de modo que os intestinos projetam-se para a parede abdominal (2). Em muitas espécies, o gene *metalopeptidase de matriz 13 (MMP13)* está associado à degradação da matriz extracelular em processos fisiológicos normais, como desenvolvimento embrionário, reprodução e remodelação tecidual. Este gene codifica uma proteína responsável pela clivagem do colágeno tipo II mais eficientemente do que a clivagem dos tipos I e III (3). Contudo, não há relatos sobre a atuação deste gene no desenvolvimento de hérnia umbilical em suínos. Portanto, no presente estudo buscou-se avaliar a expressão do gene *MMP13* em suínos normais e afetados pela hérnia umbilical.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo, foram utilizadas 16 fêmeas suínas com 90 dias de idade provenientes de uma empresa comercial, das quais 8 eram normais e 8 afetadas pela hérnia umbilical. Foram coletadas amostras teciduais do anel umbilical, que em seguida foram congeladas em freezer -80°C para manter a integridade do material genético. O RNA total foi extraído utilizando-se o reagente Trizol em coluna de sílica (Qiagen), seguindo as recomendações dos fabricantes. A concentração foi obtida pelo equipamento de espectrofotômetro (BioDrop) e em gel de Agarose 1% para avaliar a integridade do RNA. Posteriormente, foi realizada a síntese de cDNA utilizando-se o kit SuperScript® III First- Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen). Para a quantificação relativa da expressão do gene *MMP13* foi utilizada a técnica de PCR quantitativa (qPCR) no equipamento QuantStudio 6 Flex (Applied Biosystems). O gene *MMP13* foi escolhido por ter sido diferencialmente expresso entre animais normais e afetados por HU em uma análise prévia de RNA-Seq conduzida por nossa equipe. *Os* iniciadores para o gene *MMP13* foram desenhados na junção exon-exon no programa Primer-BLAST do NCBI: *Primer F: 5´-AAGAGCATGGAGACTTCTACCC-3´* e *Primer R: 5´-GGAGGAAAAGCATGAGCCAA-3´*. Como normalizadores foram utilizados os genes constitutivos *RPL32 e H3F3A.* Para as reações de qPCR foram utilizados: 7,5 µL de Master Mix (GoTaq® qPCR Master Mix 2x, Promega), 1 µL de cada *primer (*2µM), 2 µL de cDNA e água ultrapura para completar 15 µL da reação. Após isso, os valores de Ct (*cycle threshold*) gerados pelo equipamento foram coletados e então foi feita a análise de dados pelo programa GraphPad (Prism8) utilizando-se a análise estatística *Mann-Whitney*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gene *MMP13* apresentou amplificação no tecido do anel umbilical, iniciando no ciclo 20,77 da qPCR e foi 1,7 vezes (~0,58 $\log_2$FC) menos expresso no grupo afetado quando comparado ao grupo normal (p=0,57) (Figura 1), não sendo diferencialmente expresso entre os dois grupos estudados. Apesar da expressão deste gene não diferir entre animais normais e afetados aos 90 dias de idade, existe a necessidade de se aprofundar nos estudos do gene *MMP13* em idades mais precoces, pois o mesmo está relacionado a quebra da matriz extracelular em processos fisiológicos normais, atuando na cicatrização de feridas, na remodelação óssea e no desenvolvimento do esqueleto (4,5). Em roedores, o gene *MMP13* tem um papel fundamental na formação de fibras de colágeno. Além do remodelamento do colágeno, a deficiência de *MMP13* na fibrose tem apresentado fenótipos contraditórios nas respostas inflamatórias e fibróticas após a lesão pulmonar dos roedores (6). Em humanos, o gene *MMP13* também exerce função na ligação ao íon cálcio, ligação às proteínas dependentes do cálcio e ligação ao colágeno (4,5). Dessa forma, estudos que envolvam a análise funcional do gene *MMP13* em suínos com idades mais jovens

são necessários para o melhor entendimento da atuação deste gene sobre o desenvolvimento da hérnia umbilical em suínos.

CONCLUSÕES

O gene *MMP13* não foi diferencialmente expresso entre fêmeas suínas normais e afetadas pela hérnia umbilical avaliadas aos 90 dias de idade, não sendo possível verificar o envolvimento deste gene com essa anomalia em leitoas nesta idade.

REFERÊNCIAS

1. Ferreira, A.H. **Produção de suínos: teoria e prática.** Brasilia: Ed. Gráfica Qualitá, 2014. 908 p.
2. Straw, B.; Bates, R.; May, G. Anatomical abnormalities in a group of finishing pigs: prevalence and pig performance. **Journal of Swine Health and Production,** 17:28-31. 2009.
3. MMP13. Disponível em: **https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4322#gene-expression** Data de acesso: 18/07/2019 às 10h15min.
4. Ma, J; Zhou, D; *et al.* Os ceratócitos criam espaços estromais para promover a neovascularização da córnea através da expressão da MMP13. **OFTALMOLOGIA INVESTIGATIVA E CIÊNCIAS VISUAIS 55,** 2014.
5. Jackson, MT; Moradi, B; *et al.* Ativação de Metaloproteinases de Matriz 2, 9 e 13 pela Proteína C Ativada em Condrócitos de Cartilagem Osteoartrítica Humana. **Artrite e Reumatologia 66,** 1525-1536. 2014.
6. Cabrera, S. *et al*. Delayed resolution of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in absence of MMP13 (collagenase 3). **American Journal of Physiology-lung Cellular and Molecular Physiology**, [s.l.], v. 316, n. 5, p.961-976, maio 2019.

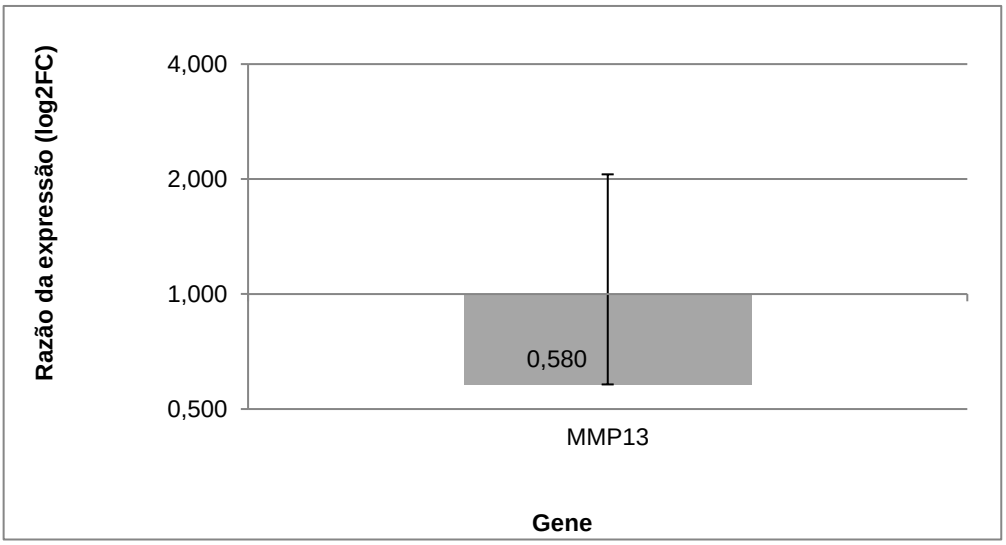

Figura 1. Razão de expressão do gene *MMP13* no tecido do anel umbilical entre leitoas normais e afetadas com hérnia umbilical, normalizada pelos genes referências *RPL32 e H3F3A* (p>0,05).