

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

PERFIL DE METILAÇÃO DIFERENCIAL NO CROMOSSOMO 6 DE SUÍNOS NORMAIS E AFETADOS COM OSTEOCONDROSE LATENS

Mariane S. Dal Pizzol¹, Adriana M. G. Ibelli^{2,3}, Nelson Morés⁴, Marcos Antonio Zanella Morés², Jane de Oliveira Peixoto⁴, Igor Ricardo Savoldi⁵, Fábio Pertille⁶, Pilar Drummond Sampaio Corrêa Mariani⁶, Luiz Lehman Coutinho⁶ e Mônica Corrêa Ledur^{4,5}

¹Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade do Contestado, Campus Concórdia, SC, Mari_spudeit@hotmail.com

²Analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

³Professora da Universidade do Contestado, Campus Concórdia, SC

⁴Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves

⁵Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, UDESC Oeste, Chapecó, SC

⁶Universidade de São Paulo, ESALQ, Piracicaba, SP, Brasil

Palavras-chave: epigenética, problemas locomotores, sequenciamento genético.

INTRODUÇÃO

A osteocondrose (OC) é uma condição que acomete a cartilagem em diversas espécies de animais, sendo considerada uma das principais causas de claudicação em suínos, afetando até 80% dos animais reprodutores e de produção, causando perdas econômicas e reduzindo o bem-estar animal (1). Esta condição é considerada uma enfermidade não inflamatória que afeta animais em fase de crescimento, caracterizada por uma alteração na diferenciação celular da cartilagem em desenvolvimento, causando falhas no processo de ossificação endocondral (2). A etiologia da osteocondrose não é totalmente conhecida, mas um componente genético já foi associado a esta condição (3). Dependendo da severidade da lesão, a osteocondrose pode ser classificada em três tipos: 1) *latens*, a forma subclínica, inicial, observada apenas microscopicamente; 2) *manifesta*, caracterizada pela presença de uma falha focal da cartilagem da ossificação endocondral visível macroscopicamente e por exames radiográficos e 3) *dissecans*, quando há a formação de fissura na cartilagem necrótica e com possível desprendimento de fragmentos de cartilagem, com subsequente inflamação, aumento do líquido sinovial e osteoartrite (4). Além da genética, têm se observado que mecanismos de regulação epigenética, como a metilação de DNA, estão associados ao desenvolvimento de problemas locomotores, como por exemplo, osteoporose, osteoartrite e até mesmo OC em diversas espécies (5). No entanto, pouco se sabe sobre o envolvimento destes mecanismos com OC em suínos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi identificar regiões genômicas metiladas no cromossomo 6 de suínos envolvidas em estágios iniciais de OC.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de cartilagem articular distal do fêmur de 3 porcas normais e 3 afetadas com OC *latens*, com aproximadamente 150 dias de idade, provenientes da Embrapa Suínos e Aves, que foram coletadas e submetidas à extração do DNA. Posteriormente, as bibliotecas de DNA metilado foram preparadas utilizando a técnica de MEDIP (DNA metilado imunoprecipitado) e, em seguida, sequenciadas em equipamento HiSeq 2500 (2x100pb). As sequências foram submetidas ao controle de qualidade no programa Trimmomatic 0.38 (6) e mapeadas no software BWA-MEM (7) contra o genoma do suíno (susScr11) disponível na base de dados do UCSC Genome Browser. A metilação diferencial foi obtida utilizando-se o pacote MedipsR (6) e a anotação funcional foi realizada com as ferramentas DAVID 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>) e Biomart do Ensembl versão 95.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sequências obtidas foram mapeadas em 98,6% no genoma do suíno, com média de 30,5 milhões de sequências por amostra. Um total de 120 janelas de 100 bp foram diferencialmente metiladas no cromossomo 6 entre as fêmeas normais e afetadas com OC. Estas foram agrupadas em 48 regiões diferencialmente metiladas (DMRs). Considerando a anotação funcional, nestas DMRs foram localizados 10 genes e 8 regiões intergênicas. Destes genes, cinco foram hipermetilados no grupo afetado (*ZFH3*, *LILRA6*, *LILRB3*, *DNAJC6* e *FGGY*) e cinco foram hipermetilados no grupo controle (*CLPTM1*, *SLC7A3*, *MAN1C1*, *LDLRAD4* e *NOLP*). A maioria destes genes ainda não foi relacionada com osteocondrose. Alguns destes, como o *ZFH3*, já haviam sido associados a doenças ósseas em diversas espécies (8), de forma que podem estar envolvidos na manifestação da osteocondrose em estágios iniciais. Outro gene interessante é o *DNAJC6*, um gene da família de proteínas DNAJ/HSP40, que foi hipermetilado no grupo afetado em relação ao controle. Estudos prévios indicam que este gene foi associado com osteonecrose na cabeça do fêmur de humanos (9). O *DNAJC6* também se apresentou altamente expresso em células tronco mesenquimais provenientes da regeneração da osteonecrose da cabeça do fêmur (10), sendo, assim, um importante gene candidato funcional para o desenvolvimento da OC. Além disso, considerando a anotação funcional, foi verificado que os genes identificados participam de diversos processos biológicos, tais como regulação da matriz extracelular e ossificação, mecanismos chave no processo de ossificação endocondral. Ademais, este é o primeiro trabalho em suínos que objetivou verificar a presença de mecanismos epigenéticos utilizando sequenciamento de DNA metilado entre animais normais e afetados com níveis iniciais de OC, o que possibilitou uma melhor caracterização da função dos genes encontrados e sua relação com esta condição.

CONCLUSÕES

Novos genes envolvidos na manifestação da OC *latens* foram evidenciados no cromossomo 6 de suínos com diferentes padrões de metilação entre animais normais e afetados, contribuindo para o melhor entendimento desta condição em suínos e outros mamíferos.

REFERÊNCIAS

1. NAKANO, T.; BRENNAN, J.J.; AHERNE, F.X. Leg weakness and osteochondrosis in swine: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, 67, 883 – 901, 1987.
2. ALBERTON, G.,C. Osteocondrose – Principal causa de artrite em suínos de abatedouro no Brasil. **Arq. ciê. vet. Zool.** UNIPAR , 3(1), 2000.
3. MENDOZA, L; PIQUEMAL, D; LEJEUNE, J. P; VANDER HEYDEN, L; NOGUIER, F; BRUNO, R; SANDERSEN, C; SERTEYN, D. Expressão dependente de idade de genes relacionados à osteocondrose em leucócitos equinos. **Vet Rec Open**. 2015;2: e000058.
4. ZIMMERMAN, J.; KARRIKER, L.; RAMIREZ, A.; SCHWARTZ, K.; STEVENSON, G. **Disease of Swine**. Wiley-Blackwell, 1008 p., 2012.
5. BATES JT, JACOBS JC JR, SHEA KG, OXFORD JT. Emerging genetic basis of osteochondritis dissecans. **Clin Sports Med**. 33(2):199-220, 2014. BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. **Bioinformatics**, btu170, 2014.
6. Li, H.; Durbin, R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. **Bioinformatics**, 25:1754-60, 2009.
7. LIENHARD M, GRIMM C, MORKEL M, HERWIG R AND CHAVEZ. MEDIPS: genome-wide differential coverage analysis of sequencing data derived from DNA enrichment experiments. **Bioinformatics**, 30, 284-286. 2014.
8. SUN, Y; MAUERHAN, D, R; STEUERWALD, N, M; INGRAM, J; KNEISL, J, S; HANLEY, E, N. Expression of phosphocitrate-targeted genes in osteoarthritis menisci. **BioMed Research International**, 210469, 2014.
9. BAEK, S., H; KIM, K; YOON, K; KIM, T; KIM, S. Genome-wide association scans for idiopathic osteonecrosis of the femoral head in a Korean population. **Molecular Medicine Reports**, 15: 750-758, 2017.
10. WYLES, C. C; HOUDEK, M. T; CRESPO-DIAZ, R. J; NORAMBUENA, G. A; STALBOERGER, P. G; TERZIC, A; BEHFAR, A; SIERRA, R. J. Adipose-derived mesenchymal stem cells are phenotypically superior for regeneration in the setting of osteonecrosis of the femoral head. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 473, n. 10, p. 3080-3090, 2015.