

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

IDENTIFICAÇÃO DE SNPs NOS GENES *MYH2* E *CLIC4* ASSOCIADOS À HÉRNIA UMBILICAL EM SUÍNOS

Angélica Frigo¹, Igor Ricardo Savoldi², Adriana Mércia Guaratini Ibelli^{3,4},
Jane de Oliveira Peixoto⁵, Maurício Egídio Cantão⁵ e Mônica Corrêa Ledur^{2,5}

¹Graduanda em Zootecnia pela Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC-Oeste, Chapecó, angelica_frigo@hotmail.com

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

³Analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

⁴Professora na Universidade do Contestado, Concórdia, SC

⁵Pesquisador (a) da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC

Palavras-chave: exoma, gene candidato, polimorfismos, *Sus scrofa*.

INTRODUÇÃO

A hérnia umbilical (HU) em suínos consiste em um defeito congênito multifatorial (1), que se caracteriza por uma protrusão anormal do intestino através do anel umbilical, formando um volume na região ventral do abdômen, conhecido como saco herniário (2). Possivelmente, esta anomalia é causada pela falha no fechamento do anel umbilical devido ao enfraquecimento no tecido de sustentação presente nessa região (3). Embora sua causa não esteja bem definida, acredita-se que diversos fatores, sejam eles ambientais ou genéticos, estejam relacionados a sua ocorrência (4). A hérnia umbilical frequentemente aparece em suínos com idade entre 9 e 14 semanas (5), entretanto, sua prevalência pode variar entre raças, podendo chegar a 6,6% em alguns rebanhos (6). A presença de animais herniados acarreta perdas econômicas e produtivas significativas ao setor suinícola, além de representar um problema de bem-estar animal (3). Dessa forma, a identificação de regiões genômicas, genes e marcadores envolvidos no aparecimento deste tipo de hérnia é de extrema importância para o melhoramento genético, a fim de reduzir a incidência dessa anomalia na produção de suínos (3), visto a importância que esse setor possui na economia do país e principalmente para o estado de Santa Catarina. Alguns trabalhos já identificaram genes relacionados ao músculo e a canais de cloreto com o aparecimento de hérnias (7;8). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi identificar polimorfismos nos genes Cadeia Pesada de Miosina 2 (*MYH2*) e Canal Intracelular de Cloreto 4 (*CLIC4*), que possam estar associados ao desenvolvimento de hérnia umbilical em suínos, a partir do sequenciamento do exoma, técnica que sequencia somente a parte do genoma que é transcrita, conhecida como exons, e que contém cerca de 85% das variantes relacionadas às doenças (9).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 10 leitões com 90 dias de idade, sendo cinco normais e cinco afetadas pela hérnia umbilical. Em seguida, foi realizada a coleta do tecido auricular para posterior extração do DNA através do kit comercial Purelink Genomic DNA mini Kit (Invitrogen), seguindo as recomendações do fabricante. Com o DNA extraído, as bibliotecas do exoma foram preparadas com o kit SeqCap EZ Library SR v. 1.0 kit (NimbleGen/Roche). Em seguida, o sequenciamento foi realizado no equipamento Illumina HiSeq 2500. As sequências geradas passaram por um controle de qualidade usando a ferramenta Trimmomatic e posteriormente foram mapeadas contra o genoma de referência suíno (*Sscrofa11.1*) utilizando o software BWA-MEM. Em seguida, os polimorfismos nos genes estudados foram identificados através do Genome Analysis Toolkit (GATK) e após, determinou-se o efeito das variantes através do VEP (*Variant Effect Predictor*) utilizando o Ensembl versão 96.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 73 polimorfismos no gene *MYH2* e 7 no gene *CLIC4*, sendo que três deles foram diferentes entre os animais normais e afetados com hérnia umbilical. Destes, dois SNPs (*single nucleotide polymorphism*), um localizado em região intrônica e outro em éxon (SNP não sinônimo) no gene *MYH2* foram descritos pela primeira vez neste trabalho. Além disso, no gene *CLIC4* foi encontrado um SNP (rs321503722) localizado na região 5' UTR que já havia sido descrito no genoma do suíno. Desta forma, como esses polimorfismos estão localizados em regiões gênicas e região regulatória, esses SNPs podem afetar diretamente a função do gene que, consequentemente, podem causar a hérnia umbilical. O gene *MYH2* codifica a proteína miosina 2, cuja principal função é a contração muscular (10). A expressão e síntese da miosina está relacionada a alterações na estrutura muscular durante o desenvolvimento do animal (11) e a baixa expressão do gene *MYH2* pode ser um fator determinante para ocorrência de hérnia em suínos (12), pois uma menor quantidade desta proteína tende a reduzir o potencial de sustentação do tecido na região umbilical, que acaba cedendo à pressão intra-abdominal (7). Já, o gene *CLIC4* atua em diversos processos celulares cruciais, entre eles a diferenciação celular (13). Além disso, o *CLIC4* pode ser diferencialmente regulado em fibroblastos que são células presentes nos tecidos conjuntivos cuja função está relacionada a síntese, degradação e remodelação da matriz extracelular, seja em condições normais ou anormais (doença) (13). A expressão deste gene também contribui para a formação de miofibroblastos que surgem temporariamente no tecido para atuar na cicatrização, bem como na produção de colágeno e elastina. Entretanto, em situações crônicas, este tipo celular pode ser encontrado em abundância no tecido, tornando-se células fixas (ou estacionárias) (13). Sabe-se que alterações patológicas no metabolismo do colágeno são as principais causas no desenvolvimento da hérnia (14). O gene *CLIC4* apresenta relação com os tecidos conectivos como o colágeno, sendo um forte candidato a desencadear essa anomalia.

CONCLUSÕES

Os três polimorfismos encontrados nos genes *MYH2* e *CLIC4* entre animais normais e afetados com hérnia umbilical podem causar alterações nas respectivas proteínas. Assim, estes genes tornam-se fortes candidatos a desencadear essa anomalia. A partir do melhor entendimento do efeito desses SNPs será possível elaborar estratégias para uso destes marcadores para redução de hérnia umbilical em suínos.

REFERÊNCIAS

1. LION, X. J.; LI, L.; ZHANG, Z. Y.; LONG, B.; YANG, B.; RUAN, G.R.; SU, Y.; AI, H. S.; ZHANG, W. C.; DENG, W.Y.; XIAO, S. J.; REN, N. S.; DING, N.S.; HUANG, L.S. Susceptibility loci for umbilical hernia in swine detected by genome-wide association. **Russian Journal of Genetics**, v. 51, n. 10, p.1000-1006, out. 2015.
2. POMMEREHN, L.; TAKEUTI, K.L.; NEIS, L. Z.; BARCELLOS, D. E. S. N. Hérnias: patogenia e causas em leitões. **A Hora Veterinária** – Ano 34, nº 200, ago. 2014.
3. GRINDFLEK, E.; HANSEN, M. H. S.; LIEN, S.; VAN SON, M. Genome-wide association study reveals a QTL and strong candidate genes for umbilical hernia in pigs on SSC14. **BMC Genomics**. v.19, n.1, p.1-9, maio 2018.
4. LONG, Y.; SU, Y.; AI, H.; ZHANG, Z.; YANG, B.; RUAN, G.; XIAO, S.; LIAO, X.; REN, J.; HUANG, L.; DING, N. A genome-wide association study of copy number variations with umbilical hernia in swine. **Animal Genetics**, v. 47, n. 3, p.298-305, mar. 2016.
5. RUTTEN-RAMOS, S. C.; DEEN, J. Association between umbilical hernias and genetic line in a swine multiplication herd and methods to differentiate the role of sire in the incidence of umbilical hernias in offspring. **J Swine Health Prod**, v.14, n. 6, p.317-322, fev. 2006.
6. PETERSEN, H.H.; NIELSEN, E. O.; HASSING, A. G.; ERSBOLL, A. K.; NIELSEN, J. P. PREVALENCE of clinical signs of disease in Danish finisher pigs. **Veterinary Record**, v. 162, n. 12, p.377-382, mar. 2008.
7. LORENZETTI, W. R. **Análise da expressão gênica em suínos normais e afetados com hérnia escrotal**. 2018. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó, 2018.
8. JORGENSON, E.; MAKKI, N.; SHEN, L.; CHEN, D. C.; TIAN, C.; ECKALBAR, W. L.; HINDS, D.; AHITUV, N.; AVINS, A. A genome-wide association study identifies four novel susceptibility loci underlying inguinal hernia. **Nature Communications**, v. 6, n. 1, p.1-9, 2015.
9. BOTSTEIN, D.; RISCH, N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. **Nat Genet Suppl**, v. 33, p. 228-37, 2003.
10. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI), gene MYH1. Disponível em:< <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4619>>. Acesso em:19 ago. 2019.
11. EIZEMA, K.; VAN DER WAL, D. E.; VAN DEN BURG, MAARTEN M.M.; DE JONGE, H. W.; EVERTS, M.E. Differential expression of calcineurin and SR Ca²⁺ handling proteins in equine muscle fibers during early postnatal growth. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 55, n. 3, p. 247-54, out. 2007.
12. ROMANO, G. de S.; LORENZETTI, W. R.; IBELLI, A. M. G.; PEIXOTO, J. de O.; MORES, M. A. Z.; SAVOLDI, I. R.; CARMO, K. B. do; LOPES, J. S.; PEDROSA, V. B.; CANTAO, M. E.; COUTINHO, L. L.; LEDUR, M. C. The involvement of muscle-related genes in the occurrence of scrotal hernia in pigs. **Embrapa Suínos e Aves**, p. 1-5, 2018.
13. RONNOV-JESSEN, L.; VILLADSEN, R.; EDWARDS, J. C.; PETERSEN, O.W. Differential Expression of a Chloride Intracellular Channel Gene, *CLIC4*, in Transforming Growth Factor-β1-Mediated Conversion of Fibroblasts to Myofibroblasts. **The American Journal of Pathology**, v. 161, n. 2, p.471-480, ago. 2002.
14. BENDAVID, R. The Unified Theory of hernia formation. **Hernia**, v. 8, n. 3, p.171-176, abr. 2004.