



Universidade Federal de Pelotas  
Faculdade de Veterinária  
Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária



# Defesa de estágio extracurricular e apresentação de artigo

**Apresentação:** Renata Leivas e Thais Casarin

# Estágio

## Extracurricular

Estagiária:

Thaís Casarin

**Orientador de estágio:**

Ricardo Ribeiro - Zootecnista

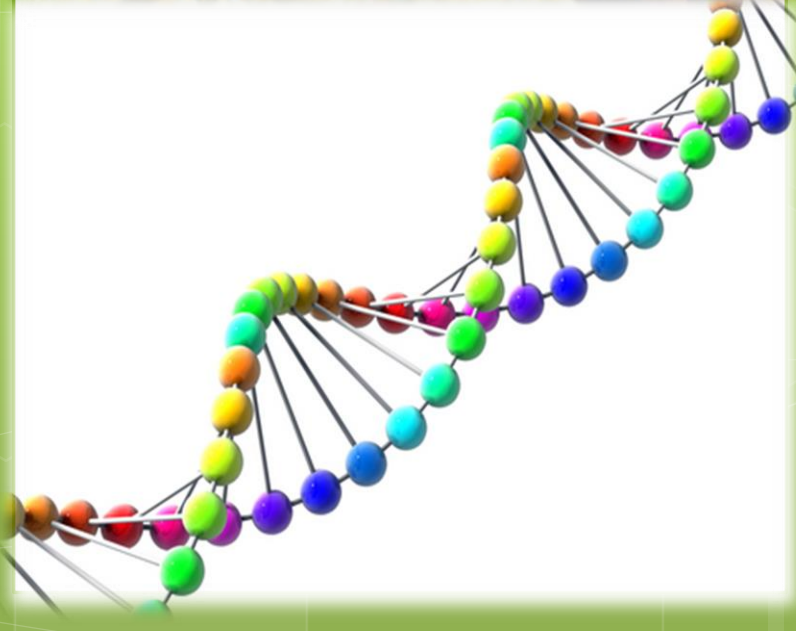
**Duração:** 3 semanas

**Grupo de Pesquisa:**

PEIXEGEN

**Local:**

Universidade Estadual de Maringá





## Estágio Extracurricular



**Projeto de Mestrado:** Pedro de Castro

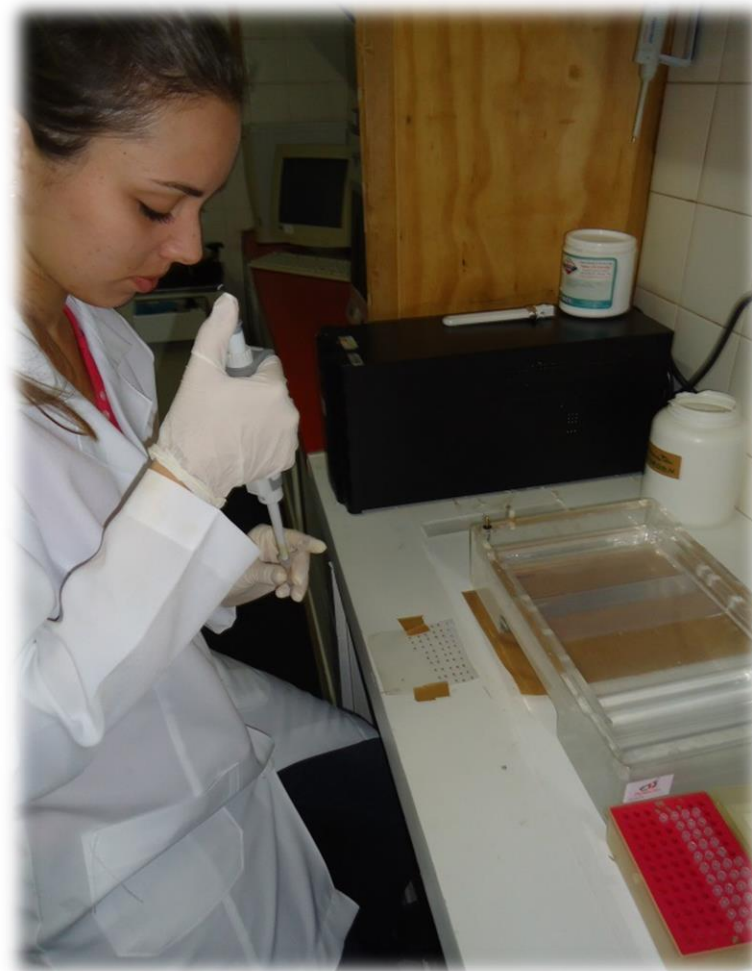
**Assunto:** Melhoramento Animal (Piracanjuba, *Brycon orbignyanus*)

**Objetivo:** Determinar a influência da proporção macho-fêmea em sistemas reprodutivos por contribuição genética de reprodutores de Piracanjuba (*Brycon orbignyanus*);

- ✓ Melhoramento Animal – variação genética
- ✓ Repovoamento, pode causar perda da variabilidade genética

## ***Atividades Realizadas:***

- **Extração de DNA;**
- Quantificação de DNA;
- Diluição de DNA;
- Eletroforese em gel de Agarose;
- Amplificação de DNA;
- Eletroforese em gel de Poliacrilamida;



The Pharmacogenomics Journal (2013), 1–9

© 2013 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 1470-269X/13



[www.nature.com/tpj](http://www.nature.com/tpj)

**Fator de Impacto: 5.134**

**ORIGINAL ARTICLE**

# Pharmacogenomics of insulin-like growth factor-I generation during GH treatment in children with GH deficiency or Turner syndrome

A Stevens<sup>1</sup>, P Clayton<sup>1</sup>, L Tatò<sup>2</sup>, HW Yoo<sup>3</sup>, MD Rodriguez-Arno<sup>4</sup>, J Skorodok<sup>5</sup>, GR Ambler<sup>6</sup>, M Zignani<sup>7,11</sup>, J Zieschang<sup>8</sup>, G Della Corte<sup>7,11</sup>, B Destenaves<sup>7,11</sup>, A Champigneulle<sup>7,11</sup>, J Raelson<sup>9,12</sup> and P Chatelain<sup>10</sup> and the PREDICT Investigator Group<sup>13</sup>

**Orientação:** Joao Alvarado Rincón e Rafael da Fonseca Prietsch

## Farmacogenômica



## Deficiência de GH (GHD)

## Introdução

### Nanismo



A atividade reprodutiva da vaca;



Produção de leite;

## Síndrome de Turner (TS)



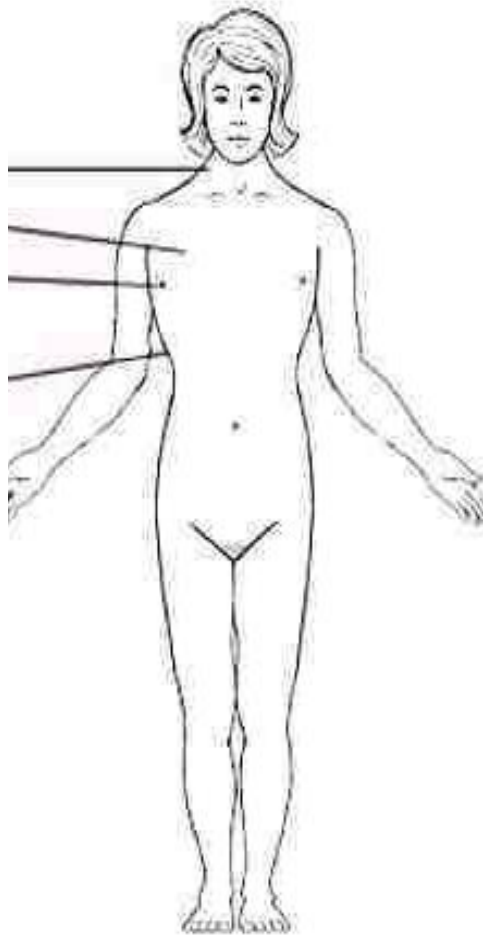


# Introdução

## Externos

Baixa estatura  
Pele extra no Pescoço  
Tórax largo  
Mamilos afastados  
Possível curvatura da  
coluna  
Braços que curvam  
ligeiramente para fora

Dedos curtos  
Mãos e pés pequenos



## Internos

Ovários  
subdesenvolvidos

Infertilidade

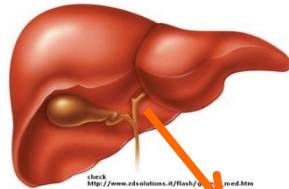
Ausência de  
menstruação

# Introdução

## GH X IGF-I

Hipófise

GH



IGF-I



bST

- ✓ Atua indiretamente na glândula mamaria
- ✓ ↑ síntese proteica
- ✓ ↑ lipólise
- ✓ ↓ uso de glicose e NEFA

GH

- ✓ Crescimento ósseo e muscular

# Introdução

rh-GH X rbST

DNA recombinante

Escherichia coli

Saizen®



Lactotropin®



500 mg por vaca a cada  
14 dias / após 9ª  
semana lactação



# Introdução

## CUSTO

➔ Saizen ® : R\$ 9,45/dose

➔ Lactotropin ® : R\$ 1,30/dose





# Trabalhos do NUPEEC

Diego Acosta

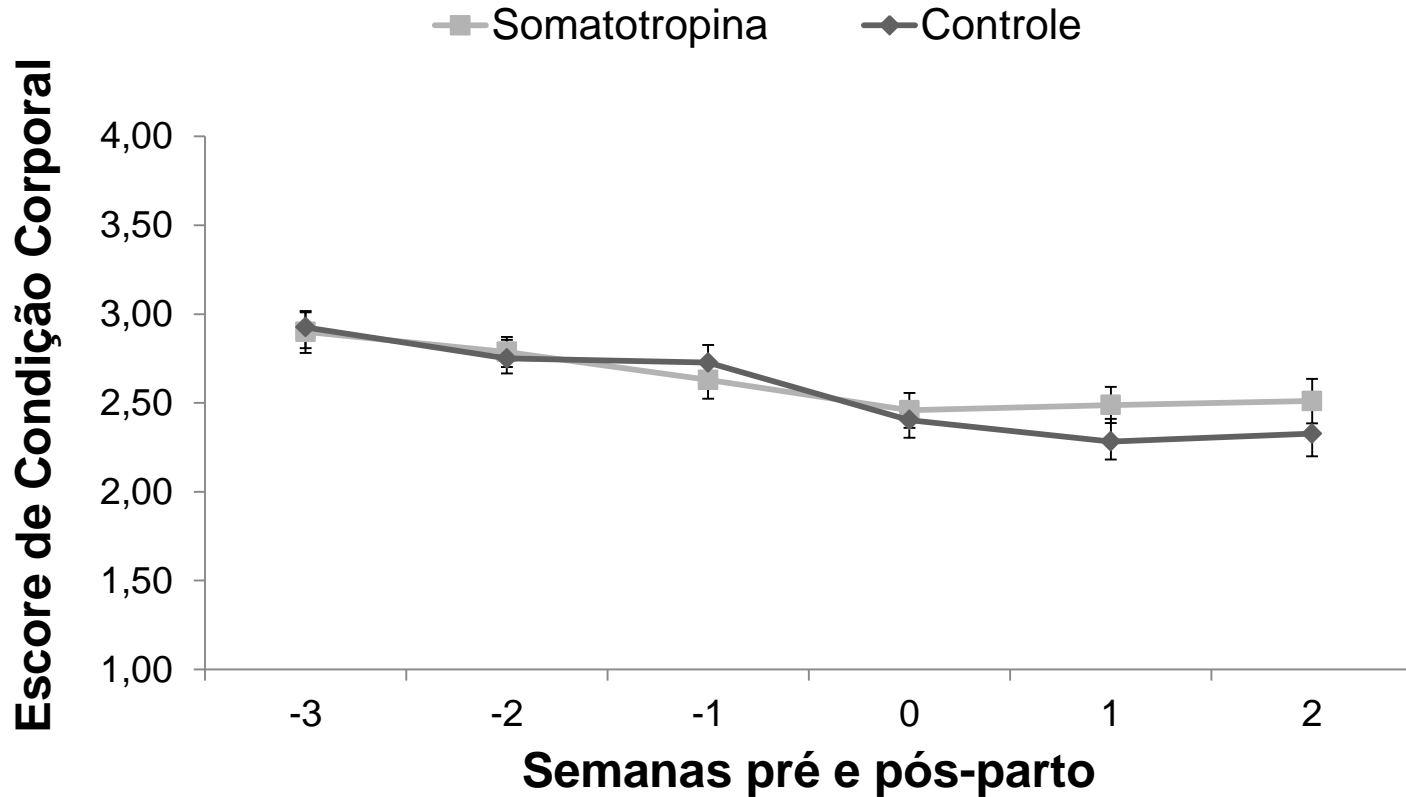
## **Efeito da utilização rbST no pré-parto de novilhas da raça Holandês sobre o ECC**

**Objetivo:** avaliar o efeito da rbST no pré-parto de novilhas da raça Holandês sobre escore de condição corporal.

**Resultados:** O ECC não foi influenciada pelo uso do rbST recombinante bovina durante o período de transição de novilhas.

# Trabalhos do NUPEEC

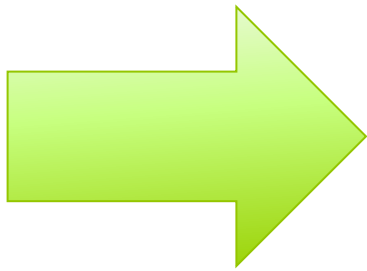
Diego Acosta



Demonstra a média de ECC em relação as 6 semanas de experimento.

$P > 0.21$

# Objetivo



Identificar marcadores genômicos, associados à produção do IGF-I em resposta a aplicação do rh-GH durante um mês, em crianças sem tratamento prévio com GHD e TS.

# Materiais e Métodos

## Estudo Prospectivo:

15 Países



Uma dose diária de rh-GH  
durante 1 mês



Dois Tratamentos



**GHD (n=67)**  
0.035mg/kg



**TS (n=73)**  
0.051mg/kg





# Materiais e Métodos

**Três etapas:**

- 1. Escolha dos genes candidatos** – por pesquisa bibliográfica, genes envolvidos no metabolismo e crescimento.



# **Materiais e Métodos**

**2. Avaliação dos genótipos e expressão genica-  
associação com a variação de IGF-I em um mês.**

## **Relação com os trabalhos do Nupeec**

- Joao Alvarado
- Pedro Silveira

# Trabalhos do NUPEEC

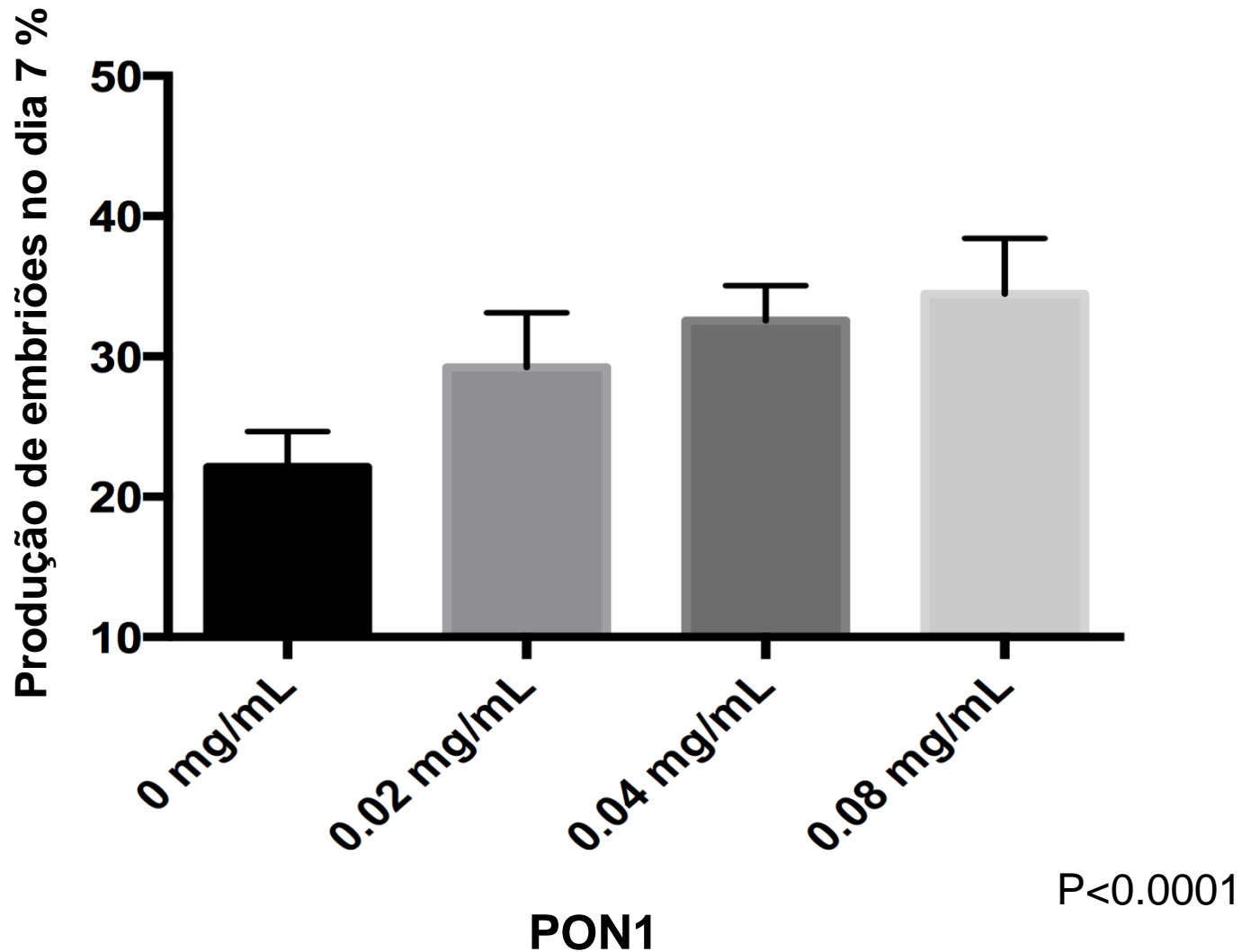


Joao Alvarado

**Efeito da paraoxonase 1 durante a maturação ovocitária sobre a expressão dos genes BCL2, BAX, INT-t no desenvolvimento de embriões bovinos em produção in vitro**

**Objetivo:** avaliar o efeito da adição de diferentes níveis de PON1 ao meio de maturação in vitro mediante taxas de clivagem, blastocistos em D2 e D7 do cultivo e a expressão dos genes respectivamente.

# Trabalhos do NUPEEC



# Trabalhos do NUPEEC



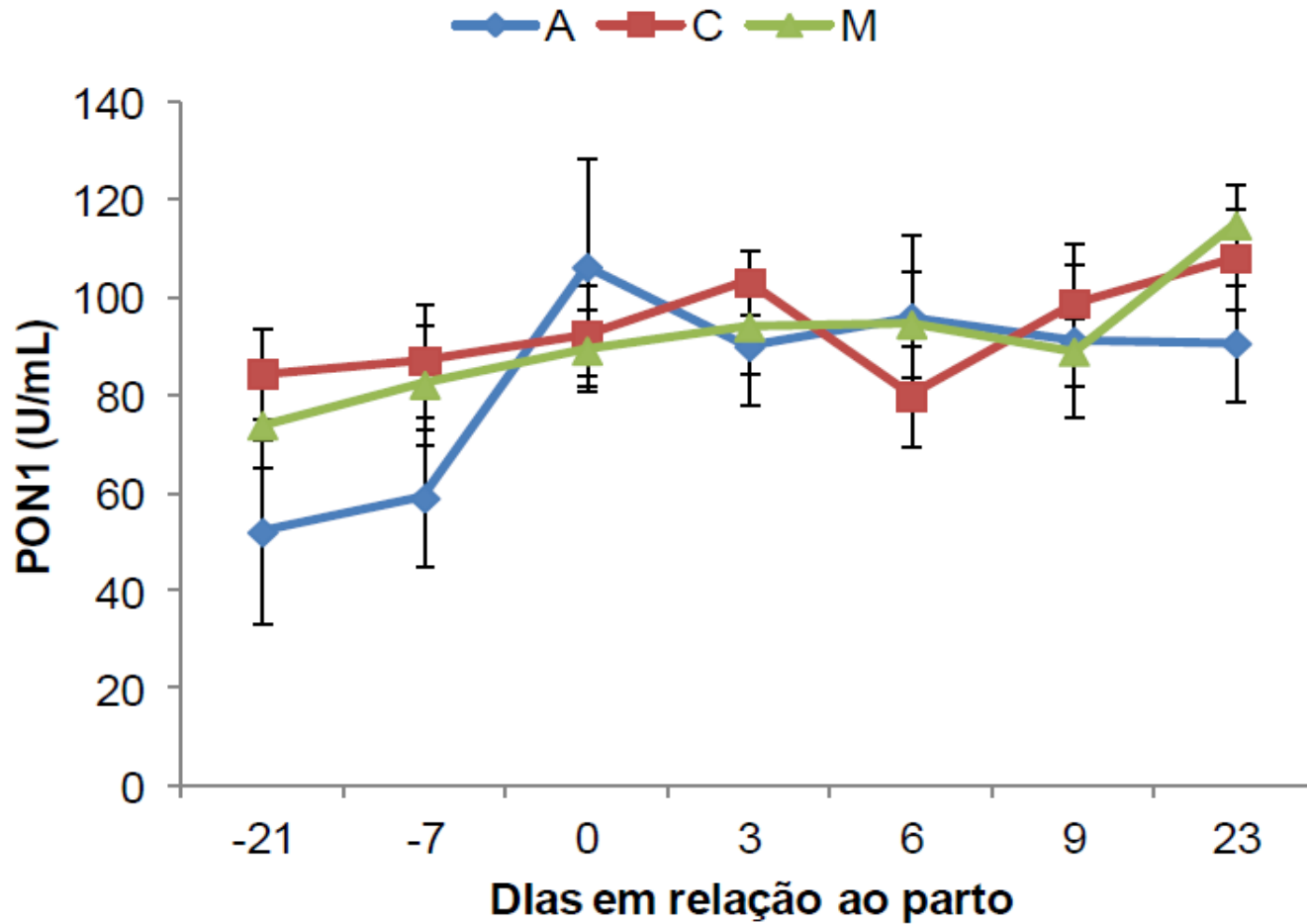
Pedro Silveira

## Efeito de polimorfismos no gene da PON1 sobre a sua atividade sérica

**Objetivo:** avaliar a relação de polimorfismos observados na região promotora do gene da PON1 sobre a atividade sérica desta proteína no periparto vacas leiteiras.

**Resultados:** Não houve diferença na atividade sérica da PON1 em relação aos alelos A, C ou M na posição -393 do gene PON1.

# Trabalhos do NUPEEC



Médias de atividade da PON1 entre grupos, nos dias avaliados (p>0.05)

## Materiais e Métodos

**3. Avaliação do potencial preditivo dos marcadores genéticos com IFG-I – identificação dos SNPs.**

O que é SNP



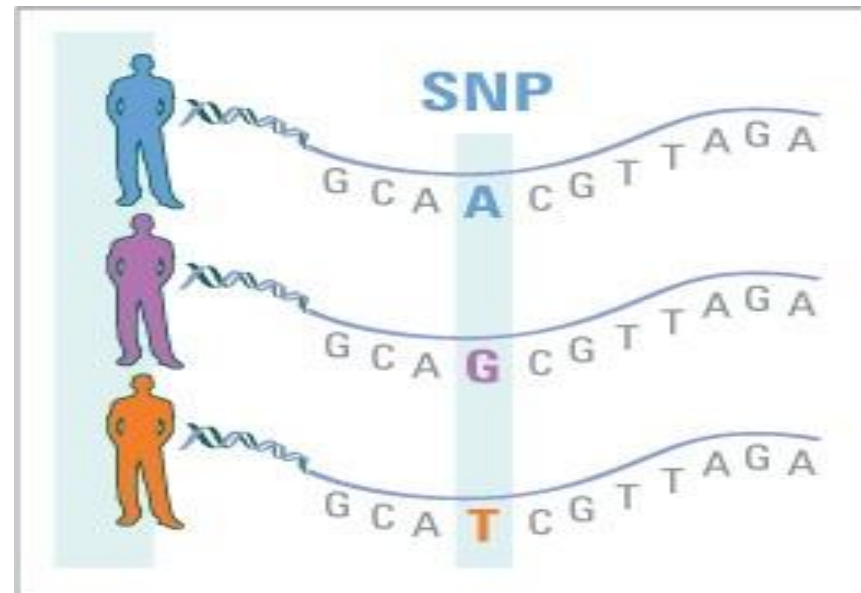
# Materiais e Métodos

SNPs



Polimorfismo de nucleotídeo único

- Tipo mais comum de variação gênica;
- Ocorre normalmente a cada 300 nucleotídeos;
- 3 bilhões de nucleotídeos = 10 milhões de SNPs





# **Materiais e Métodos**

## **3. Avaliação do potencial preditivo dos marcadores genéticos – identificação dos SNPs.**

### **Relação com os trabalhos do Nupeec**

- Lucas Hax

# Trabalhos do NUPEEC



Lucas Hax

**Efeito de polimorfismo nos genes GHR e IGF-I na fertilidade e produção de leite de vacas da raça Holandês**

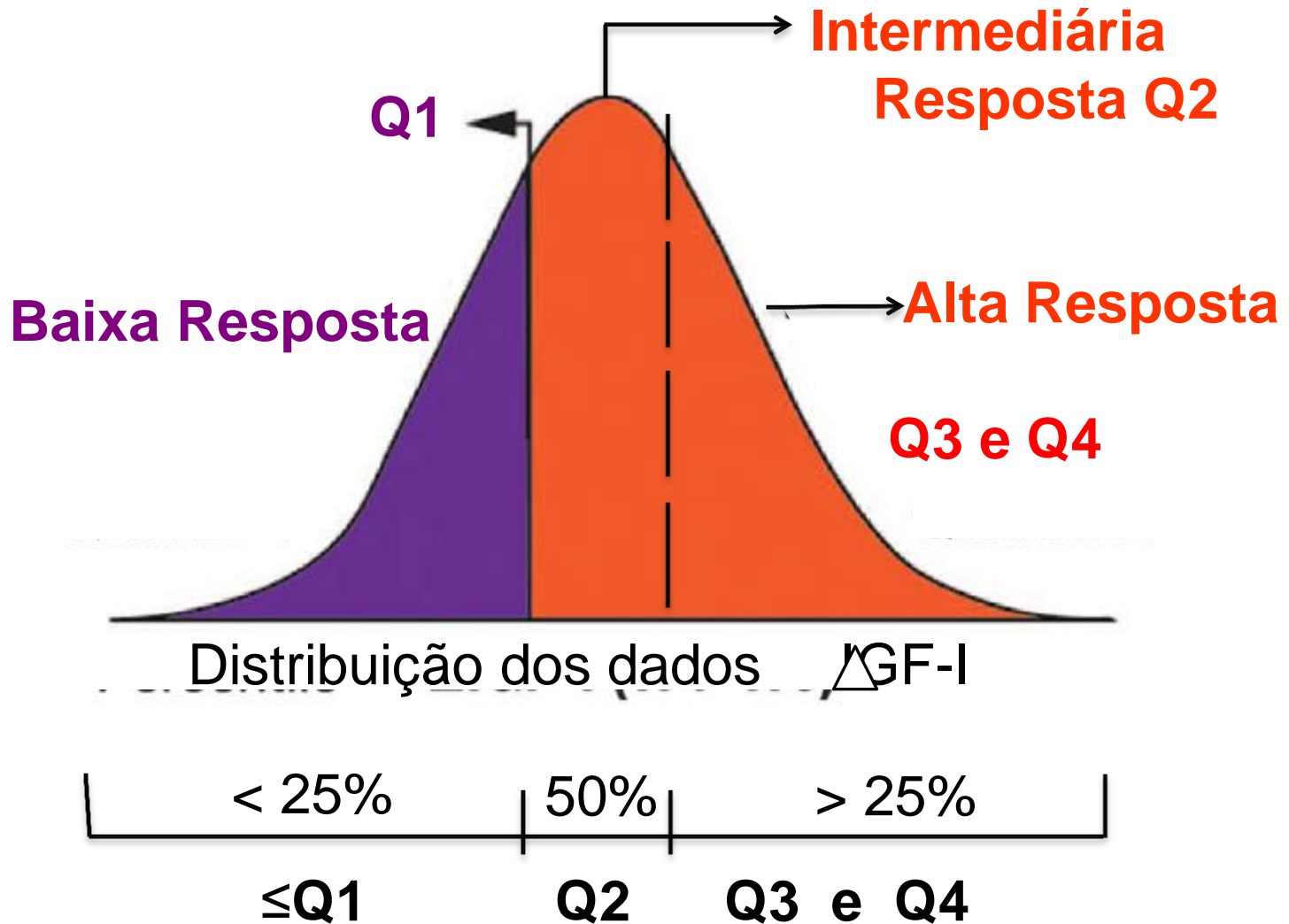
**Objetivo:** avaliar o efeito dos polimorfismos nos genes GHR e IGF-I na fertilidade e produção de leite de vacas da raça Holandês

**Resultados parciais:** não teve diferença estatística nas vacas da granja 4 irmãos.

## **Modelo do Estudo**

**Voltando para o Artigo!!!!**

# Modelo do Estudo



Q = Quartil

# Materiais e Métodos

Extração de DNA – sangue total

Foram escolhidos **103 genes**

Relacionados com:

- Relação GH-IGF-I;
- Crescimento celular e ósseo;
- Metabolismo de lipídeos e glicose;

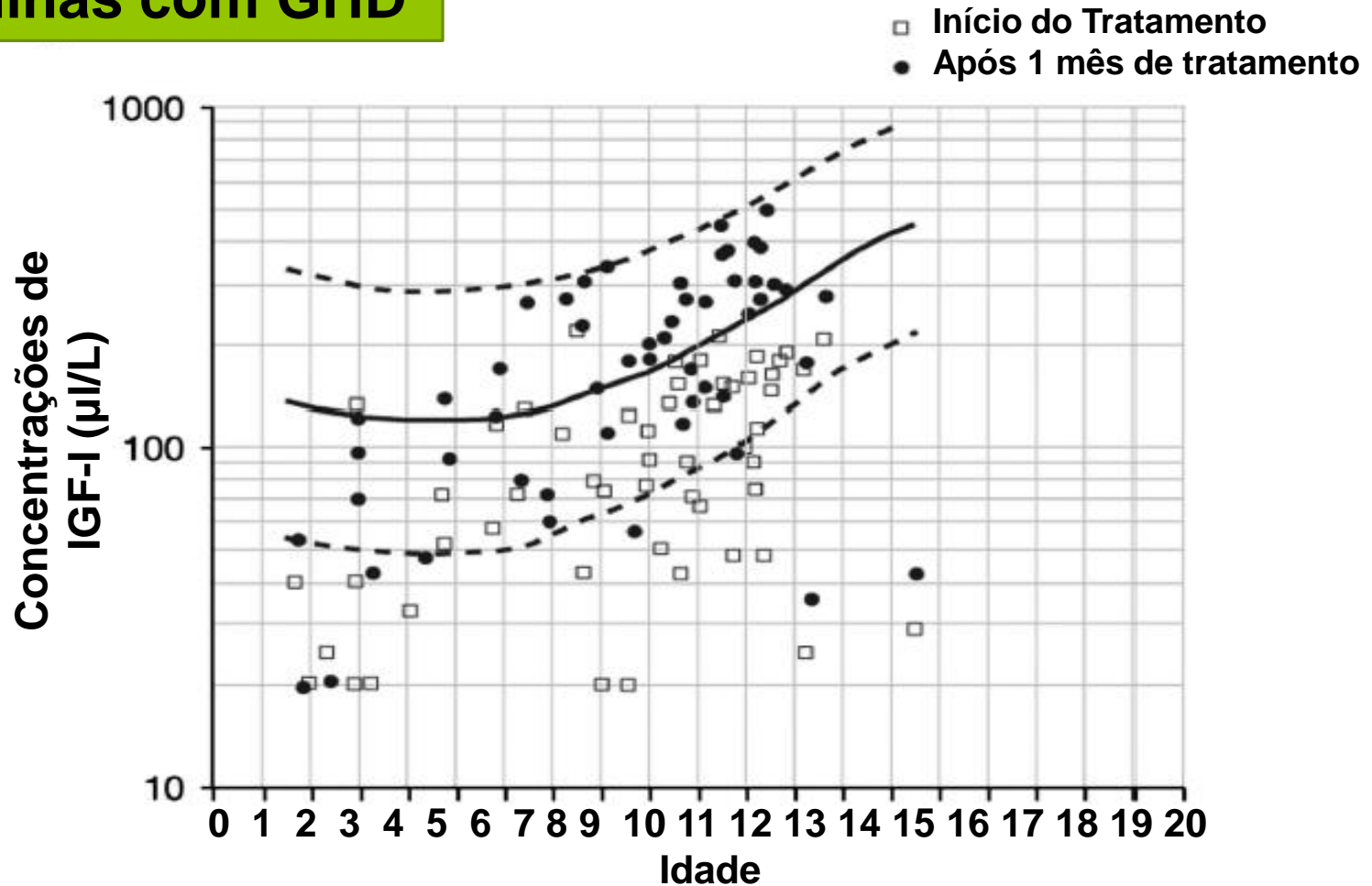
## SNPs

→ **1.171** em GHD

→ **1.182** em TS.

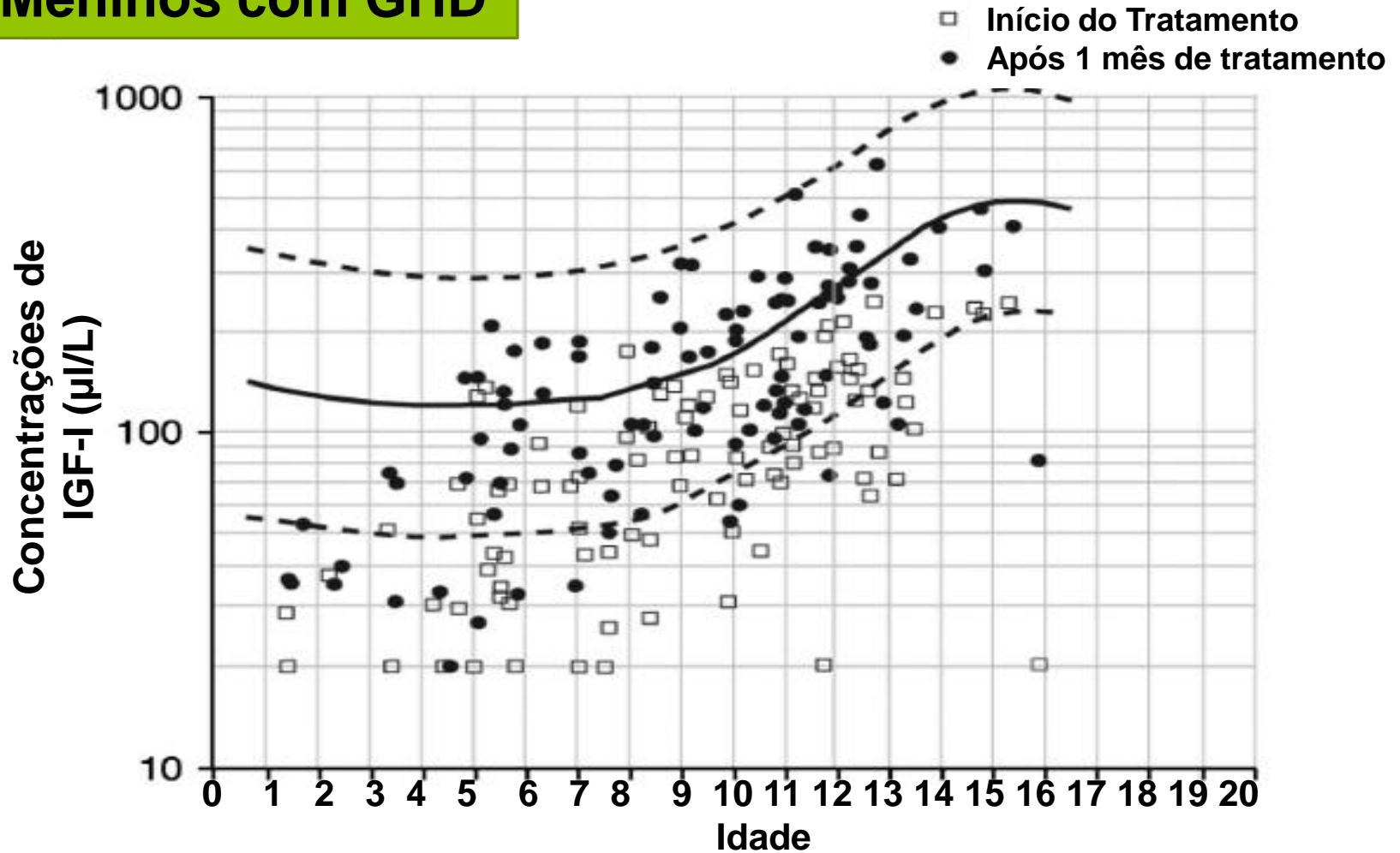
# Resultados e discussões

## Meninas com GHD



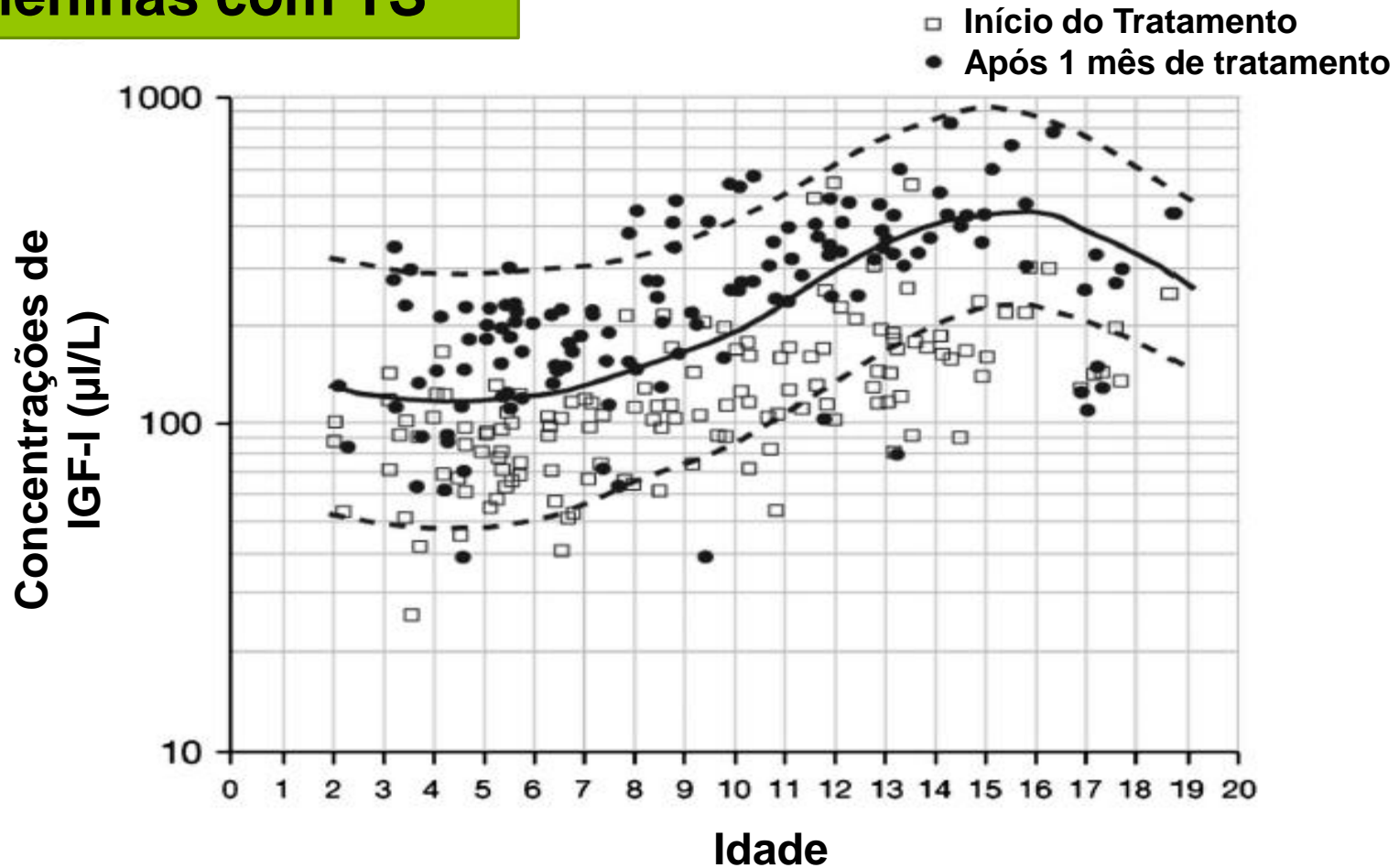
# Resultados e discussões

## Meninos com GHD

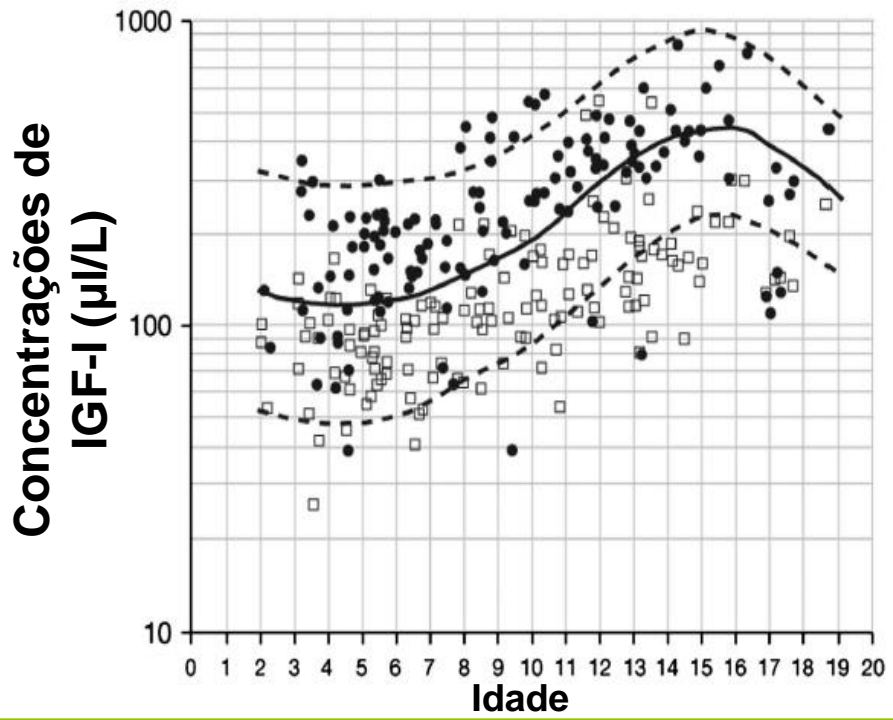
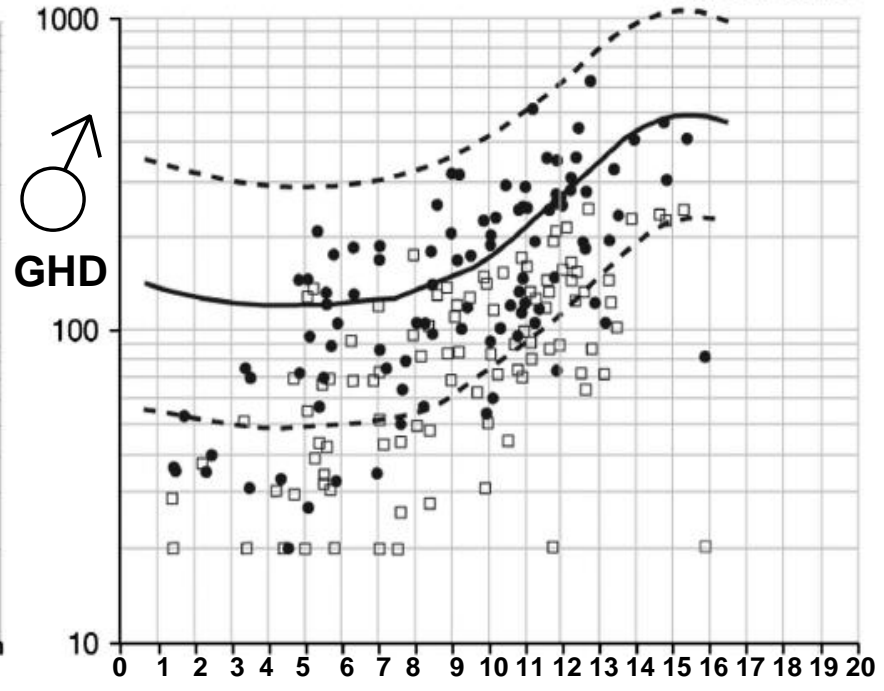
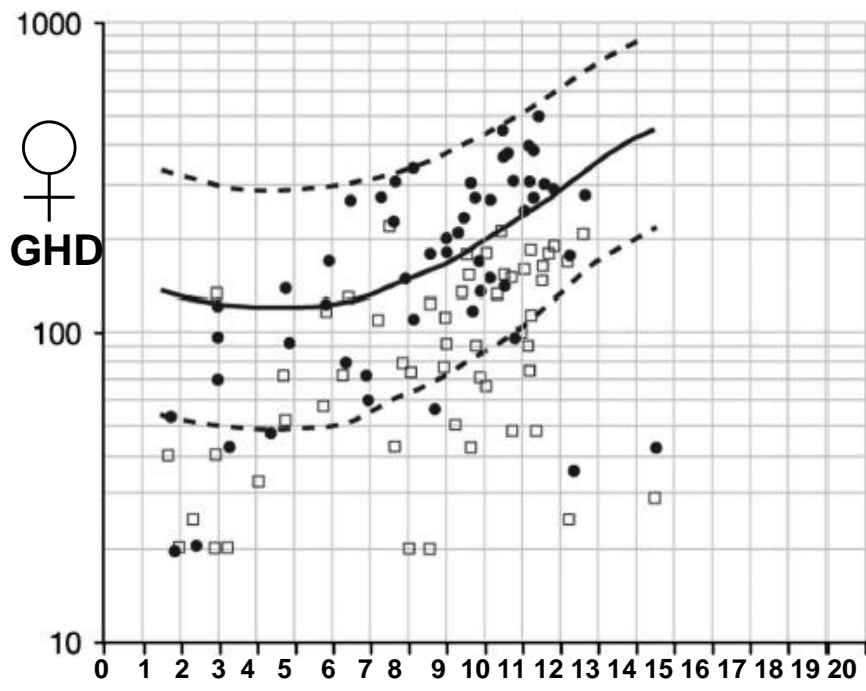


# Resultados e discussões

## Meninas com TS







□ Início do tratamento  
• Após 1 mês de tratamento

♀  
**TS**

# Resultados e discussões

- De 5 genes - **6 SNPs** foram significativamente associados a  $\Delta$ IGF-I ( $P < 0,05$ ) em paciente com GHD;
- De 13 genes – **34 SNPS** foram significativamente associados a  $\Delta$ IGF-I ( $P < 0,05$ ) em meninas com TS;



# Resultados e discussões

O **gene CDK4** foi correlacionado com o aumento de IGF-I tanto para pacientes com GHD, quanto para TS ( $P < 0,05$ ).

No gene CDK4, o **SNP rs2270777** atendeu a todos os critérios para pacientes com GHD e o **SNP rs2069502** satisfaz todos os critérios em meninas com TS ;

- Relação GH-IGF-I;
- crescimento celular e ósseo;
- metabolismo de lipídeos e glicose;



## Conclusão

**O genótipo e a expressão gênica com dados RNAm tem proporcionado uma visão sobre os caminhos-chave associadas com a produção de IGF-I com o tratamento de GH.**

**Este trabalho foi um passo importante no desenvolvimento de um tratamento com GH, possibilitando a personalização da dose de r-hGH.**



## Nossa Conclusão

**Na área da farmacogenômica, ainda é necessário mais estudos, com base no sequenciamento do DNA e nas expressões dos genes, para possibilitar individualizar a dose, tanto para humanos, quanto para animais, aumentando a velocidade do tratamento.**

**Obrigada pela atenção!**



[renataleivas15@hotmail.com](mailto:renataleivas15@hotmail.com)  
[thais\\_casarin@hotmail.com](mailto:thais_casarin@hotmail.com)

O tratamento com o hormônio do crescimento (GH) tem respostas variáveis e individuais tanto para humanos quanto para animais, desta maneira sua utilização torna-se limitada. Neste contexto, o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) é um potencial marcador de sensibilidade ao tratamento com GH. O objetivo deste estudo foi identificar marcadores genômicos associados à produção do IGF-I em resposta à aplicação de GH durante um mês, em crianças com deficiência de GH (GHD) e Síndrome de Turner (TS) sem tratamento prévio. Os pacientes foram recrutados de quinze países diferentes e divididos em dois tratamentos de acordo à doença. Desta maneira, crianças com GHD receberam em média  $0.035 \text{ mg/kg}^{-1}$  do hormônio do crescimento recombinante humano (r-hGH) e meninas com TS receberam  $0.051 \text{ mg/kg}^{-1}$ , nos dois tratamentos a aplicação do r-hGH foi diária durante um mês. Este trabalho foi realizado em três etapas, a primeira foi à escolha dos genes através de pesquisas bibliográficas, a segunda foi à associação do genótipo e dados de expressão gênica com a variação da produção de IGF-I durante o tratamento e a última etapa, foi à avaliação do potencial preditivo dos marcadores genéticos. A genotipagem foi realizada através da extração de DNA no sangue total, sendo estudados 103 genes, onde foram identificados 1.171 SNPs em crianças com GHD e 1.182 em meninas com TS, relacionados com o eixo GH-IGF-I, crescimento celular e ósseo e metabolismo de lipídeos e glicose. Os resultados demonstraram que as concentrações de IGF-I mudam após um mês de tratamento com r-hGH. Seis SNPs em cinco genes diferentes para as crianças com GHD e trinta e quatro SNPs em treze genes para meninas com TS foram significativamente associados à variação do IGF-I durante o tratamento ( $P < 0,05$ ). Sendo assim, podemos concluir que a integração de DNA com dados RNAm tem proporcionado uma visão sobre os caminhos chave associados com a produção de IGF-I, da mesma maneira o estudo de marcadores genômicos e alterações precoces no IGF-I podem permitir o desenvolvimento de estratégias para individualizar rapidamente a dose de r-hGH.