

PERFIL DE TRANSCRITOS DE RECEPTORES DE INTERFERON DO TIPO I EM LEUCÓCITOS DO SANGUE PERIFÉRICO NO INÍCIO DA GESTAÇÃO EM NOVILHAS

Leonardo Marin Ferreira Pinto^{12*}
Gabriela Dalmaso de Melo²; Cecília Constantino Rocha²
Guilherme Pugliesi²

¹Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA); ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP)

*leonardomfp@usp.br

Objetivos

Estudar a abundância de transcritos para receptores de interferon do tipo I (subunidades I (*IFNAR I*) e II (*IFNAR II*)) em células mononucleares (PBMCs) e polimorfonucleares (PMNs) durante a gestação inicial em novilhas Nelore.

Métodos e Procedimentos

Novilhas da raça Nelore (n=29), com 16 a 18 meses, foram sincronizadas e submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no D0. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia no D28, pela detecção da vesícula embrionária. Nos dias 0, 10, 14, 16, 18 e 20 pós-IATF, 25 mL de sangue da veia jugular foram colhidos para o isolamento de PBMCs e PMNs, por meio do gradiente com Ficoll® Paque Plus. Amostras de 8 novilhas gestantes e 9 não-gestantes foram submetidas à extração de RNA. A expressão dos genes alvo (*IFNAR I* e *II*) foi normalizada em relação aos genes de referência (*GAPDH* e *PPIA* para PBMCs; *GAPDH* e *ACTB* para PMNs). A abundância dos transcritos foi avaliada pela análise de variância com medidas repetidas no tempo, considerando os efeitos fixos de grupo (gestante ou não gestante), dia e interação de grupo por dia usando o PROC MIXED do SAS.

Resultados

Para PMNs, não foram detectadas diferenças significativas ($P>0,1$) na expressão de *IFNAR I*, enquanto para *IFNAR II*, foi observado apenas um efeito de tempo ($P=0,01$), refletindo um aumento do *IFNAR II* do D0 ao D16, com uma progressiva diminuição até o D20. Para

PBMCs, foi observado apenas um efeito de tempo ($P=0,02$) para *IFNAR I*, com aumento na abundância deste transcrito entre o D10 e D16, seguido por redução progressiva no D18 e D20. Embora a interação de grupo por tempo apenas aproximou-se da significância ($P=0,11$), a análise subsequente dos grupos separados indicou que a abundância de *IFNAR I* nas gestantes aumentou progressivamente a partir D0 a D16, seguido de uma redução progressiva até o D20; enquanto que nenhuma diferença ($P>0,1$) foi detectada ao longo dos dias avaliados nas novilhas não-gestantes. Além disso, a abundância do *IFNAR I* no D20 foi menor ($P<0,05$) nas novilhas gestantes do que nas não-gestantes. Não foi detectado efeito significativo ($P>0,1$) na expressão do *IFNAR II* em PBMCs.

Conclusões

Para PMNs, apenas a abundância de *IFNAR II* variou durante a gestação inicial, mas sua expressão independe do estado gestacional. Por outro lado, para PBMCs o estado gestacional pode afetar a expressão temporal do *IFNAR I*, indicando que a redução de *IFNAR I* no D20 nas gestantes pode estar envolvida com os mecanismos de sinalização do interferon-tau e resposta imune para garantir o sucesso do reconhecimento materno da gestação.

Referências Bibliográficas

KIZAKI, K. et al. Differential neutrophil gene expression in early bovine pregnancy. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, v. 11, p. 6, 5 fev. 2013.

EXPRESSION OF TYPE I INTERFERON RECEPTOR TRANSCRIPTS IN LEUKOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD DURING EARLY PREGNANCY IN HEIFERS

Leonardo Marin Ferreira Pinto^{1 2*}
Gabriela Dalmaso de Melo²; Cecília Constantino Rocha²
Guilherme Pugliesi²

¹Faculty of Animal Science and Food Engineering (FZEA); ²Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ), University of São Paulo (USP)

*leonardomfp@usp.br

Objectives

To analyze the abundance of type I interferon receptors (subunits I (*IFNAR I*) and II (*IFNAR II*) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and polymorphonuclear cells (PMNs) in Nelore heifers.

Materials and Methods

Twenty-nine Nelore heifers, aging 16-18 months, were synchronized and subjected to fixed-time artificial insemination (IATF) at D0. Pregnancy was diagnosed by transrectal ultrasonography at D25 and D28, by detecting the embryonic vesicle and the heartbeat. On days 0, 10, 14, 16, 18 and 20, 25 mL of blood was collected in heparinized tubes by jugular vein puncture for isolation of PBMCs and PMNs cells, which was performed by the Ficoll® Paque Plus gradient. Samples of 8 pregnant and 9 non-pregnant heifers were submitted to RNA extraction. Target gene expression (*IFNAR I* and *II*) was normalized to reference genes (*GAPDH* and *PPIA* for PBMCs; and *GAPDH* and *ACTB* for PMNs). For statistical analysis, the transcript abundance of was evaluated by analysis of variance with repeated measures of time, considering the random effect of heifer and the fixed effects of group (pregnant or non-pregnant), day and interaction of group by day using the PROC MIXED of SAS software.

Results

For PMNs, no significant differences ($P > 0.1$) were detected in *IFNAR I* expression, while for

IFNAR II, only a time effect ($P = 0.01$) was observed, reflecting an increase in the abundance of *IFNAR II* from D0 to D16, followed by a progressive decrease on D20. For PBMCs, only a significant time effect ($P = 0.02$) was observed for *IFNAR I*, reflecting an increased transcript abundance between D10 and D16, followed by a progressive reduction on D18 and D20. Although an interaction of group by time only approached a significance ($P = 0.11$), further analysis indicated that *IFNAR I* abundance in PBMCs of pregnant heifers progressively increased from D0 to D16, followed by a progressive reduction on D20 whereas no difference ($P > 0.1$) was detected over the days in non-pregnant heifers. In addition, *IFNAR I* abundance at D20 was less ($P < 0.05$) in pregnant than non-pregnant heifers. No significant effects ($P > 0.1$) on *IFNAR II* abundance in PBMCs were detected.

Conclusions

For PMNs, only *IFNAR II* abundance changed during early pregnancy, but its expression is independent of pregnancy status. However, for PBMCs, a reduction in *IFNAR I* at D20 in pregnant heifers could be involved in the interferon-tau signaling mechanisms and immune response to guarantee the success of maternal recognition of pregnancy.

References

KIZAKI, K. et al. Differential neutrophil gene expression in early bovine pregnancy. *Reproductive biology and endocrinology: RB&E*, v. 11, p. 6, 5 fev. 2013.