

## MECANISMO MOLECULAR DE ATUAÇÃO DA BRASSICA OLERACEA NA MASTITE BOVINA POR ANÁLISE BIOINFORMÁTICA

**Autores:** IVONETH DOS SANTOS DIAS, EDINALDO PEREIRA SANTOS - EDINALDO\_29@YAHOO.COM.BR, HÉRCULES OTACÍLIO SANTOS - HTACILIO@HOTMAIL.COM, KATTYANNE SOUZA COSTA - KATTYANNE.COSTA@VALLEE.COM.BR, JANAINNE NUNES ALVES - JANAINNE.ALVES@IFNMG.EDU.BR, ANNE KARENINE PEREIRA DIAS - ANNEKARENINEPDIAS@GMAIL.COM, ELIANE MACEDO SOBRINHO SANTOS - ELIANE.SANTOS@IFNMG.EDU.BR

### Introdução

A mastite bovina afeta o gado leiteiro em todo o mundo (HIITIO et al., 2017) e, apesar das medidas terapêuticas existentes, não está totalmente sob controle, levando à necessidade de se desenvolver estratégias alternativas (HIITIO et al., 2017). *Brassica oleracea* é um fitoquímico comumente utilizado no controle e prevenção de doenças humanas e animais (AKHLAGHI E BANDY, 2010).

A utilização desta planta no tratamento da mastite infecciosa bovina tem sido pouco referenciada na literatura e o seu mecanismo molecular de atuação nesta enfermidade ainda não foi esclarecido. Este estudo tem por objetivo revelar, por meio de análise bioinformática, o mecanismo molecular de atuação da *Brassica oleracea* na mastite bovina.

### Material e métodos

#### A. Busca genes expressos nas vias de sinalização da mastite infecciosa bovina e atuação da *Brassica oleracea*

Na literatura pertinente foram pesquisados artigos completos que apresentassem resultados consistentes quanto à presença de genes expressos nas vias de sinalização da mastite infecciosa bovina causada por *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* e atuação da *Brassica oleracea*. O conjunto de genes identificados relacionados com o desempenho da *Brassica oleracea* foi sobreposto com a lista de genes relacionados com a mastite infecciosa bovina através do diagrama de Venn. O diagrama de Venn foi construído usando o diagrama de Venn e Euler do Cytoscape 3. As sub-redes foram baixadas da consulta String: pubmed usando o Cytoscape 3.

#### B. Desenvolvimento de redes de interação

Como ponto de partida, foram selecionados os genes encontrados nos artigos da literatura pertinente que apresentassem resultados consistentes quanto à presença de genes expressos nas vias de sinalização da mastite infecciosa bovina e atuação da *Brassica oleracea*. A rede genética regulatória foi desenvolvida usando a base de dados STRING 10 (<http://string-db.org/>) (SZKLARCZYK et al., 2015) com "Experiments", "Databases", "Textmining", "Co-expression", "Gene fusion" e Co-ocurrence "como opções de entrada e um score de confiança de 0.900, com o número máximo de iteradores igual a 10 para o primeiro e segundo shell (SZKLARCZYK et al., 2015). As redes de interação proteica também foram construídas para cada uma das condições separadamente.

#### C. Identificação de genes líderes em vias de sinalização da mastite infecciosa bovina e desempenho de *Brassica oleracea*

Para cada interação gênica identificada, foram somados a pontuação de interação de cada gene, gerando uma pontuação de associação combinada. Esse escore foi ajustado, multiplicando-o por 1.000 (ORLANDO et al., 2013), para obter uma pontuação única, denominada de número ponderado de links (WNL). Os genes que apresentaram os maiores valores de WNL foram definidos como "genes líderes" (ORLANDO et al., 2013). Em seguida, os genes foram classificados de acordo com este parâmetro em clusters, pelo método de agrupamento K-means (SPSS 17.0 software). Usando o número máximo de interações entre as proteínas, obtido do STRING 10, foi calculado o TIS (Total Interaction Score). Um ponto de dispersão gráfica será plotado para verificar a relação entre WNL e TIS.



#### D. Análise das propriedades topológicas da rede

O Cytoscape foi utilizado para visualizar redes complexas e integrá-las a qualquer tipo de dados de atributo (SMOOT et al., 2011). As propriedades topológicas da rede (YU et al., 2007), foram também analisadas usando o plugin NetworkAnalyzer do software Cytoscape.

#### E. Visualização de regiões altamente interligadas em rede e caracterização ontológica da mastite infecciosa bovina e modelo de rede de atuação da *Brassica oleracea*

Para a visualização de regiões altamente interligadas na rede genética reguladora, foi utilizado o MCODE. Para a realização da análise ontológica foram utilizados dois plugins do Cytoscape: BINGO e GFD-Net.

### Resultados e discussão

A rede de interação proteica para o desempenho da *Brassica oleracea* (Figura 1A) teve os seguintes parâmetros: número de nós - 29, número de bordas - 86, grau médio do nó - 5.93 e média do coeficiente de agrupamento local - 0,577. Após a avaliação do número de links apresentados por cada gene / proteína, o MTOR foi obtido como o gene líder da rede de interação (Figura 1B).

A Figura 1C mostra a rede de interação proteica para as vias de sinalização da mastite infecciosa bovina. Esta rede possui as seguintes características: número de nós - 34, número de bordas - 62, grau médio de nó - 3.65 e média do coeficiente de agrupamento local - 0,545. O gene líder para esta condição foi TP53, como mostrado na Figura 1D.

A análise topológica das redes de interação proteica revelou a existência de um único gene com grande número de interações para cada condição de estudo (Figura 2A e 2B). Estes genes com grandes quantidades de ligações são os principais genes (MTOR e TP53).

Observou-se a presença de duas regiões altamente conectadas na rede de interação proteica formada a partir da ligação dos genes líderes MTOR e TP53. A primeira região altamente conectada, com uma pontuação de 7,25, é composta pelos seguintes genes: TSC2, RHEB, EIF4E, MLST8, RICTOR, AKT1S1, MTOR, RPTOR, EIF4EBP1. A segunda região altamente conectada, com uma pontuação de 3,0, é composta pelos seguintes genes: ATM, MDM2, CHEK2.

A análise ontológica da rede de interação proteica MTOR-TP53, realizada nos níveis de processos biológicos, componentes celulares e função molecular, revelou a participação dos seguintes elementos no papel da *Brassica oleracea* em mastite infecciosa bovina: transmissão de sinal e alterações mitocondriais apoptóticas, forquilha de replicação, ligação ao fator de iniciação da tradução. O GFD-Net fornece uma maneira intuitiva de executar uma análise de dissimilaridade funcional em uma rede de genes. Ao analisar o nosso modelo de rede pode-se observar um valor de dissimilaridade de 0.917, indicando que a rede possui uma similaridade funcional muito baixa.

### Conclusão

Concluiu-se que *Brassica oleracea* pode ser um candidato promissor para ser incluído em um coquetel de ervas de mamíferos contra a mastite infecciosa bovina, interferindo nos mecanismos de ação de genes como MTOR e TP53.

### Agradecimentos

Realização:



SECRETARIA DE  
DESENVOLVIMENTO  
CIENTÍFICO, TECNOLÓGICO  
E INOVAÇÃO SUPERIOR



Apoio:



Os autores agradecem ao Instituto Federal do Norte de Minas (IFNMG – Campus Araçuaí) pelo apoio financeiro e logístico para a condução deste estudo.

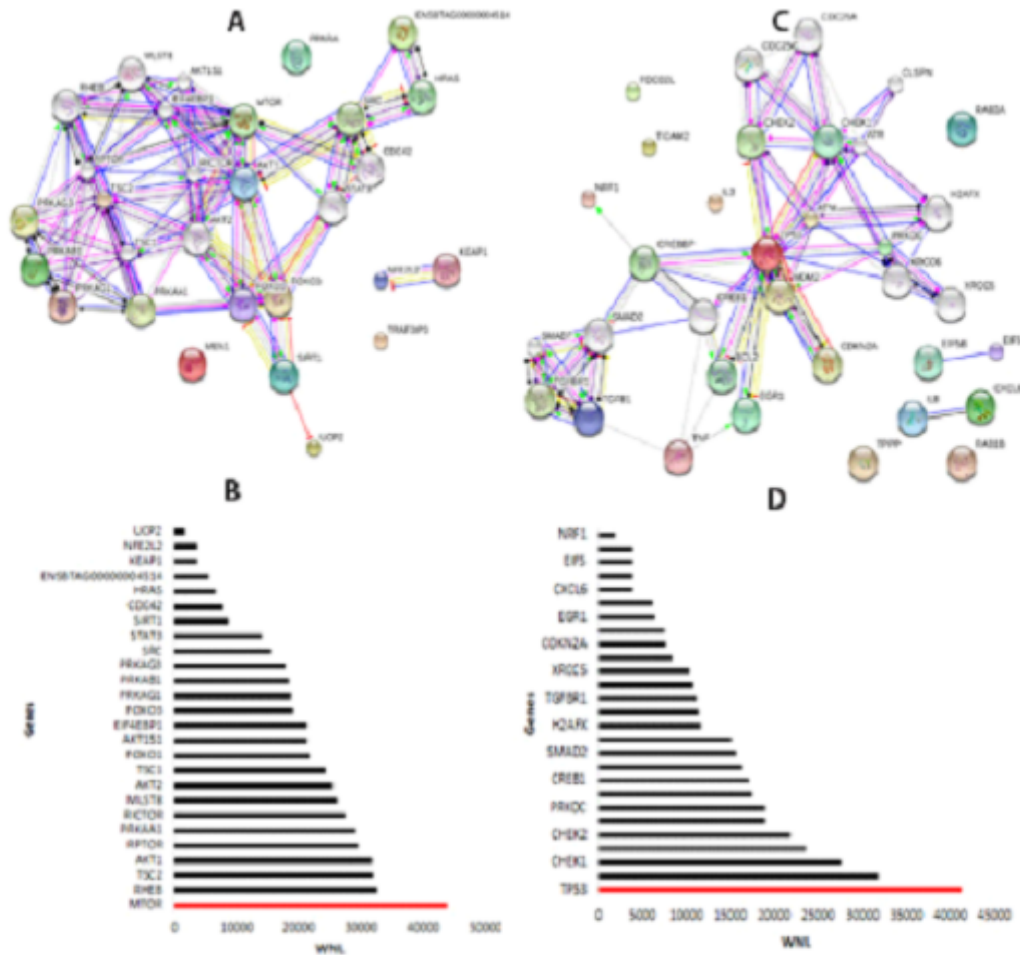


Figura 1. Rede de interação de proteínas para o desempenho da *Brassica oleracea* (A) e as vias de sinalização de mastites infecciosas bovinas (C). Valores de WNL para cada gene na rede de interação proteica para *Brassica oleracea* (B) e as vias de sinalização de mastites infecciosas de bovinos (D). O gene líder para cada condição é mostrado em vermelho.

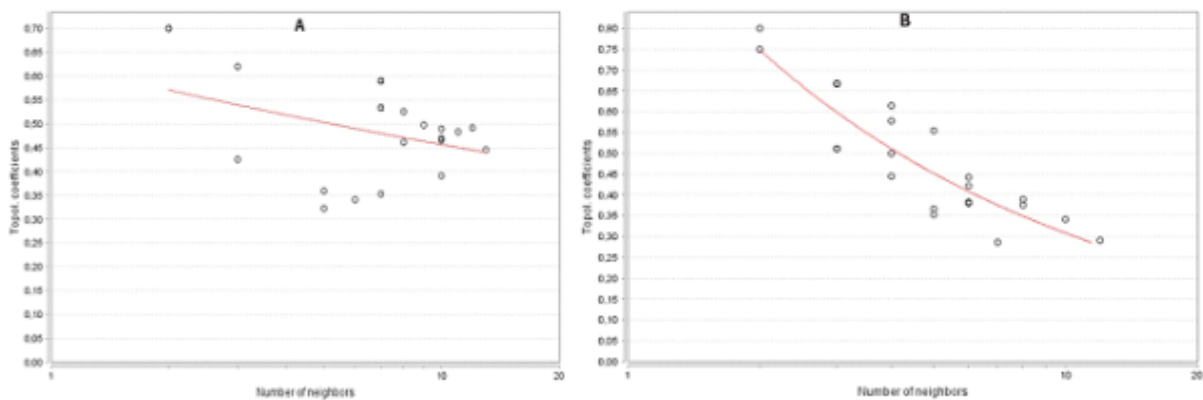


Figura 2. Análise topológica das redes de interação proteica para *Brassica oleracea* (A) e as vias de sinalização de mastites infecciosas bovinas (B). O gene Líder foi circulado em vermelho.