

EXPRESSÃO DO GENE *PLIN1* AOS 35 DIAS EM FRANGOS DE CORTE NORMAIS E AFETADOS PELA NECROSE DA CABEÇA DO FÊMUR

Caroline Michele Marinho Marciano¹, Igor Salvoldi², Kamilla Bleil do Carmo²,
Adriana Mércia Guaratini Ibelli³, Jane de Oliveira Peixoto⁴ e Mônica Corrêa Ledur⁴

¹Graduanda em Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso-UFMT, marinho.cmm@gmail.com.

²Graduando em Ciências Biológicas, Universidade do Contestado, Campus Concórdia, Estagiário da Embrapa Suínos e Aves, Bolsista CNPq/PIBIC.

³Analista da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC.

⁴Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves.

Palavras-chave: problemas locomotores, avicultura, expressão gênica, perilipina.

INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas na produção avícola são os problemas locomotores que causam perdas econômicas, afetando o desempenho, a qualidade das carcaças e comprometendo o bem-estar animal. O intenso processo de seleção genética voltado para o alto ganho de massa muscular e elevadas taxas de crescimento com redução no tempo de abate, contribuiu para o aumento da taxa de má formação óssea em frangos, gerando diversas desordens locomotoras (1). Uma das principais condições em frangos de corte é a necrose da cabeça do fêmur (NCF), responsável pela degeneração óssea (4). Entretanto, poucas pesquisas têm sido conduzidas visando elucidar a etiologia desta condição, sendo geralmente associada com a presença de bactérias, embora fatores como nutrição, manejo e genética possam estar associados à predisposição a NCF (5). Pesquisas buscam compreender mecanismos genéticos envolvidos com a necrose da cabeça femoral, com a finalidade de reduzir o impacto causado por esse problema ósseo. Por meio do estudo do transcriptoma, o gene da perilipina (*PLIN1*) se mostrou diferencialmente expresso entre aves normais e afetadas com NCF aos 35 dias de idade por meio da técnica de RNA-Seq. Este gene está localizado no cromossomo 10 da galinha (NCBI, 2016) sendo amplamente estudado em humanos devido a sua função no armazenamento no tecido adiposo e a na regulação do metabolismo lipídico do fígado, influenciando diretamente no aumento da reserva de gordura. Além disso, esse gene apresenta função relacionada à densidade mineral óssea em humanos (3). Contudo, é preciso validar o perfil de expressão desse gene utilizando outra metodologia mais acurada para quantificação. Dessa forma, objetivou-se nesse estudo quantificar a expressão relativa do gene *PLIN1* em frangos de corte normais e afetados pela necrose da cabeça do fêmur por meio de PCR quantitativa (qPCR).

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se para este estudo amostras do fêmur de 20 frangos de corte machos de uma linhagem comercial com 35 dias de idade, sendo 10 afetados e 10 não afetados por necrose da cabeça do fêmur. O isolamento de RNA total do osso do fêmur foi realizado utilizando-se o reagente Trizol (Invitrogen), de acordo com o fabricante. Quantificou-se o RNA com o uso do espectrofotômetro *Biodrop* e a pureza e integridade do RNA foram avaliadas em eletroforese com gel de agarose 1,5%. A síntese de cDNA foi realizada utilizando-se o kit *SuperScript III Supermix* (Invitrogen). Para a quantificação da expressão relativa do gene *PLIN1* foram desenhados iniciadores na junção exon-exon, sendo eles: F 5'-GGCTATGGAGACGGTGGATG-3' e R 5'-CTGGCTTGCTCTCTCTTCC-3'. Como normalizador foram utilizados os genes constitutivos *RPL4* e *RPL30*. A PCR quantitativa foi realizada no equipamento de PCR em tempo real *Quantstudio* (*Applied Biosystems*), utilizando-se o corante *SYBR Green*, e com as amostras analisadas em duplicata. Os valores de Ct (*cycle threshold*) obtidos foram submetidos à análise no *Relative Expression Software Tool* (REST) 2009.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados, não houve diferença na expressão do gene *PLIN1* em frangos de corte com 35 dias de idade entre os grupos afetados ou não pela necrose da cabeça do fêmur ($p>0.05$) (Figura 1). Dessa forma, a expressão diferencial desse gene não foi validada, sugerindo que o *PLIN1* não esteja relacionado à ocorrência desse problema locomotor nesta idade. Apesar de sua função estar relacionada primeiramente ao metabolismo de lipídeos e a reserva de gordura, em estudo com humanos, outros trabalhos já relataram que polimorfismos neste gene podem afetar a densidade mineral óssea (3) e predispor a outros problemas locomotores, como por exemplo, a osteoporose. Considerando que a expressão desse gene foi avaliada somente aos 35 dias, a atuação dele em outras idades não pode ser desconsiderada. Desta maneira, novos estudos devem ser realizados com frangos de corte em diferentes idades a fim de obter um melhor entendimento do envolvimento deste gene com a NCF.

CONCLUSÕES

A expressão do gene *PLIN1* em frangos de corte aos 35 dias de idade não apresentou diferença entre os dois grupos estudados: afetado ou não com necrose da cabeça do fêmur.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi financiado com recursos do projeto do MP1 da Embrapa número 01.11.07.002.04.03. Os autores agradecem ao técnico Alexandre L. Tessmann pelo suporte laboratorial.

REFERÊNCIAS

1. GAYA, L. G.; MOURÃO, G. B.; FERRAZ, J. B. S. Aspectos genético-quantitativos de características de desempenho, carcaça e composição corporal em frangos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 709-717, 2006.
2. IBELLI, A. M. G.; REGITANO, L. C. A.; MÉO, S. C. **Extração de RNA**. In: REGITANO, L. C. A.; NICIURA, S. C. M.; IBELLI, A. M. G.; GOUVEIA, J. J. S. Protocolos de biologia molecular aplicada à produção animal. 1a Edição. São Carlos, 2007. Disponível em: <www2.cppse.embrapa.br/080servicos/070publicacao gratuita/e-book/LivroProtMol.pdf>. Acesso em: 18.agosto.2016.
3. NCBI (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION), gene PLIN1. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3628693/pdf/nihms452843.pdf > Acesso em: 18/08/2016.
4. NINOV, K.; LEDUR, M. C.; ALVES, H. J.; ROSÁRIO, M. F.; NONES, K.; COUTINHO, L. L. Investigation of leptin gene in broiler and layer chicken lines. **Scientiae Agrícola**, Piracicaba, v. 65, n. 2, p. 214-219, 2008.
5. OLKOWSKI, A. A.; LAARVELD, B; WOJNAROWICZ, C; CHIRINO-TREJO, M; CHAPMAN, D; WYSOKINSKI, T. W; QUARONI, L. Biochemical and physiological weaknesses associated with the pathogenesis of femoral bone degeneration in broiler chickens. **Avian Pathology**, v. 40, n. 6, p. 639-650, 2011.

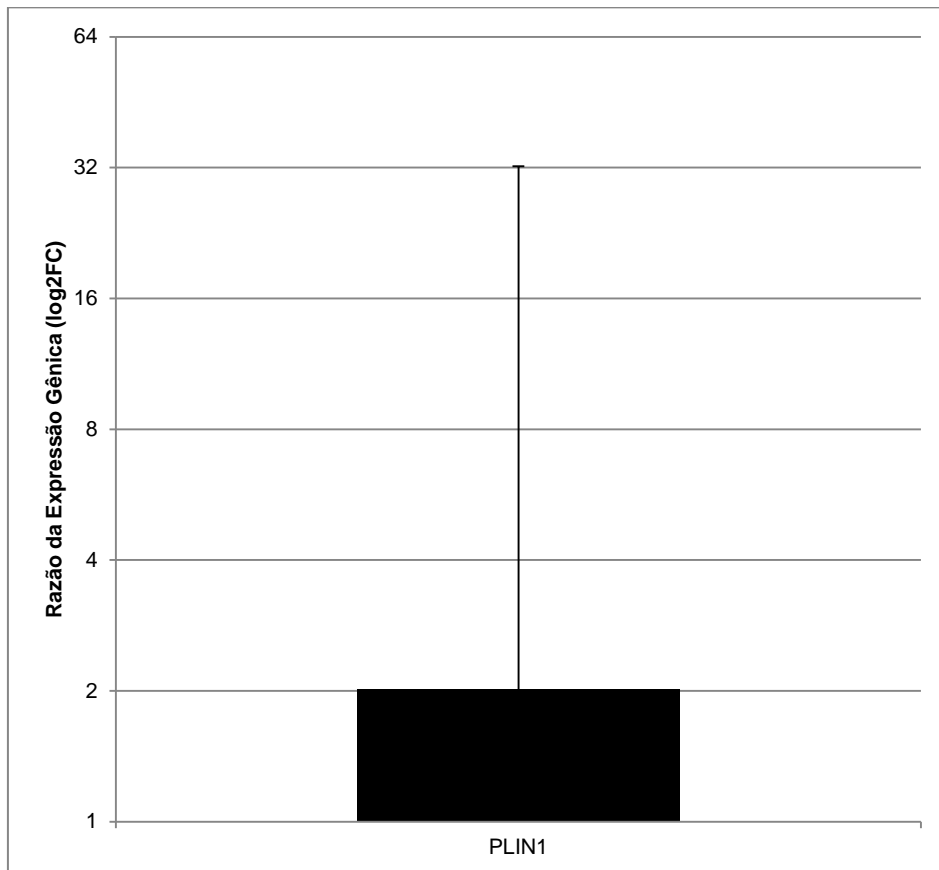


Figura 1. Razão de expressão do gene *PLIN1* no osso da cabeça do fêmur de frangos de corte normais e afetados com necrose da cabeça do fêmur, normalizada para genes de referência *RLP4* e *RLP30*.