

PERFIL DE EXPRESSÃO DOS GENES *FGF1* E *FGFR3* NO RIM DE POEDEIRAS SUBMETIDAS A DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS DE CÁLCIO E FÓSFORO

Ágata Vendruscolo¹, Letícia Alves Salmória², Fernando de Castro Tavernari³, Adriana Mércia Guaratini Ibelli⁴, Jane de Oliveira Peixoto³, Mônica Corrêa Ledur³

¹Graduada em Medicina Veterinária pelo Instituto Federal Catarinense, Campus Concórdia, estagiária na Embrapa Suínos e Aves, bolsista CNPQ/PIBIC, agatavendruscolo@hotmail.com

²Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Unicentro

³Pesquisadores da Embrapa Suínos e Aves

⁴Analista da Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: aves, minerais, expressão gênica, qPCR.

INTRODUÇÃO

Os estudos iniciais sobre a suplementação mineral em rações começaram na década de 50, com a finalidade de solucionar problemas ósseos e de desempenho das aves. Nos últimos anos, a suplementação mineral para aves ganhou grande notoriedade em razão de vários fatores produtivos como: o melhoramento genético que deu origem a animais com maior ganho de peso, alta precocidade e aumento na produção de ovos, a criação em gaiolas, onde a ave fica sem contato direto com a terra, uma importante fonte mineral, e a retirada ou redução do uso de farinhas de origem animal nas rações (Bertechini, 2006). O que limita a nutrição para as poedeiras é a deficiência de minerais, visto que as matérias primas, tais como milho e soja, que são utilizadas na fabricação de rações, em sua maioria, não suprem as exigências dos animais. Apesar de constituir 5% do corpo de um animal, os nutrientes minerais auxiliam na formação do esqueleto (80% a 85%), sendo também importantes na formação da casca dos ovos, assim como na estrutura dos músculos, fundamental ao bom funcionamento do organismo (McDowell, 1992). Assim, o cálcio (Ca) e o fósforo (P) são importantes minerais utilizados para balancear a dieta das aves. Com base nisso, objetivou-se neste trabalho analisar por meio da técnica de PCR quantitativa (qPCR) a expressão de dois genes candidatos envolvidos em mecanismos regulatórios de cálcio e fósforo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 30 amostras de rim de poedeiras com 70 semanas de idade que foram submetidas a diferentes níveis de cálcio e fósforo na dieta e que tiveram diferentes desempenhos produtivos: alto (4.71% Ca e 0.21% P), baixo (3.29% Ca e 0.49% P) e um grupo controle (4% Ca e 0,35% P). As amostras foram armazenadas em freezer -80°C para análise de expressão gênica. Para extração de RNA total utilizou-se o reagente Trizol (Invitrogen), seguido de purificação em coluna RNEasy (Qiagen) de acordo com as recomendações dos fabricantes. A concentração do RNA foi adquirida por meio de espectrofotômetro (BioDrop) e em gel de agarose (1%) para a verificação da integridade. Amostras com razão 260/268nm e acima de 1,8 foram utilizadas para a síntese de cDNA com o kit SuperScript III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen). Os genes candidatos *Fibroblast Growth Factor 1 (FGF1)* e *Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3)* foram escolhidos para verificação da expressão diferencial. As amostras foram submetidas à técnica de qPCR, realizada em equipamento QuantStudio 6 Flex (Applied Biosystems), com reações contendo: Mastermix na concentração 1X (GoTaq qPCR Master Mix 2X, Promega), 0,16 µM de cada primer F e R, 2 µL de cDNA na diluição 1:10 e água ultrapura para completar 15 µL de reação total. Os *cycle thresholds* (Cts) foram coletados e foi realizada análise estatística utilizando o software REST 2009, sendo utilizados os genes *RPL30* e *RPL5* como referência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dois genes analisados (*FGF1* e *FGFR3*) neste estudo não apresentaram diferença significativa de expressão no rim entre os grupos avaliados (Tabela 1). O Ca e o P são minerais importantes na nutrição de poedeiras, já que participam de vários processos fisiológicos vitais, como na formação dos ossos e da casca do ovo (1). Contudo, suas funções dependem da quantidade que é fornecida na dieta e as concentrações plasmáticas são reguladas por meio de mecanismos de reação do hormônio da paratireoide (PTH), vitamina D em sua forma ativada, e por seus respectivos receptores localizados nos rins. Entre os genes da família de fatores de crescimento de fibroblastos (FGFs), o gene *FGF1* atua na cicatrização e tem como principal função a manutenção da integridade do tecido conjuntivo, por sintetizar componentes da matriz extracelular (5). Sabe-se também que o *FGF1* induz a proliferação celular e a angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos). Já o gene *FGFR3* é um receptor do fator de crescimento do fibroblasto, sendo do tipo tirosina quinase, que está diretamente relacionado com o desenvolvimento ósseo, agindo como modelador negativo na placa de crescimento. Estes dois genes são da mesma família (4) e atuam diretamente na regulação de cálcio e fósforo. A utilização do rim para estas análises se deu pois ele é o principal órgão que regula a excreção dos minerais. Quando se tem uma quantidade muito grande de minerais, o rim ajuda a excretá-los, porém, quando há pouca quantidade, ocorre a absorção nos túbulos renais para a utilização destes pelo animal. Através das análises desses dois genes, pode-se observar que a expressão não foi diferente entre os grupos de animais que receberam diferentes níveis de Ca e P na dieta. Isto pode ter ocorrido devido a vários motivos: porque as galinhas utilizadas estavam numa idade em que elas já tinham se adaptado às dietas ou porque havia muita variação entre as amostras, já que

geralmente poucas amostras são usadas neste tipo de análise. Além disso, é possível que nesta idade a expressão destes genes não tenha se alterado com as diferentes dietas recebidas, indicando que os níveis de minerais fornecidos eram adequados.

CONCLUSÕES

Os genes *FGF1* e *FGFR3* não foram diferencialmente expressos no rim de poedeiras de 70 semanas de idade, indicando que estes não estão sendo diferencialmente regulados em razão das diferentes dietas fornecidas.

REFERÊNCIAS

1. ANCHIETA DE ARAUJO, José *et al.* **Fontes de minerais para poedeiras**, Acta Veterinaria Brasilica, v. 2, n. 3, p. 53-60, 2008.
2. PINTO, S *et al.* **Cálcio e fósforo na dieta de galinhas de postura: uma revisão**, Scientia Agraria Paranaensis, v. 11, n. 1, p. 5-18, 2012.
3. L SLATTERY, Martha *et al.* **Associações com genes de fator de crescimento (FGF1, FGF2, PDGFB, FGFR2, NRG2, EGF, ERBB2) com risco e sobrevivência de câncer de mama: o Estudo de Disparidades de Saúde do Câncer de Mama**, PubMed, v. 140, n. 3, p. 587-601, 2013.
4. ITOH, Nobuyuki. **Fator de crescimento de fibroblastos (FGF)**, Enciclopédia de Doenças Endócrinas, p. 67-71, 2004.
5. DE OLIVEIRA PAGNANO, Leonardo *et al.* **Morphometry of fibroblasts and fibrocytes during wound healing in the skin of rabbits of the New Zeland White breed treated with marigold**, Cienc. Rural, v. 38, n. 6, p.1662-1666, 2008.
6. ROLEMBERG GONÇALVES RIBA, Fernanda. **Estudo Molecular do Gene FGFR3: Rastreamento de mutações pela técnica de genotipagem por High Resolution Melt (HRM)**. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, [S. l.], 2019. Disponível em: <http://www.unirio.br/ppgbmc/dissertacao-fernanda-rolemberg>. Acesso em: 29 ago. 2021.

Tabela 1. Resultado das análises de expressão dos genes *FGF1* e *FGFR3* no rim de poedeiras entre os diferentes grupos estudados.

<i>FGF1</i>			
	Expressão relativa	Erro Padrão	Valor de p
Grupo Melhor desempenho x Controle	1,603	0,302 - 8,725	0,413
Grupo Pior desempenho x Controle	0,975	0,198 - 4,918	0,954
Grupo Melhor X Pior desempenho	1,637	0,329 - 8,471	0,39
<i>FGFR3</i>			
	Expressão relativa	Erro Padrão	Valor de p
Grupo Melhor desempenho x Controle	1,138	0,019 - 16,654	0,822
Grupo Pior Desempenho x Controle	0,573	0,154 - 2,119	0,259
Grupo Melhor X pior desempenho	1,5	0,430 - 6,497	0,497