

REDUÇÃO NA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À VASCULARIZAÇÃO E OSSIFICAÇÃO ENVOLVIDOS COM NECROSE DA CABEÇA DO FÊMUR EM FRANGOS DE CORTE

Débora Ester Petry Marcelino¹, Adriana Mércia Guaratini Ibelli^{2,3}, Fernanda Tonello Neis⁴, Jane de Oliveira Peixoto^{3,5} e Mônica Corrêa Ledur⁵

¹Graduanda em Agronomia pela FACC-Faculdade Concórdia, Campus Concórdia, Bolsista CNPq/PIBIC na Embrapa Suínos e Aves, deboraester.agro@gmail.com

²Analista da Embrapa Suínos e Aves

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Unicentro

⁴Graduanda em Medicina Veterinária pelo Instituto Federal Catarinense - Campus Concórdia

⁵Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves

Palavras-chave: problemas locomotores, BCO, qPCR.

INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de frangos de corte contribui de forma significativa para a economia brasileira, sendo que o País ocupa o primeiro lugar na exportação e terceiro lugar na produção a nível mundial desta proteína (1). Nas últimas décadas, através do desenvolvimento tecnológico realizado em melhoramento genético, nutrição e manejo foi possível aumentar a produtividade com o rápido crescimento e elevado rendimento de carcaça, possibilitando a redução de custos de produção (2). Como consequência deste rápido desenvolvimento do frango, a incidência de problemas locomotores aumentou consideravelmente, uma vez que a estrutura óssea não tem acompanhado o desenvolvimento da musculatura, afetando o bem-estar animal e causando grandes prejuízos para o setor avícola (3). Dentre as anomalias observadas, a necrose da cabeça do fêmur (NCF), denominada também como condronecrose bacteriana com osteomielite (BCO), é um dos principais problemas locomotores em frangos de corte, no qual a placa de crescimento proximal se separa de sua cartilagem articular, podendo levar a infecção, osteomielite e morte do animal (4). Além disso, a qualidade da carcaça também pode ser afetada, assim como o desempenho produtivo, levando a perdas econômicas significativas (5). No entanto, a etiologia da NCF não é totalmente conhecida, podendo estar associada a vários fatores como alojamento inadequado, deficiência nutricional e principalmente a problemas genéticos (6). Alguns genes como *CHST1* (carboidrato sulfotransferase 1), *COL14A1* (*collagen, type XIV, alpha 1*) e *ADIPOQ* (adiponectina) podem ser considerados candidatos para integridade óssea, pois participam, respectivamente, da biossíntese de ligantes de selectina (7), na regulação da fibrillogênese (8) e na formação direta de osteoblastos e regulação da homeostase (9). Os genes *COL14A1* e *ADIPOQ* já foram associados a NCF em frangos de corte em idades próximas ao abate (5,9,10). Desta forma, se faz necessário realizar a investigação de genes que possam estar associados a esta condição em idades mais jovens com a finalidade de verificar o envolvimento desses genes no desencadeamento da NCF. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de expressão dos genes *CHST1*, *COL14A1* e *ADIPOQ* na placa de crescimento femoral de frangos normais e afetados com NCF aos 21 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 8 frangos de corte de uma linhagem comercial com 21 dias de idade, sendo 4 normais e 4 afetados com necrose de cabeça do fêmur. As amostras da placa de crescimento do fêmur foram colhidas e submetidas à extração de RNA total utilizando o reagente Trizol (Invitrogen), conforme recomendação dos fabricantes. A concentração do RNA foi obtida através de espectrofotômetro (BioDrop) e em gel de Agarose (1%) para avaliação da integridade. Posteriormente foi realizada a síntese de cDNA utilizando o kit SuperScript[®] III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen). Após, as amostras foram submetidas à técnica de PCR quantitativa (qPCR), realizada no equipamento QuantStudio 6 Flex (Applied Biosystems). As reações de qPCR foram feitas em duplicata e os valores de Ct (*cycle threshold*) foram obtidos para análise da expressão diferencial que foi realizada com o programa REST, que utiliza um teste de aleatorização não paramétrico para comparação entre os grupos estudados. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genes *CHST1*, *COL14A1* e *ADIPOQ* apresentaram amplificação nas amostras da placa de crescimento femoral de frangos de corte com 21 dias de idade, sendo, respectivamente 3, 66 e 3 vezes menos expressos ($p < 0,05$) no grupo afetado por NCF em relação ao normal (Fig.1). Tais diferenças significativas no nível de expressão entre os grupos de aves indicam que estes genes podem ter afetado o desenvolvimento normal do osso. O gene *CHST1*, localizado no cromossomo 5 da espécie *gallus gallus* (11), é um dos candidatos causadores da NCF, pois participa da biossíntese de ligantes da selectina e, além disso, regula a produção da enzima condroitina 6-O-sulfotransferase 1, importante para diferenciação da cartilagem e osso (7). O *ADIPOQ*, localizado no cromossomo 9 (12), desempenha um papel importante no metabolismo de lipídios e carboidratos (13) estando associado a regulação da homeostase do metabolismo ósseo em humanos (9). Foi verificado também que este gene já foi menos expresso em frangos de corte afetados com NCF aos 35 dias de idade (5,10). Já o gene *COL14A1*, codifica a cadeia alfa do colágeno tipo XIV e está envolvido na

regulação da fibrillogênese (8). Este tipo de colágeno fibrilar é encontrado nos ossos e na cartilagem, bem como em outros tecidos, com importante participação na função de resistência à tensão (14,15).

CONCLUSÕES

A menor expressão dos genes *CHST1*, *COL14A1* e *ADIPOQ* na placa de crescimento femoral dos animais afetados possivelmente compromete o desenvolvimento normal do osso, evidenciando que estes genes estão envolvidos no desenvolvimento da NCF em frangos de corte de 21 dias de idade.

REFERÊNCIAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório Anual da Associação Brasileira de Proteína Animal. ABPA, 2021. Disponível em: < http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf > Acesso em:11/08/21
2. BERNARDI, R. **Problemas Locomotores em frangos de corte**. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados- MS, 2011
3. AMADORI, Marlon Sávio. Gait score, qualidade óssea e bem-estar de frangos de corte. 2015. 49 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, 2015.
4. PACKIALAKSHMI, B.; RATH, N. C.; HUFF, W. E.; HUFF, G. R. Poultry Femoral Head Separation and Necrosis: A Review. *BioOne*, 59(3):349-54, 2015.
5. PETRY, B.; IBELLI, A. M. G.; PEIXOTO, J. O.; LEDUR, M. C. Genes associados à necrose da cabeça de fêmur em frangos de corte. **SB rural**, 183, p. 3, 2017.
6. FORNARI, M. B. et al. Unraveling the associations of osteoprotegerin gene with production traits in a paternal broiler line. **Springer Plus**, 3:682, 2014.
7. HABICHER, J., HAITINA, T., ERIKSSON, I., HOLMBORN, K., DIERKER, T., AHLBERG, P. E., LEDIN, J. Chondroitin/dermatan sulfate modification enzymes in zebrafish development. **PLoS One**, 2015
8. YOUNG, B.B. et al. The roles of types XII and XIV collagen in fibrillogenesis and matrix assembly in the developing cornea. **Journal of Cellular Biochemistry**, 8, p. 208–220, 2002.
9. RHIE, Y. J., LEE, K. H., CHUNG, S. C., KIM, H. S., KIM, D. H. Efeitos da composição corporal, leptina e adiponectina na densidade mineral óssea em meninas pré-púberes. **Journal Korean Medical Science**, 2010.
10. PEIXOTO, J. O., SAVOLDI, I. R., IBELLI, A. M. G. et al. Proximal femoral head transcriptome reveals novel candidate genes related to epiphysiolysis in broiler chickens. **BMC Genomics**, 20:1031, 2019.
11. NCBI (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION), gene *CHST1*. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/428866> > Acesso em 20 de agosto de 2021.
12. NCBI (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION), gene *ADIPOQ*. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/404536> > Acesso em 20 de agosto de 2021.
13. TAHMOORESPUR, M., GHAZANFARI, S., NOBARI, K. Evaluation of adiponectin gene expression in the abdominal adipose tissue of broiler chickens: feed restriction, dietary energy, and protein influences adiponectin messenger ribonucleic acid expression. **Poultry Science**, 2010.
14. DABOOR, S. M., BUDGE, S. M., GHALY, A. E., BROOKS, M. S., Dave, D. Extraction and Purification of Collagenase Enzymes: A Critical Review. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, 6:239-263, 2010.
15. OLIVEIRA, V. M., CUNHA, M. N. C, NASCIMENTO, T. P., ASSIS, C. R. D., BEZERRA, R. S., PORTO, A. L. F. Colágeno: características gerais e produção de peptídeos bioativos - uma revisão com ênfase nos subprodutos do pescado. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 5 (2): 56-68, 2017.

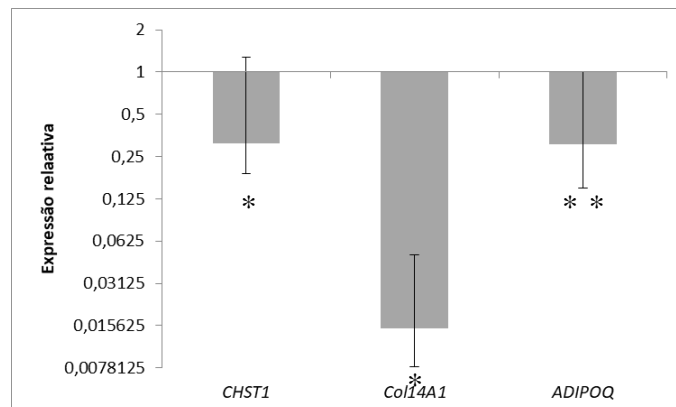


Figura 1. Expressão relativa dos genes *CHST1*, *COL14A1* e *ADIPOQ* na placa de crescimento do fêmur de frangos de corte normais e afetados com necrose da cabeça do fêmur aos 21 dias de idade. As linhas nas barras dos genes correspondem ao erro-padrão entre amostras. ** $p \leq 0,05$, * $p \leq 0,10$.