

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

EXPRESSÃO GÊNICA DO *SLC12A2* NO INTESTINO DE FRANGOS DE CORTE ALIMENTADOS COM NÍVEIS BALANÇO ELETROLÍTICO DIETÉTICO

André Campêlo ARAUJO¹, Carlos Jonatas de Sousa TEIXEIRA*², Fabiana Cristina Belchior de SOUSA³, Roberto Melo MARQUES², Geraldo Fábio Viana BAYÃO⁴, Daniel BIGIOTTI², Leilane Rocha Barros DOURADO², Katiene Régia Silva SOUSA⁵

*autor para correspondência: jonatasteixeiraconectar@gmail.com

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia, Brasil

²Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí, Brasil

³Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

⁴Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá, Porto Grande, Amapá, Brasil

⁵Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, Maranhão, Brasil

Abstract: To correct the basic acid imbalance in chickens during heat stress the manipulation of dietary electrolyte balance has been done. The objective of this study was to evaluate the effect of dietary electrolyte balance on *SLC12A2* gene expression in broiler's gut at 21 days. A total of 245 male Cobb 500[®] chicks in the one to 21 days phase were distributed in a completely randomized design with five dietary electrolyte balance levels (110, 175, 240, 305 and 370 mEq kg⁻¹) and seven replicates of seven birds each. At 21 days, four birds per treatment were slaughtered and gut samples were collected to evaluate the expression of the *SLC12A2* gene by the real-time qRT-PCR method. There was no difference in *SLC12A2* gene expression in the gut of birds. The expression of the *SLC12A2* gene in broiler's gut at 21 days of age is not affected by different levels of dietary electrolyte balance.

Palavras-chave: aves, balanço cátion-ânion, dieta, genômica

Introdução

O principal mecanismo de termólise das aves é a elevação da frequência respiratória (FR), que durante o estresse por calor (EC) pode levar ao desequilíbrio ácido-básico (DAB) e prejudicar a saúde e o desempenho zootécnico. O DAB pode

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

ocorrer por causa da alcalose respiratória, que é instaurada devido à redução excessiva dos níveis de dióxido de carbono (CO₂) sanguíneo, resultante da hiperventilação (Vieites et al., 2011).

A manipulação do balanço eletrolítico dietético (BED) tem sido utilizada para minimizar o DAB e consiste em adicionar substâncias ácidas ou básicas a dieta para disponibilizar sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e o cloro (Cl⁻), por serem eletrólitos fortes perdidos durante o EC (Vieites et al., 2011). O gene *SLC12A2*, que codifica a proteína NKCC1, é ativo no transporte de Na⁺, K⁺ e Cl⁻ e já foi associado a quantidade e percentagem de gordura abdominal em frangos de corte (Zhang et al 2012), porém pouco se sabe sobre a sua regulação em aves, principalmente, submetidas a diferentes níveis de BED.

A dieta pode alterar a expressão de genes, sendo os estudos na área de nutrigenômica realizados no sentido evidenciar estas respostas, objetivando melhorar a saúde e o desempenho de frangos de corte (Sabino et al., 2018). Dessa forma, objetivou-se avaliar a expressão do gene *SLC12A2* no intestino de frangos de corte aos 21 dias alimentados com diferentes níveis de BED.

Material e Métodos

Os procedimentos realizados durante a pesquisa foram aprovados na Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Piauí (CEUA-UFPI) (protocolo n° 075/15). O experimento foi realizado no setor de Avicultura do Colégio Técnico de Bom Jesus (CTBJ-UFPI), município de Bom Jesus-PI. Utilizou-se 245 pintainhos Cobb 500[®], machos, na fase de um a 21 dias distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco níveis de BED (110, 175, 240, 305 e 370 mEq kg⁻¹) e sete repetições de sete aves cada.

Os níveis de BED das dietas experimentais foram obtidos pela inclusão de bicarbonato de sódio (NaHCO₃), carbonato de potássio (K₂CO₃) e cloreto de amônio (NH₄Cl) em substituição ao inerte de dietas basais, a base de milho e farelo de soja,

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

formuladas para atender as exigências nutricionais de acordo com (Rostagno et al. 2011). O programa alimentar foi dividido em fase pré-inicial (um a sete dias) e fase inicial (oito a 21 dias).

Aos 21 dias, quatro animais de cada tratamento foram abatidos e coletaram-se amostras do intestino, que foram armazenadas em micro tubos de dois mL contendo RNAHolder[®] (BioAgency São Paulo, Brasil) e, posteriormente, armazenadas em freezer a -80°C até a extração do RNA. O RNA foi extraído de 100 mg do tecido utilizando o Reagente Trizol[®] Pure Link[®] RNA Mini Kit (Ambion, Life Technologies, USA), de acordo com as recomendações do fabricante, no Laboratório de Patologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA).

Utilizou-se o sistema de detecção de fluorescência GoTaq[®]qPCR Master Mix (Promega Corporation, Madison, WI, USA) nas reações de qRT-PCR em tempo real. Os *primers* utilizados nas reações para a amplificação do *SLC12A2* e do *HPRT1* (controle endógeno) foram desenhados por meio do programa PrimerQuest (www.idtdna.com/Scitools/Applications/PrimerQuest) a partir do banco de dados disponível no GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância com o *proc* MIXED do software SAS (Statistical Analyses System, versão 9.0.) para analisar os dados de Ct e os resultados de expressão relativa foram apresentados em $2^{-\Delta Ct}$.

Resultados e Discussão

Não houve efeito dos níveis de BED na expressão do gene *SLC12A2* no intestino de frangos de corte aos 21 dias de idade (Figura 1).

Promoção e Realização:



Apoio Institucional:



Organização:



CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

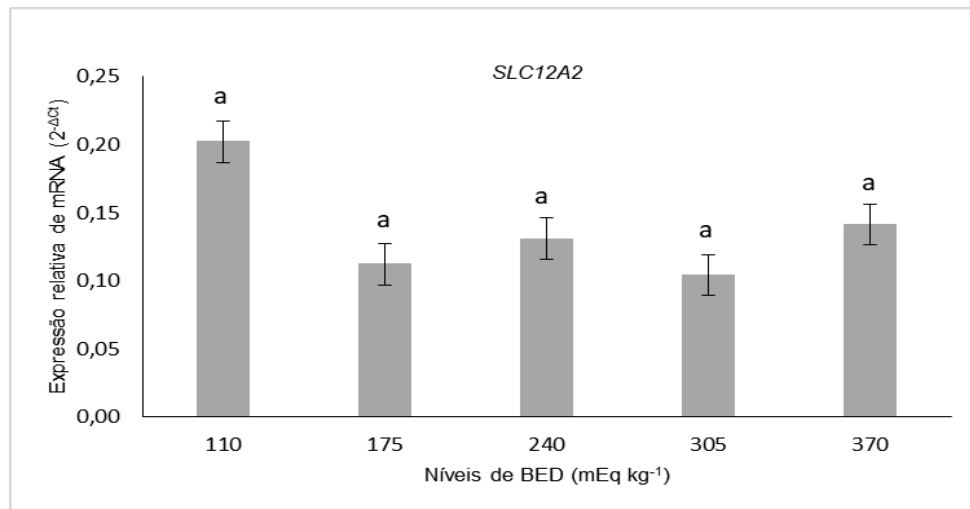


Figura 1 – Expressão relativa de mRNA (2^{-ΔCt}) do gene *SLC12A2* no intestino de frangos de corte aos 21 dias alimentados com níveis de balanço eletrolítico dietético (BED) em mEq kg⁻¹.

A absorção intestinal é uma importante fronteira na assimilação dos nutrientes e é mediada por várias proteínas transportadoras, fazendo do intestino um tecido frequentemente estudado na nutrigenômica. O provável motivo de não ter havido alteração na expressão do gene *SLC12A2* no intestino de frangos de corte alimentados com níveis de BED é a função deste gene, que de acordo com Zhang et al. (2012), está mais relacionada ao crescimento e a deposição de gordura corporal em frangos de corte.

O intestino possui funções muito específicas, a digestão final dos alimentos e absorção de nutrientes (Clavijo e Flórez, 2018), que não estão diretamente ligadas a regulação do balanço de eletrólitos do organismo. Assim, é possível que os genes mais ativos no intestino, além dos genes constitutivos, estejam relacionados com proteínas que atuam na digestão e absorção dos nutrientes, que são funções não atribuídas ao gene *SLC12A2*. No entanto, podem ser interessantes pesquisas sobre a expressão do *SLC12A2* no tecido hepático e renal de aves alimentadas com diferentes níveis de BED, por estes gene estar relacionado ao processo de

Promoção e Realização:

Apoio Institucional:

Organização:

CONSTRUINDO SABERES, FORMANDO PESSOAS E TRANSFORMANDO A PRODUÇÃO ANIMAL

lipogênese no fígado (Zhang et al., 2012) e o renal pelo papel deste órgão na correção do DAB em aves submetidas ao EC, além disso, o *SLC12A2* pode atuar também no transporte de Na⁺, K⁺ e Cl⁻.

Conclusão

A expressão do gene *SLC12A2* no intestino de frangos de corte aos 21 dias de idade não é afetada por diferentes níveis de balanço eletrolítico dietético.

Agradecimentos

Ao CNPq, ao Grupo de Estudos em Nutrição e Produção de Aves e Suínos (GENPAS) do *Campus* Professora Cinobelina Elvas (CPCE-UFPI) e ao Laboratório de Patologia Molecular da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA).

Referências

- Clavijo, V. e Flórez, M. J. V. 2018. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review. *Poultry Science* 97:1006–1021.
- Rostagno, H. S.; Albino, L. F. T.; Donzele, J. L.; Gomes, P. C.; Oliveira, R. F.; Lopes, D. C.; Ferreira, A. S.; Barreto, S. L. T. e Euclides, R. F. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3^a ed. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Sabino, M.; Capomaccio, S.; Cappelli, K.; Verini-Supplizi, A.; Bomba, L.; Ajmone-Marsan, P.; Cobellis, G.; Olivieri O.; Pieramati C. e Tralbalza-Marinucci, M. 2018. Oregano dietary supplementation modifies the liver transcriptome profile in broilers: RNASeq analysis. *Research in Veterinary Science* 117:85-91.
- Vieites, F. M.; Fraga, A. L.; Souza, C. S.; Araújo, G. M.; Vargas Júnior, J. G.; Nunes, R. V. e Corrêa, G. S. S. 2011. Desempenho de frangos de corte alimentados com altos valores de balanço eletrolítico em região de clima quente. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia* 63:441-447.
- Zhang, H.; Hu, X.; Wang, Z.; Zhang, Y.; Wang, S.; Wang, N.; Ma, L.; Leng, L.; Wang, S.; Wang, Q.; Wang, Y.; Tang, Z.; Li, N.; Da, Y. e Li, H. 2012. Selection signature analysis implicates the PC1/PCSK1 region for chicken abdominal fat content. *Plos One* 7:1-14.