

X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Efeito do estresse térmico sobre a expressão de mRNA IGF-I e GHR no fígado de codornas fêmeas de alta e baixa eficiência alimentar¹

Eliane Gasparino², Ana Paula Del Vesco³, Débora Marque Voltolini³, Angélica de Souza Khatlab⁴, Carlos Souza do Nascimento⁵, Simone Eliza Facioni Guimarães⁵

¹Trabalho financiado pelo CNPq

²Departamento de Zootecnia – UEM, Maringá. e-mail: egasparino@uem.br

³Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UEM, Maringá. e-mail: apaulavesco@gmail.com

⁴Graduação em Zootecnia, Departamento de Zootecnia – UEM, Maringá.

⁵Departamento de Zootecnia – UFV, Viçosa.

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão de mRNA IGF-I e GHR no fígado de codornas fêmeas de alta e baixa eficiência alimentar submetidas a dois ambientes. A avaliação da eficiência alimentar (EA) ocorreu no intervalo de 35 a 42 dias de vida. Após o período de avaliação da eficiência alimentar, os animais foram divididas em dois ambientes: conforto e estresse por calor (38°C) de 12 horas. Ao término do período de estresse proposto os animais foram eutanaseados por deslocamento cervical e o fígado foi coletado e armazenado em RNA Holder até o momento da extração de RNA, e subsequente amplificação pela RT-qPCR. Maior expressão de IGF-I foi observada em animais de alta eficiência alimentar (0,28g/g). Não observamos efeito do ambiente sobre a expressão desse gene. Em relação a expressão de GHR, maior expressão foi observada em animais que permaneceram em conforto térmico. Os resultados desse estudo sugerem uma possível relação entre genes do eixo somatotrópico com o fenótipo de eficiência alimentar, e que a temperatura ambiental pode afetar alguns desses genes.

Palavras-chave: eixo somatotrópico, fator de crescimento semelhante a insulina I, receptor do hormônio do crescimento

The effect of heat stress on GHR and IGF-I mRNA expression in the liver of high and low feed efficiency female Japanese quail

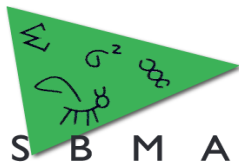
Abstract: The objective of this study was to evaluate the gene expression of IGF-I and GHR in the liver of quails of low and high feed efficiency subjected to two environments. The evaluation of feed efficiency (FE) was in the range of 35 to 42 days of life, and was calculated by the increase in body weight in relation to food intake. After the evaluation of feed efficiency, the animals were divided into two environments: comfort and heat stress (38°C) for 12 hours. At the end of the stress period, the animals were eutanaseados by cervical dislocation and liver was collected and stored in RNA Holder until RNA extraction and subsequent amplification by RT-qPCR. High-FE birds (0.28g/g) had higher IGF-I mRNA expression than low-FE birds. We observed no significant effect of the environment on the IGF-I mRNA expression. Regarding GHR mRNA expression in the liver, we observed higher expression in quails under comfortable conditions. The obtained results suggest a possible correlation between genes from somatotropic axis with feed efficiency phenotype, and that environmental temperature could affect some of these genes.

Keywords: growth hormone receptor, insulin-like growth factor I, somatotropic axis

Introdução

O crescimento é dado pela ação do eixo somatotrópico, com ação principal do hormônio do crescimento (GH). A atividade do GH sobre o crescimento é mediada pela ação do fator de crescimento semelhante a insulina I (IGF-I), a presença de GH no organismo induz a síntese e a liberação deste hormônio, por intermédio do receptor de GH (GHR) (KITA et al., 2005). Segundo SCANES (2009), o IGF-I possui um importante papel na taxa de crescimento de aves, e quanto menor o nível de IGF-I encontrado, pior será o crescimento corporal. Desta forma, neste estudo nós testamos a hipótese de que a eficiência alimentar pode estar relacionada a expressão de genes do eixo somatotrópico, e que o ambiente pode influenciar na expressão de tais genes e assim contribuir para o fenótipo de eficiência alimentar observado. Para isto nós dividimos codornas fêmeas em grupos de alta e baixa eficiência alimentar, e mantivemos esses animais em conforto ou estresse térmico, e avaliamos a expressão de mRNA IGF-I e GHR no fígado destes animais em conforto ou expostas a estresse térmico, e alimentadas com ou sem suplementação de metionina.

Material e Métodos



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

2013

Inicialmente 300 codornas fêmeas de corte, foram criadas convencionalmente até os 28 dias de idade sob as mesmas condições experimentais. Nessa idade as aves foram transferidas para gaiolas individuais, e passaram por um período de adaptação de sete dias. A avaliação da eficiência alimentar ocorreu no intervalo de 35 a 42 dias de vida, e foi calculada pelo aumento do peso corporal em relação ao consumo de alimento. Para isso foi medido o consumo de ração e ganho de peso individuais nesse período. Após o período de avaliação da eficiência alimentar, os animais foram divididos em dois ambientes: conforto e estresse por calor (38°C) de 12 horas.

Após o período de estresse térmico proposto, 10 aves de cada tratamento foram eutanaseadas por deslocamento cervical e o fígado foi coletado e armazenado em RNA Holder® (BioAgency Biotecnologia, Brasil) à - 20°C até o momento da extração de RNA. Seis animais de cada tratamento foram utilizados para as análises de expressão. O RNA total foi extraído com uso do reagente Trizol® (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante, na proporção de 1 mL para cada 100 mg de tecido. Para confecção do cDNA, foi utilizado o kit SuperScript™ III First-Strand Syntesis Super Mix (Invitrogen Corporation, Brasil) de acordo com as normas do fabricante. Para as reações de PCR em tempo real, foi utilizado o corante fluorescente SYBR GREEN (SYBR® GREEN PCR Máster Mix (Applied Biosystems, USA). Os primers utilizados nas reações para a amplificação do GHR e IGF-I foram desenhados a partir das sequências depositadas no Genbank (access n°- NM001001293.1, FJ977570.1, respectivamente). O gene da β -actina (n° de acesso - L08165) foi utilizado como controle endógeno. Todas as análises foram realizadas em um volume de 25 μ L e em duplicatas.

Os resultados foram apresentados como médias e desvios padrões. O procedimento UNIVARIATE foi aplicado para verificar a normalidade de todos os dados, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) (SAS, 2000).

Resultados e Discussão

Após o período de avaliação da eficiência alimentar, as aves foram divididas em um grupo de alta EA e um grupo de baixa EA. Os animais de alta eficiência apresentaram maior peso final, melhor ganho de peso e melhor conversão alimentar, mesmo tendo consumido a mesma quantidade de ração que as codornas de baixa eficiência alimentar (Tabela 1).

Tabela 1- Dados de desempenho das codornas separadas em grupos de alta e baixa eficiência alimentar

	PI (g)	PF (g)	GP (g)	CR (g)	CA (g/g)	EA (g/g)
Alta EA	233,00 \pm 19,3	287,00 \pm 10,9 ^a	54,00 \pm 6,4 ^a	188,70 \pm 13,1	3,54 \pm 0,8 ^b	0,28 \pm 0,02 ^a
Baixa EA	234,00 \pm 15,6	267,00 \pm 12,3 ^b	33,00 \pm 4,2 ^b	185,43 \pm 12,8	5,63 \pm 0,3 ^a	0,18 \pm 0,01 ^b

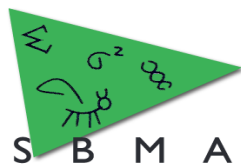
PI: peso inicial, PF: peso final, GP: ganho de peso, CR: consumo de ração, CA: conversão alimentar, EA: eficiência alimentar.

^{a, b} Letras idênticas na mesma coluna indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Maior expressão de IGF-I foi observada em animais de alta eficiência alimentar. Não observamos efeito do ambiente sobre a expressão desse gene. Em relação a expressão de GHR, maior expressão foi observada em animais que permaneceram em conforto térmico (Tabela 2).

Assim como o encontrado em nosso estudo, BECCA VIN et al. (2001) observaram que aves selecionadas para altas taxas de crescimento também observaram maior expressão de mRNA IGF-I e maiores níveis sanguíneos de IGF-I que aquelas selecionadas para menor crescimento. Aves de maior crescimento e/ou crescimento mais rápido apresentam mais e maiores fibras musculares, o que pode ser devido ao fato de que suas células satélites são mais responsivas ao IGF-I, contribuindo para hipertrofia muscular (DUCLOS et al., 1996).

Não encontramos na literatura nenhum trabalho que tenha avaliado a expressão de mRNA GHR em aves expostas ao estresse térmico, entretanto, capacidade de síntese e taxa de síntese proteica diminuídas, menor taxa de crescimento, e menor eficiência na deposição de proteína tem sido observada em animais expostos ao estresse térmico por calor (TEMIM et al., 2000). Portanto, pode ser que haja alguma conexão entre estes resultados, com a menor expressão de mRNA GHR observada em altas temperaturas, já que o GHR é essencial para a ação do IGF-I.



X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

Uberaba, MG – 18 a 23 de agosto de 2013

Tabela 2- Expressão de mRNA IGF-I e GHR no fígado de codornas fêmeas de alta e baixa eficiência alimentar sob duas condições ambientais

		IGF-I	GHR
Alta EA	Conforto	0,16±0,07	0,30±0,06
	Estresse térmico	0,15±0,04	0,11±0,01
Baixa EA	Conforto	0,12±0,03	0,33±0,02
	Estresse térmico	0,11±0,03	0,10±0,04
Efeitos principais			
Eficiência	Alta	0,16±0,05 a	0,20±0,11
	Baixa	0,11±0,03 b	0,22±0,12
Ambiente	Conforto	0,14±0,05	0,31±0,04 a
	Estresse térmico	0,13±0,04	0,10±0,02 b
Probabilidades			
	Eficiência	0,0368	0,3645
	Ambiente	0,6663	<0,0001
	Interação	0,9337	0,2715

Valores são médias com seus desvios padrões.

^{a, b} Letras idênticas na mesma coluna indicam que não há diferença significativa pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Conclusões

Os resultados desse estudo sugerem uma possível relação entre genes do eixo somatotrópico com o fenótipo de eficiência alimentar, e que a temperatura ambiental pode afetar alguns desses genes.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e a CAPES pelos auxilio financeiro.

Literatura citada

- BECCA VIN, C.; CHEVALIER, B.; COGBURN, L.A. et al. Insulin-like growth factors and body growth in chickens divergently selected for high and low growth rate. **Journal of Endocrinology**, v.168, p. 297-306, 2001.
- DUCLOS, M.J.; WILKIE, R.S.; GODDARD, C. Stimulation of DNA synthesis in chicken muscle satellite cells by insulin and insulin-like growth factors: evidence for exclusive mediation by a type-I insulin-like growth factor receptor. **Journal of Endocrinology**, v.128, p.35-42, 1996.
- KITA, K.; NAGAO, K.; OKUMURA, J. Nutritional and tissue Specificity of IGF-I and IGFBP-2 Gene Expression in Growing Chickens- A Review. **Asian - Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 18, n.5, p.747-754, 2005.
- SCANES, C.G. Perspectives o the endocrinology of poultry growth and metabolism. **Gen. Comp. Endocr.** v.163, p.24-32, 2009.
- TEMIM, S.; CHAGNEAU, A.M.; PERESSON, R. et al. Chronic heat exposure alters protein turnover of three different skeletal muscles in finishing broiler chickens fed 20 or 50% protein diets. **Journal of Nutrition**, v.130, p.813-819, 2000.