

EXPRESSÃO DO GENE *FHL1* NO MÚSCULO PEITORAL DE FRANGOS DE CORTE NORMAIS E AFETADOS COM A MIOPATIA *WHITE STRIPING* AOS 35 DIAS DE IDADE

Alexandre Otávio Magro¹, Guilherme Oselame², Suelen Fernandes Padilha³, Adriana Mércia Guaratini Ibelli⁴, Jane de Oliveira Peixoto⁵ e Mônica Corrêa Ledur^{2,5}

¹Graduando em Medicina Veterinária pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense, Campus Concórdia, Bolsista do CNPQ/PIBIC na Embrapa Suínos e Aves, alexandre.magro20@gmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)-CEO, Chapecó, Santa Catarina,

³ Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR,

⁴ Analista da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP,

⁵ Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia, SC.

Palavras-chave: expressão gênica, miopatia peitoral, qPCR, seleção genética.

INTRODUÇÃO

A cadeia de produção avícola é uma das mais importantes para o Brasil. Em 2023, o País esteve entre os três principais produtores mundiais desta proteína, produzindo mais de 14 milhões de toneladas de carne (1). Essa colocação só foi possível por meio de um intenso trabalho de melhoramento animal que vem sendo adotado. Contudo, acredita-se que um dos principais fatores associados ao desenvolvimento de miopatias na avicultura se dá devido ao crescimento acelerado dos frangos modernos (2), sendo que uma das miopatias comumente relatada é a *White Striping* (WS). Embora o processo de desencadeamento desta miopatia não esteja completamente elucidado, acúmulos de gordura e tecido conjuntivo são comumente encontrados entre as miofibras, formando estrias brancas paralelas às fibras musculares no músculo peitoral maior (3). Um dos genes relatado previamente como diferencialmente expresso (DE) (FDR \leq 0,01) entre frangos de corte da linhagem Cobb 500 normais e afetados WS aos 42 dias foi o gene *FHL1* (4). Este gene atua na diferenciação de mioblastos do músculo esquelético de frangos, diminuindo a formação de miotubos e podendo favorecer o desenvolvimento do músculo esquelético (5). Com o objetivo de verificar se o gene *FHL1* está envolvido com o desencadeamento de WS, o perfil de sua expressão foi investigado em frangos de corte normal e afetado com esta miopatia em idade mais precoce (35 dias), por meio de análise de PCR quantitativa (qPCR).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 frangos de corte da linhagem paterna TT desenvolvida pela Embrapa Suínos e Aves, aos 35 dias. Após o abate, foram coletadas amostras de tecido do músculo peitoral maior de 10 frangos normais e 10 frangos afetados por WS. A extração do RNA foi conduzida usando o reagente Trizol (Invitrogen), conforme o protocolo do fabricante. A integridade do RNA foi testada em gel de Agarose (1,5%) e utilizou-se o espectrofotômetro Biodrop (Biochrom) para a verificação da concentração do RNA. Todas as amostras com razões de 260/280nm entre 1,7 a 2,0 foram selecionadas para análises. Em seguida, a síntese de cDNA foi conduzida utilizando o kit SuperScript® III First-Strand Synthesis SuperMix (Invitrogen). Para a análise da PCR quantitativa (qPCR), o gene utilizado foi o *FHL1* sendo o gene *RPL5* empregado como gene de referência (4). Os iniciadores para cada gene foram desenhados a partir da sequência do genoma aves (*Gallus gallus*) depositada no GenBank e Ensembl. A reação foi realizada com mastermix 1X (GoTaq qPCR Master Mix 2x, Promega) conduzida no equipamento QuantStudio 6 Flex (Applied Biosystems). Uma concentração de 0,16 μ M de cada primer Forward e Reverse (4), 2 μ L de cDNA em uma diluição de 1:10 e água ultrapura foi feita para perfazer 15 μ L da reação total. As reações de qPCR foram feitas em duplicatas e os valores de Ct (*cycle threshold*) foram obtidos e, posteriormente, gerado o $2^{-\Delta\Delta Ct}$ de cada amostra. Em seguida, os dados foram transformados em log₂ da expressão (log₂FC) e foi realizada análise estatística utilizando o teste não paramétrico de Mann-Whitney, classificando o gene como diferencialmente expresso (DE) quando $p \leq 0.05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos relatam que o aparecimento de miopatias em frangos de corte é devido à rápida taxa de crescimento e elevado rendimento de carne do peito (3), sendo que alguns genes já foram associados a ocorrência da miopatia WS (4). O gene *FHL1* já foi estudado em diversas espécies, onde este participa diretamente de funções biológicas relacionadas ao desenvolvimento do músculo esquelético (4,5,6). A superexpressão deste gene pode favorecer a expressão de fibra lenta oxidativa e aumentar a fusão de mioblastos, levando ao desenvolvimento de miotubos hipertróficos, causando hipertrofia muscular (6,7). Em estudo com frangos de linhagem comercial de 42 dias de idade, o gene *FHL1* apresentou-se superexpresso em animais afetados com WS (4), o que poderia estar relacionado às alterações nas fibras musculares do peito. Entretanto, neste estudo, com frangos da linhagem TT aos 35 dias de idade, esse padrão não foi observado, de modo que não foi possível encontrar diferença de expressão do *FHL1* entre os grupos normal (log₂FC 17.2 \pm 0.528) e afetado (log₂FC 17.4 \pm 0.771) com WS ($p > 0,05$). Acredita-se

que isso se deva ao fato da utilização de frangos em idade mais jovem e com presença leve de WS, podendo ainda haver um crescimento da musculatura peitoral maior, em que o gene *FHL1* poderia apresentar uma expressão superior, assim como a encontrada nos frangos de 42 dias por Marchesi et al.(4).

CONCLUSÕES

O gene *FHL1* não foi diferencialmente expresso entre frangos de corte normais e afetados com WS aos 35 dias de idade, indicando que este gene não está diretamente relacionado com o desencadeamento desta miopatia na idade estudada.

REFERÊNCIAS

1. ABPA, 2024. Disponível em: <https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/04/ABPA-Relatorio-Anual-2024_capa_frango.pdf>. Acesso em 7 de junho 2024.
2. KUTTAPPAN, V. A., HARGIS, B. M., OWENS, C. M. White striping and woody breast myopathies in the modern poultry industry: a review. **Poultry Science**. v. 95, c. 11, p. 2724-2733, 2016.
3. ADABI, S.G; SONCU, E. D. White striping prevalence and its effect on meat quality of broiler breast filets under commercial conditions. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 103, c. 4, p. 1060-1069, 2019.
4. MARCHESI, J. A. P., et al. Whole transcriptome analysis of the pectoralis major muscle reveals molecular mechanisms involved with white striping in broiler chickens. **Poultry Science**. v. 98. c. 2, p. 590-601, 2019.
5. Cowling, B. S., McGrath, M. J., Nguyen, M. A., Cottle, D. L., Kee, A. J., Brown, S., Schesl, J., Zou, Y., Joya, J., Bönnemann, C. G., Hardeman, E. C., & Mitchell, C. A. (2008). Identification of FHL1 as a regulator of skeletal muscle mass: implications for human myopathy. **Journal of Cell Biology**, v. 183, c. 6, p. 1033-1048.
6. HAN, S. et al. FHL1 regulates myoblast differentiation and autophagy through its interaction with LC3. **Journal of Cellular Physiology**. v. 235. c. 5. Maio de 2020. p. 4667-4678.
7. Loughna, P. T., Mason, P., Bayol, S., & Brownson, C. (2000). The LIM-Domain Protein FHL1 (SLIM 1) Exhibits Functional Regulation in Skeletal Muscle. **Molecular Cell Biology Research Communications**, v. 3 c. 3, p. 136-140.

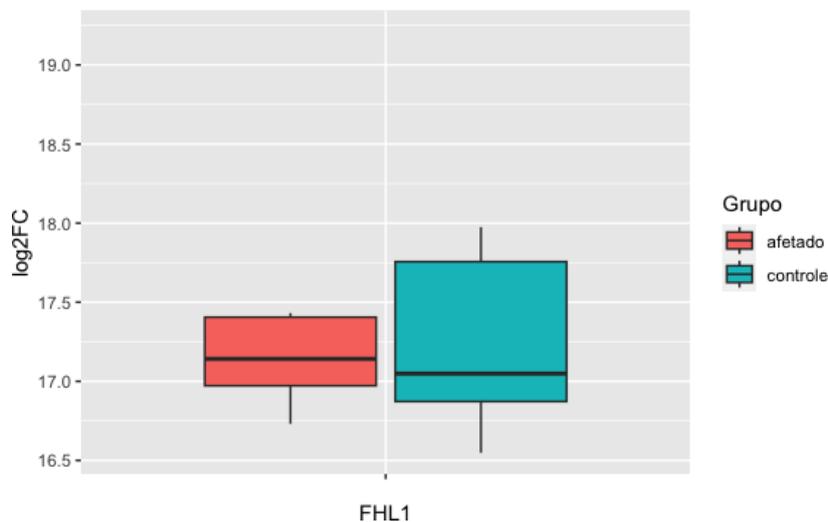


Figura 1. . Perfil de expressão do gene *FHL1* (log2FC) em frangos de corte normais (controle) e afetados com a miopatia peitoral white striping aos 35 dias de idade.