

NUTRIGENÔMICA E NUTRIGENÉTICA: FACES EMERGENTES DA NUTRIÇÃO MOLECULAR PARA MELHORAR A SAÚDE E A PRODUÇÃO DE AVES

Dra. Maria Constanza Rodriguez, Departamento de Pesquisa da Alltech Brasil.

Profissionais das áreas de nutrição e melhoramento animal sempre debateram sobre o que representa a maior porcentagem de impacto na produção animal, a genética ou a nutrição. A verdade é que há grande dificuldade em se separar a nutrição da genética, uma vez que ambas estão sempre juntas. A Nutrigenômica e a Nutrigenética são dois campos da ciência que, apesar de terem abordagens distintas, possuem um único objetivo possibilitando a análise de ambos os fatores ao mesmo tempo. A abordagem Nutrigenômica visa desvendar os efeitos da dieta na saúde e produção. Já a Nutrigenética por sua vez, avalia como a composição genética de um indivíduo responde a dieta. Ambas possuem o objetivo comum de melhorar a saúde e a produtividade animal através de dietas personalizadas e são consideradas abordagens poderosas para desvendar a complexa relação entre as moléculas nutricionais, os polimorfismos genéticos e o sistema biológico como um todo.

Desde os tempos do renomado físico grego, Hipócrates, a nutrição tem apresentado claramente um papel predominante e reconhecido para a saúde. Contudo, com o tempo, a nossa compreensão sobre a dieta e seus efeitos evoluiu muito passou de associações leigas a fatos conclusivos e comprovados. O advento da ciência moderna levou a percepção de que não só alguns nutrientes são essenciais, mas que suas quantidades específicas também são muito importantes (MUTCH *et al.*, 2005). Dessa forma, o desenvolvimento animal é claramente definido pelas influencias ambientais (ex: dieta, atividade física, condições climáticas etc) e pela hereditariedade, indicando que ambos os aspectos devem ser considerados a fim de melhorar a saúde e o desempenho. Apesar disso já estar bem estabelecido, os delineamentos experimentais são normalmente específicos a apenas um fator, gene ou ambiente que são analisados isoladamente.

INTRODUÇÃO

Apesar de todas as células do nosso organismo apresentarem um conjunto completo de genes idênticos, apenas uma fração desses genes está expressa ou “ligada” em cada tipo celular. É o subconjunto desses genes que estão expressos que fornece a cada célula

a sua função específica e as suas características estruturais. Por esse motivo, por exemplo, as células hepáticas são totalmente diferentes, em sua estrutura e função, dos melanócitos na pele. Enquanto os hepatócitos apresentam funções como metabolização de substâncias e produção da bÍlis, os melanócitos secretam melanina, sendo responsáveis pela coloração da pele. Quando um gene está ativado, regulado positivamente, a maquinaria celular começa a transcrevê-lo em outro tipo de material genético chamado RNA mensageiro (mRNA). Alguns desses mRNA contêm o “código” ou a mensagem que será então traduzida em uma ou parte de uma proteína. As proteínas, por sua vez, apresentam diferentes funções no organismo, algumas estão envolvidas em processos metabólicos, outras em estruturais, de transporte, regulação ou comunicação. Dessa forma, tipos celulares distintos são regulados e expressam diferentes proteínas que darão a identidade a cada célula, tecido e órgão do nosso corpo. O fluxo da informação do DNA para o RNA e então para a proteína é conhecido como dogma central da biologia (WATSON & CRICK, 1953) (Figura 1).

A genômica analisa milhares de genes, ao invés de um só, utilizando técnicas como os microarranjos aliadas à bioinformática que possibilita a análise simultânea de toda essa informação para poder armazenar, manejar, integrar e interpretar o grande volume de dados. Uma vez que a variação genética pode alterar a expressão dos genes, é importante compreender melhor os genes associados ao controle da ingestão de alimento, balanço energético, imunidade, reprodução e uma série de outros aspectos que influenciam direta ou indiretamente a produção e saúde animal. A compreensão de como a expressão gênica é regulada pelo estímulo nutricional e hormonal oferece novas perspectivas na atual nutrição de aves, além de práticas de acasalamento e manejo. Para a análise de seqüências usamos seqüenciamento, para atividade dos genes transcriptoma, para análise de proteínas proteômica, e a metabolômica para o estudo dos metabólitos.

No caso da avicultura, estas modernas tecnologias foram enriquecidas pelos dados obtidos através do projeto do seqüenciamento do genoma da galinha (*Gallus gallus*). A primeira versão completa deste genoma revelou um genoma de tamanho relativamente pequeno de 1 bilhão de pares de bases, como das aves em geral e a presença de aproximadamente 20-23.000 genes (HILLIER *et al.*, 2004). A disponibilização deste genoma levou a comunidade de pesquisa em avicultura a um novo patamar, possibilitando uma abordagem mais integrada do metabolismo para explorar o papel da dieta na produção e nas doenças desta espécie. Essa grande quantidade de informação

possibilitou não apenas o desenvolvimento ativo de plataformas analíticas completas, mas também programas apropriados para armazenamento, organização e análise dos dados, além de revolucionar a nossa abordagem para compreensão da saúde e das características de desempenho de aves.

APLICAÇÕES DA GENÔMICA FUNCIONAL NA AVICULTURA

Tecnologias recentes possibilitaram o desenvolvimento de um novo campo de pesquisa chamado genômica funcional. A genômica funcional estuda como o genoma de um organismo regula a homeostase e responde aos estímulos, possibilitando assim uma melhor compreensão de sua interação com seu ambiente (ASHWELL, 2006). Desta forma, este campo possui importantes aplicações como ferramenta para o estudo da interação de um organismo com sua dieta. Há uma série de trabalhos que utilizam essas tecnologias de alta resolução para a avicultura um dos motivos é pela sua importância na alimentação humana. Uma das principais fontes de proteína para a maior parte das populações humanas é fornecida através da galinha doméstica (*Gallus gallus*). Sua grande importância econômica faz com que seja foco de numerosos projetos de pesquisa (WICKER, *et al.*; 2005).

1) NUTRIGENÔMICA

O objetivo da Nutrigenômica é fazer uma extrapolação de como a nutrição induz as alterações na expressão gênica afetando as características de desempenho e saúde (Figura 2). O enfoque é o efeito dos componentes bioativos dos alimentos no genoma, transcriptoma, proteoma e metaboloma. Através da determinação do mecanismo do efeito do nutriente ou efeito do regime nutricional a Nutrigenômica busca definir a relação entre estes componentes específicos ou dietas e características de desempenho. As novas tecnologias como a PCR tempo real e os microarranjos tornam possível mensurar a expressão gênica desde um único gene até um genoma inteiro. A Nutrigenômica é uma ciência nova, que ainda está engatinhando, mas cresce rapidamente.

Micronutrientes

Zinco (Zn)

O zinco é um nutriente importante no metabolismo animal. Ele está presente em todas as células e participa de uma grande variedade de processos metabólicos devido a seu papel catalítico em mais de 200 enzimas. Estas enzimas estão envolvidas na síntese e/ou degradação de carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (KAIM & SCHWEDERSKI, 1994). Em aves, serve não apenas como nutriente, mas também pode ser utilizado como suplemento na dieta para manipulação do sistema reprodutivo da ave. É particularmente importante em poedeiras por ser um componente de uma série de metaloenzimas como a anidrase carbônica a qual é essencial para a formação da casca do ovo. Apresenta um papel importante também na resposta e cicatrização de feridas. Foi um dos primeiros nutrientes que regulam a expressão gênica a ser estudado (BLANCHARD & COUSINS, 1996). A sua deficiência já foi bem caracterizada clinicamente e está associada com alterações na expressão de uma série de genes inclusive o da colecistocinina, uroguanilina e ubiquinona óxido redutase (BLANCHARD & COUSINS, 2000).

Selênio (Se)

O selênio (Se) é um microelemento mineral que apresenta importantes efeitos antioxidantes. Como co-fator da enzima glutatona peroxidase está diretamente envolvido na decomposição do peróxido de hidrogênio. Atualmente mais de 20 proteínas que contém ou utilizam o Se como co-fator já foram identificadas. A eficiência do sistema antioxidante apresenta efeitos importantes na saúde e no desempenho de frangos de corte, uma vez que o estresse oxidativo contribui para o dano e a morte celular. A importância da fonte, forma e dos níveis do selênio na dieta de aves já foi demonstrada através de estudos de expressão gênica. DIETRICH *et al.* (2009) compararam aves alimentadas com baixos e altos níveis de selênio na dieta e demonstraram que os níveis de selênio alteraram a expressão de vários genes no fígado desses animais, sendo que o grupo que recebeu uma suplementação de selênio proveniente de leveduras enriquecidas com esse mineral apresentaram uma maior expressão dos genes Gpx-1 e Gpx-4 das proteínas glutatona peroxidase dependentes de NADPH indicando um maior status de Se. Além disso, 24 proteínas relacionadas ao ciclo da ubiquitina foram reguladas negativamente. As vias proteolíticas da ubiquitina reconhecem proteínas modificadas oxidativamente ou danificadas de forma que sua

regulação negativa pode ser indicativa de uma possível redução da degradação protéica no grupo suplementado. POWER (2009) em seu estudo com matrizes de frango de corte observou que a fonte de selênio na dieta ocasionou mudanças transcricionais em genes ligados a fertilidade. O grupo suplementado com selênio proveniente de levedura enriquecida com este mineral apresentou uma maior expressão de genes importantes para as vias ligadas ao hormônio folículo estimulante (FSH) e a síntese protéica no oviduto.

Minerais e Vitaminas

A dieta materna durante a gestação influencia o aparecimento de diferentes doenças e características relacionadas a saúde da prole. REBEL *et al.* (2006) investigaram a influencia da dieta de galinhas nos padrões de expressão gênica intestinal dos descendentes. As galinhas receberam uma dieta comercial suplementada ou não com minerais e vitaminas durante um período de cerca de 11 semanas. Os descendentes de ambos os grupos não apresentaram alterações em sua taxa de crescimento ou conversão alimentar. Foram analisados os padrões de expressão gênica intestinais desses descendentes aos 3 e 14 dias de idade através de um microarranjo de cDNA intestinal. Foram identificados 11 genes com diferença em sua expressão entre os dois grupos tanto aos 3 quanto aos 14 dias de vida. Esses genes também se expressaram diferentemente em relação ao intestino imaturo e desenvolvido, esses genes afetam o *turnover* intestinal, a proliferação e o desenvolvimento, metabolismo e absorção de nutrientes. Para confirmar se essas diferenças na expressão gênica estavam relacionadas ao desenvolvimento intestinal, eles investigaram sua proliferação, a qual também demonstrou diferenças entre os grupos com 3 e 14 dias. Os resultados indicaram que a alimentação das matrizes influencia a funcionalidade intestinal da prole aos 3 e 14 dias.

Macronutrientes

Alimentos Orgânicos

GREEFF *et al.* (2009) estudaram pela primeira vez as diferenças entre aves alimentadas com dietas contendo ingredientes produzidos organicamente ou na forma convencional e encontraram diferenças significativas em sua expressão gênica. Os animais que receberam alimentos convencionais apresentaram uma menor expressão de 5 genes envolvidos diretamente na biosíntese do colesterol (acetoacetil-CoA sintase,

isopentenil-PP isomerase, squaleno epoxidase, -colesterol-C4 metil oxidase e 17 β -hidroxiesterol deidrogenase) e maior expressão de outros 2 genes indiretamente envolvidos (insig-1 e P450). Essas alterações reduziram a síntese do colesterol no jejuno nos animais alimentados com as dietas convencionais.

Subproduto de CLA

Já se sabe que o ácido linoléico conjugado (CLA) apresenta uma série de benefícios para a saúde como efeitos anticarcinogênicos, antiaterogênicos, antidiabéticos e imunostimulantes. SUKSONBAT *et al.* (2006) encontraram níveis mais altos de CLA e ácidos graxos nos lipídeos da gema de ovo a medida que o CLA da dieta aumentou. KIM *et al.* (2010) avaliaram se a suplementação de subproduto de CLA (CBP) na dieta aumentaria seu acúmulo no músculo de frangos de corte e sua expressão lipogênica no fígado. Um total de 456 pintos com 1 dia de idade foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, cada um recebendo 2% de suplementação durante 4 semanas: óleo de soja (controle), óleo de cártamo, CLA purificado e CBP. Pouca alteração no desempenho dos frangos foi observada durante o experimento. O resultado sugeriu que o CBP poderia ser uma fonte eficiente para promover o acúmulo nos músculos sem induzir a lipogênese no fígado ou comprometer o desempenho e a qualidade da carne dessas aves, o que foi avaliado através dos níveis de expressão gênica da proteína 1 de ligação aos elementos regulatórios de esterol (SREBP1), assim como outros genes alvo como o da sintetase de ácidos graxos (FAS) e a carboxilase acetil coenzima A (ACC). O CBP pode ser considerado uma fonte dietética eficiente que promove o acúmulo de CLA nos músculos em frango de corte sem indução de lipogênese hepática.

2) PROTEÔMICA

Devido à grande dificuldade na padronização das metodologias que permitam a comparação entre seus resultados, as técnicas para o estudo do proteoma ainda não estão tão popularizadas como as técnicas utilizadas no estudo do transcriptoma. Contudo, mesmo assim, há um número crescente de estudos buscando identificar respostas celulares a constituintes dietéticos, bem como seus alvos moleculares através da proteômica. Uma série de trabalhos com genética nutricional utilizaram a proteômica em animais de interesse zootécnico.

CORZO *et al.* (2006) avaliaram o efeito de dietas com diferentes níveis de metionina na expressão protéica de músculos esqueléticos de frangos de corte. Eles não

identificaram nenhuma proteína exclusiva nas aves alimentadas com os níveis adequados de metionina e frisaram a importância de mais estudos em relação as proteínas expressas apenas nos animais que receberam a dieta deficiente em metionina. GUÉRIN-DUBIARD *et al.* (2006) analisaram proteínas na clara de ovo através de eletroforese bidimensional e encontraram 69 proteínas principais e 16 proteínas secundárias das quais duas nunca haviam sido detectadas na clara de ovo. MOLETTE *et al.* (2006) avaliaram a resposta de duas linhagens genéticas de perus, Label Rouge de crescimento lento e BUT9 com crescimento rápido, submetidas ao processo artificial de geração de carne PSE. Eles analisaram a expressão de uma série de proteínas a fim de determinar se aves de crescimento rápido foram mais susceptíveis a síndrome PSE, contudo não identificaram diferenças entre as linhagens e sugeriram a realização de novos estudos em condições comerciais.

Apesar das dificuldades encontradas na realização de estudos com proteômica há uma tendência de que haja um aumento gradativo na utilização destas técnicas na área zootécnica. O genoma humano, por exemplo, apresenta cerca de 30 mil genes identificados, mas é capaz de expressar mais de 100 mil proteínas o que demonstra a importância da integração de técnicas transcriptômicas, como os microarranjos, com outras utilizadas no estudo das proteínas.

A genômica funcional apresenta grande potencial no redirecionamento da nutrição de aves para uma abordagem mais personalizada, nas quais as dietas poderão ser direcionadas em função das raças, linhagens ou mesmo grupos com características semelhantes.

CONCLUSÃO

O reconhecimento de que os nutrientes possuem a habilidade de interagir e modular os mecanismos moleculares responsáveis pelas funções fisiológicas do organismo levou a uma revolução no campo da nutrição. A grande complexidade dos alimentos e do organismo animal demonstra que os nutricionistas não podem mais trabalhar isoladamente. Ao invés disso, é necessário que profissionais da biologia molecular, computação, matemática e outras áreas afins trabalhem juntos para compreender como o ambiente interage com o nosso DNA. Essas dificuldades já podem ser contornadas através de tecnologias modernas que consideram estes fatores simultaneamente. As abordagens holísticas poderão melhorar a nossa compreensão sobre as complexas

interações biológicas que controlam as características e a variabilidade de animais importantes para a alimentação humana, como as aves.

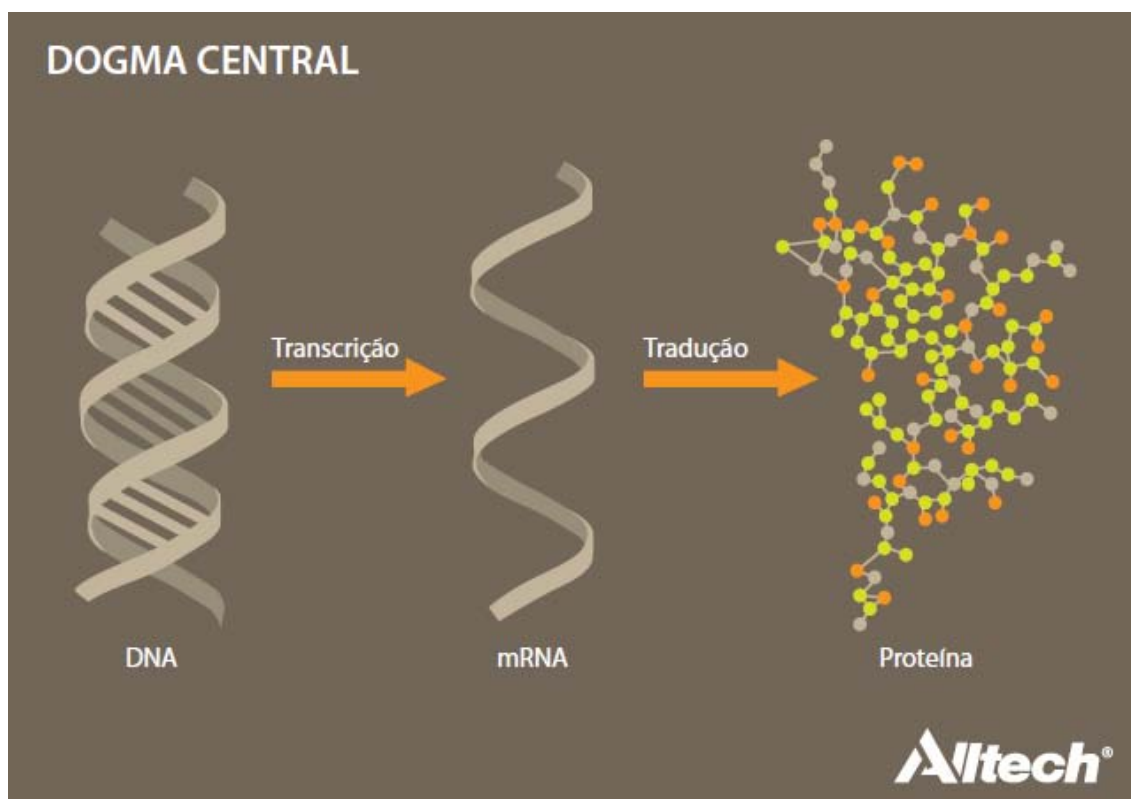


Figura 1. Dogma central da Biologia (Watson & Crick, 1953). Elaboração: Alltech

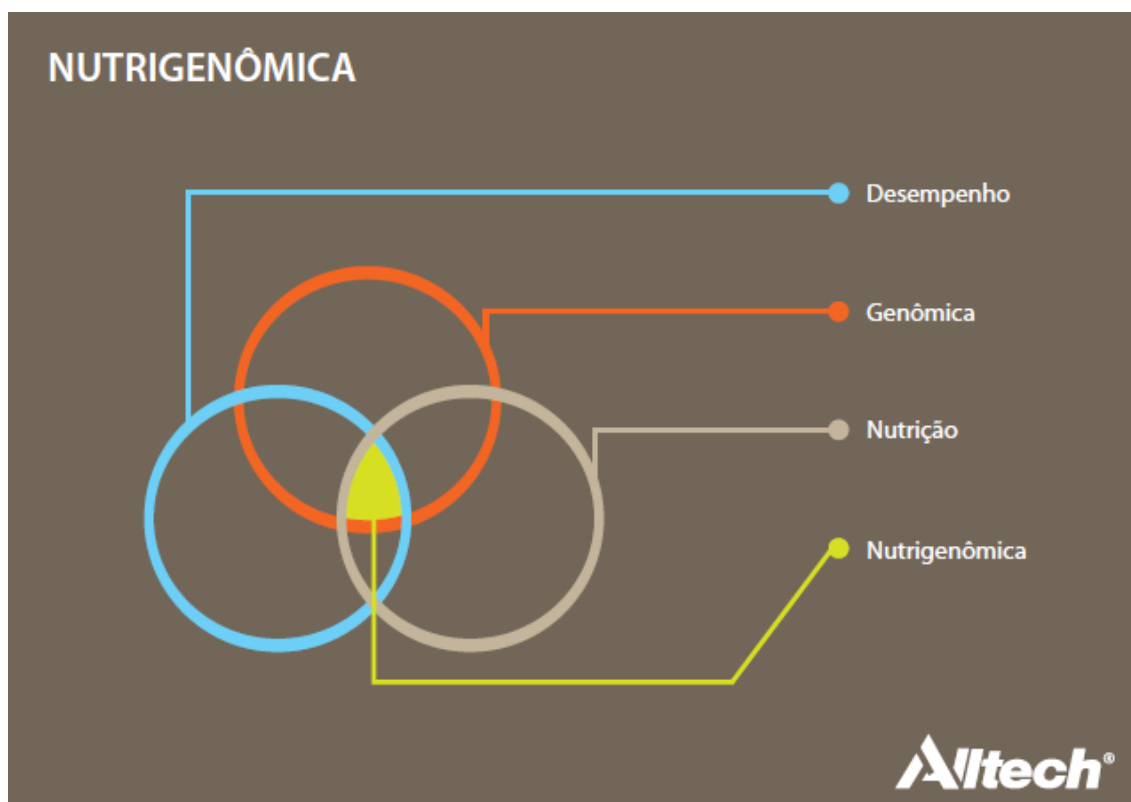


Figura 2. Representação esquemática centralizando a Nutrigenômica na interação Nutrição, Genômica e desempenho. Elaboração: Alltech

Referências

ASHWELL, C. M. **Functional genomics: the beginning of a new age in nutritional research.** In: Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industry: Alltech's 22th International Symposium, 2006.

BLANCHARD, R.K.; COUSINS, R.J.. **Differential display of intestinal mRNAs regulated by dietary zinc.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:6863-6868, 1996.

BLANCHARD, R.K.; COUSINS, R.J. **Upregulation of rat intestinal uroguanylin mRNA by dietary zinc restriction.** Am. J. Physiol. 272(5 Pt 1):G972-978, 2000.

CORZO, A.; KIDD, M. T.; DOZIER, W. A.; SHACK, L. A. and BURGESS, S. C. **Protein expression of pectoralis major muscle in chickens in response to dietary methionine status.** Br. J. Nutr., (95):703-708, 2006.

DESERT, C.; GUÉRIN-DUBIARD, NAU, C. F.; JAN, G.; VAL, F. and MALLARD, J. **Comparison of Different Electrophoretic Separations of hen egg white proteins.** J. of Agric. and Food Chemistry, 49 (10): 4553-4561, 2001.

DIETRICH, B.; BUCHER, B.; WENK, C. **Microarray analysis of gene expression in poultry fed low and adequate selenium diets.** In: Science and Technology in the Feed Industry: Poster of Alltech's 25th International Symposium, 2009.

GREEFF, A.; HUBER, M.; VAN DE VIJVER, L.; SWINKELS, W.; PARMENTIER, H.; REBEL, J. **Effect of organically and conventionally produced diets on jejunal gene expression in chickens.** Br. J. Nutr., 1-7, 2009.

GUERIN-DUBIARD C., PASCO M., MOLLE D., DESERT C., CROGUENNEC T., NAU F. **Proteomic analysis of hen egg white.** J. Agric Food Chem., (54):3901-3910, 2006.

HILLIER, L. W. *et al.* **Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution** Nature. 432(7018):695-716, 2004.

KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B. **"Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life"**, 1st ed. John Wiley & Sons, USA, 1994.

KIM, J. H.; JEONG, W. S.; KIM, I. H *et al.* **Effect of an oil byproduct from conjugated linoleic acid (CLA) purification on CLA accumulation and lipogenic gene expression in broilers.** J Agric Food Chem. 57(6):2397-2404, 2009.

MOLETTE C, SÉRIEYE V, ROSSIGNOL M, BABILÉ R, FERNANDEZ X, RÉMIGNON H. **High postmortem temperature in muscle has very similar consequences in two turkey genetic lines.** Poultry Sci., 85(12):2270-2277, 2006

MUTCH, D. M.; WAHLI, W.; WILLIAMSON, G. **Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition.** The FASEB Journal. Vol (19) 1602-1616, 2005.

POWER, R. **Nutrigenomics: Practical applications explaining the effects of selenium at a molecular level on hen reproductive performance.** In: Science and Technology in the Feed Industry: Poster of Alltech's 25th International Symposium, 2009.

REBEL, J. M.; HEMERST, S. V.; HOEKMAN, A. J. *et al.* **Maternal diet influences gene expression in intestine of offspring in chicken (*Gallus gallus*).** Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 145(4):502-8. 2006.

SCHWERIN, M.; DORROCH, U.; BEYER, M.; SWALVE, H.; METGES, C.C.; JUNGHANS, P. **Dietary protein modifies hepatic gene expression associated with oxidative stress responsiveness in growing pigs.** Faseb J., 16(10):1322-1324, 2002.

SUKSOMBAT, W.; SAMITAYOTIN, S.; LOUNGLAWAN, P. **Effects of Conjugated Linoleic Acid Supplementation in Layer Diet on Fatty Acid Compositions of Egg Yolk and Layer Performances** Poultry Science 85:1603–1609, 2006.

WATSON, J.D.; CRICK, F.H. **Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid.** Nature, 171 (4361): 964–967, 1953.

WICKER, T.; ROBERTSON, J. S. *et al.* **The repetitive landscape of the chicken genome.** Genome Research, 15: 126–136, 2005.

Biological Trace Element Research Volume 101, Number 2, 147-163, Original Articles **Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction** S. Y. Park, S. G. Birkhold, L. F. Kubena, D. J. Nisbet and S. C. Ricke. 2004.