

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA IDENTIFICAÇÃO DE GENES
CANDIDATOS RELACIONADOS COM METABÓLITOS PROTEICOS EM
OVINOS SANTA INÊS**

TAIANA CORTEZ DE SOUZA

**SALVADOR – BAHIA
ABRIL – 2019**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA IDENTIFICAÇÃO DE GENES
CANDIDATOS RELACIONADOS COM METABÓLITOS PROTEICOS EM
OVINOS SANTA INÊS**

TAIANA CORTEZ DE SOUZA

Zootecnista

**SALVADOR – BAHIA
ABRIL – 2019**

TAIANA CORTEZ DE SOUZA

**ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA IDENTIFICAÇÃO DE GENES
CANDIDATOS RELACIONADOS COM METABÓLITOS PROTEICOS EM
OVINOS SANTA INÊS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração:
Melhoramento Animal.

Orientador: Prof. Dr. Luís Fernando Batista Pinto

**SALVADOR – BAHIA
ABRIL – 2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729a Souza, Taiana Cortez de.

Associação genômica ampla para identificação de genes candidatos relacionados com metabólitos proteicos em ovinos Santa Inês / Taiana Cortez de Souza. Salvador, 2019.

62 f. : il.

Orientador: Luís Fernando Batista Pinto.

Dissertação (Mestrado – Zootecnia) -- Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2020.

1. Albumina. 2. Cordeiros. 3. Metabolismo. 4. Proteína. 5. Uréia. I. Pinto, Luís Fernando Batista. II. Título.

CDU: 591.01: 636.3

**ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA PARA IDENTIFICAÇÃO DE
GENES CANDIDATOS RELACIONADOS COM METABÓLITOS
PROTEICOS EM OVINOS SANTA INÊS**

Taiana Cortez de Souza

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

Salvador, 29 de abril de 2019

Comissão examinadora:



Dr. Luis Fernando Batista Pinto
UFBA
Orientador / Presidente



Dr. Gregório Miguel Ferreira de Camargo
UFBA



Dr. Júlio César de Carvalho Balieiro
USP

BIOGRAFIA DA AUTORA

Taiana Cortez de Souza, filha de Ricardo Antonio Appolinário de Souza e Vera Regina Cortez de Souza, nascida em 31 de março de 1993, na cidade de Salvador, estado da Bahia. Concluiu o curso de formação geral em 2010, e iniciou o curso de Zootecnia em 2011, concluindo a graduação em 2016. Em 2017 ingressou no programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela Universidade Federal da Bahia, como bolsista CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior), sob a orientação do Professor Dr. Luís Fernando Batista Pinto, defendendo a dissertação intitulada “Associação Genômica Ampla para Identificação de Genes Candidatos Relacionados com Metabólitos Proteicos em Ovinos Santa Inês” em abril de 2019.

“A persistência é o caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

“As grandes ideias surgem da observação dos pequenos detalhes”.
(Augusto Cury)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por todas as bênçãos concedidas a mim até hoje, saúde, sabedoria e fé para continuar sempre em frente e alcançar meus objetivos e sonhos.

Aos meus pais Ricardo Antonio e Vera Cortez por me apoiarem sempre dedicando amor e carinho incondicionais, e acima de tudo me fazendo ser uma pessoa cada vez melhor.

Sou grata aos irmãos que tenho Guido, Gabriela e Tatiana que estão ao meu lado em todos os momentos e juntos compartilhamos de muitos ideais, força e incentivo para continuar com nossos sonhos. Em especial a Tatiana que além de tudo é a minha maior companheira e incentivadora nos estudos.

Obrigada aos meus familiares que mesmo de longe estão sempre apoiando e incentivando nos estudos.

Sou grata ao meu orientador Dr. Luís Fernando Batista Pinto que vem me acompanhando desde o meu ingresso na graduação em Zootecnia, e continuou sendo meu orientador no mestrado, obrigada pela dedicação, conselhos e atenção em cada momento dessa etapa na pós-graduação.

Obrigada aos professores Raphael Bernal e Gregório de Camargo por todo tempo dedicado a me explicar e auxiliar no meu projeto de pesquisa, enriquecendo meu conhecimento e sanando muitas dúvidas.

Agradeço a todos os docentes da pós-graduação em Zootecnia da UFBA por contribuírem com meu aprendizado e dessa forma me tornando uma profissional cada vez melhor.

Sou grata pela experiência na ESALQ – USP, onde obtive conhecimentos e dados do projeto. Ao professor Dr. Gerson Barreto Mourão por me receber e auxiliar no que eu precisasse, e ao Gregori Ravadosky por me auxiliar nas análises.

A todos os colegas que fiz durante essa etapa, cada um contribuindo de uma forma única, em especial a Larissa Kiana que construí uma amizade desde a graduação na UFBA.

Obrigada a Geraldo Melo pela amizade, que sempre está disponível para me ajudar e compartilhar conhecimentos.

Agradeço as minhas amigas Gabriela Meneghetti e Maria Clara Fagundes e meus amigos Michel Martiniano e Vitor Maciel pela amizade, dedicação, desabafos e alegrias que compartilhamos sempre juntos.

Agradeço a todos os funcionários da UFBA por serem prestativos e dispostos a ajudar no que for preciso.

Sou grata a todas as pessoas que contribuíram em minha vida de alguma forma para que eu chegasse até aqui.

Muito Obrigada!

LISTA DE TABELAS**Associação genômica ampla para identificação de genes candidatos
relacionados com metabólitos proteicos em ovinos Santa Inês**

	Página
Tabela 1 – Tabela 1 – Tamanho amostral (N), média, desvio-padrão (DP), mínimo, máximo, número de grupos de contemporâneos (GC), herdabilidade (h ²) e seu erro-padrão (SE), para as dosagens de ureia e albumina na raça Santa Inês.	18
Tabela 2 - Regiões genômicas que explicaram pelo menos 1% da variância genética (V%) de dosagem de albumina em ovinos Santa Inês	20
Tabela 3 - Regiões genômicas que explicaram pelo menos 1% da variância genética (V%) de dosagem de ureia em ovinos Santa Inês	28

LISTA DE FIGURAS

Associação genômica ampla para identificação de genes candidatos relacionados com metabólitos proteicos em ovinos Santa Inês

	Página
Figura 1 – Exemplares da raça Santa Inês	7
Figura 2 - Gráfico Manhattan da análise GWAS para dosagem de albumina em ovinos Santa Inês	19
Figura 3 - Gráfico Manhattan da análise GWAS para dosagem de ureia em ovinos Santa Inês	27

LISTA DE ABREVIATURAS

- ARCO – Associação Brasileira de Criadores de Ovinos
- CHR – Cromossomo
- DEP – Diferença Esperada na Progenie
- DNA – Ácido Desoxirribonucleico
- DP – Desvio Padrão
- EDTA – Ácido Etilenodiamino tetra-acético
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- ESALQ – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz
- FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
- GBLUP – Predição genômica linear não-viesada (Genomic best linear unbiased prediction)
- GC – Grupo de contemporâneos.
- GWAS – Estudo de associação genômica ampla (Genome-wide Association Study)
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- MAF – Frequência do menor alelo (Minor allele frequency)
- Mb – Megabase
- N – Número de animais
- QC – Controle de qualidade (*Quality Control*)
- SNP – Polimorfismo de nucleotídeo único (*Single Nucleotide polymorphism*)
- UFBA – Universidade Federal da Bahia
- USP – Universidade de São Paulo
- VAR – Variância Genética Aditiva

SUMÁRIO

Associação genômica ampla para identificação de genes candidatos relacionados com metabólitos proteicos em ovinos Santa Inês

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. PANORAMA DA OVINO CULTURA NO BRASIL	5
2.2. RAÇA SANTA INÊS	6
2.3. PERFIL METABÓLICO	7
2.4. INDICADORES DO METABOLISMO PROTEICO	9
2.4.1. ALBUMINA	10
2.4.2. UREIA	11
2.5. ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. POPULAÇÃO E VARIÁVEIS ANALISADAS	13
3.2. GENOTIPAGEM	14
3.3. CONTROLE DE QUALIDADE DOS DADOS	14
3.4 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÃO	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1. VALORES ESTATÍSTICOS DESCRITIVOS E HERDABILIDADE	17
4.2. ALBUMINA	18
4.3 UREIA	27
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

**Associação genômica ampla para identificação de genes candidatos
relacionados com metabólitos proteicos em ovinos Santa Inês**

RESUMO

Níveis de albumina e ureia no sangue são usados como indicadores clínicos, bem como para avaliar o estado nutricional de um animal. Assim, o presente estudo tem por objetivo realizar análise de associação genômica ampla para dosagens de albumina e ureia em ovinos Santa Inês, a fim de identificar genes candidatos para essas variáveis. Um total de 320 cordeiros foram genotipados com o OvineSNP50 BeadChip. Após o controle de qualidade, 43.996 SNPs foram utilizados nas análises de associação via método ssGBLUP. Foram discutidas janelas que explicam pelo menos 1% da variância genética das dosagens de albumina e ureia. Oito regiões genômicas explicaram 11,6% da variância genética de albumina, sendo encontrados os genes candidatos *ALDH7A1*, *GAPDHS*, *STRAP*, *MGTS1*, *EI24*, *HAMP*, *PTPRO*, *FFAR1*, *FFAR2*, *FFAR3*, *KIRREL2*, *ITGA8*, *NPHS1*, *TYROBP*, *MAG*, *DIABLO*, *PRODH2* e *HPD*. Sete regiões genômicas foram responsáveis por explicar 12,4% da variância genética de dosagem de ureia, sendo identificados os genes candidatos *PCDH9*, *AZGP1*, *LAMTOR4*, *SMURF1*, *RAB31*, *ARPC1A*, *ARPC1B*, *CNTN1*, *PDZRN4*, *NDUFV2*, *CLOCK* e *NMU*. A maioria destes genes candidatos estão envolvidos em processos biológicos relacionados com funções hepáticas e renais e podem conter variantes úteis ao processo de seleção de ovinos Santa Inês.

Palavras-chave: albumina, cordeiros, metabolismo, proteína, ureia

Genome-wide association for identification of candidate genes related to protein metabolites in Santa Ines sheep

ABSTRACT

Albumin and urea serum levels are used as clinical indicators, as well as to evaluate the nutritional status of an animal. Thus, the present study aims to perform a genome wide association study (GWAS) to identify candidate genes for albumin and urea levels in Santa Ines sheep. The GWAS analysis was performed with 320 lambs and 43,996 SNPs, using the ssGBLUP method. Regions that explain at least 1% of the genetic variance of the albumin and urea levels were discussed. Eight genomic regions explained 11.6% of the genetic variance in albumin level and the candidate genes *ALDH7A1*, *GAPDHS*, *STRAP*, *MGTS1*, *EI24*, *HAMP*, *PTPRO*, *FFAR1*, *FFAR2*, *FFAR3*, *KIRREL2*, *ITGA8*, *NPHS1*, *TYROBP*, *MAG*, *DIABLO*, *PRODH2* and *HPD* were found. Seven genomic regions explained 12.4% of the genetic variance in urea level, and the candidate genes *PCDH9*, *AZGP1*, *LAMTOR4*, *SMURF1*, *RAB31*, *ARPC1A*, *ARPC1B*, *CNTN1*, *PDZRN4*, *NDUFV2*, *CLOCK* and *NMU* were identified. The genes found in the current study are involved in biological processes related to hepatic and renal functions and variants in these genes can be useful for breeding schemes in Santa Ines sheep.

Keywords: albumin, lambs, metabolism, protein, urea

1. INTRODUÇÃO

Animais de produção em sistemas especializados costumam receber dietas balanceadas, que lhes permite expressar todo seu potencial genético e maximizar suas taxas de crescimento. Essas dietas geralmente apresentam altos teores de proteína e energia, o que aumenta a atividade metabólica em alguns órgãos como o fígado e os rins. O fígado atua em processos fisiológicos como o metabolismo de macronutrientes, controle do volume sanguíneo, suporte ao sistema imunológico, controle endócrino do crescimento, homeostase de lipídios e colesterol, além de quebrar compostos xenobióticos (TREFTS, GANNON e WASSERMAN, 2017). Já o rim é vital para excreção de produtos metabólicos do sangue, preservando outros constituintes importantes como algumas proteínas do sangue ao exemplo da Albumina (HUMES *et al.*, 1999). Por isso, exames clínicos geralmente incluem a determinação de metabólitos sanguíneos, que estando em níveis inadequados podem indicar problemas hepáticos ou renais (BRAUN, TRUMEL e BÉZILLE, 2010).

O fígado é o principal responsável pela síntese da maioria das proteínas encontradas no sangue, pelo processamento de aminoácidos para geração de energia e pelo descarte de proteínas e resíduos nitrogenados da degradação proteica, como a ureia (TREFTS, GANNON e WASSERMAN, 2017). O ciclo da ureia é realizado principalmente no fígado e visa transformar um produto mais tóxico (amônia) em um produto de baixa toxicidade (ureia), que em condições normais é filtrado pelos rins e excretado na urina (WEINER, MITCH e SANDS, 2015).

Uma das consequências do alto consumo de proteína é o aumento da síntese hepática de albumina (ROTHSCHILD, ORATZ e SCHREIBER, 1975). A albumina sérica de ovinos (ALB-201) é uma proteína de 583 aminoácidos, rica em cisteína e com

baixo conteúdo de triptofano (AASIF-DAR *et al.*, 2016). Ela é sintetizada no fígado e tem uma variedade de funções importantes no organismo, que vão desde o controle da pressão osmótica coloidal do sangue, passando pela sua capacidade de ligação com várias moléculas endógenas e exógenas, transporte de íons e de resíduos tóxicos, além de ter potencial efeito antioxidante (MERLOT, KALINOWSKI e RICHARDSON, 2014). Estudos em humanos revelam que o nível sérico de albumina pode ser considerado um bom índice clínico de doenças e quanto maior for este nível, mais intacta será a saúde geral dos humanos (FRIEDMAN e FADEM, 2010). Em ovinos, animais gravemente infectados por *Fasciola hepática* apresentaram reduções nos níveis de albumina (MATANOVIĆ *et al.*, 2007).

Componentes bioquímicos do sangue como ureia e albumina são pouco estudados no contexto do melhoramento genético de animais de interesse pecuário. Porém, Prins *et al.* (2017) estimaram coeficientes de herdabilidade para albumina ($0,15 \pm 0,04$) e ureia ($0,14 \pm 0,04$) em humanos, os quais demonstram que essas variáveis possuem um componente genético que não pode ser ignorado. A identificação de genes candidatos pode ajudar a entender esse controle genético, pois uma vez conhecidos, esses genes podem ser sequenciados para melhor conhecer os mecanismos moleculares envolvidos na expressão dessas características. Em humanos foram identificados SNPs nos genes *GCKR* e *SLC14A2* associados com níveis de albumina e nitrogênio ureico, respectivamente (KAMATANI *et al.*, 2010). Em outro estudo com humanos foram identificados os genes *MTX1-GBA*, *PAX8*, *MECOM*, *UNCX*, *MPPED2-DCDC5*, *C12orf51*, *WDR72* e *GNAS* como candidatos para associação com nitrogênio ureico no sangue (OKADA *et al.*, 2012). Porém, em ovinos não foram identificados até o presente momento genes candidatos para dosagens de ureia e albumina. Assim, o presente estudo

tem como objetivo realizar análise de associação genômica ampla para dosagens de albumina e ureia em ovinos Santa Inês, a fim de identificar genes candidatos para essas variáveis.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Panorama da ovinocultura no Brasil

A espécie ovina foi uma das primeiras a ser domesticada pelo homem, que visava à obtenção de alimentos (carne e leite), além de proteção contra o frio (lã). Ela está amplamente difundida em todos os continentes e isso se deve a fácil adaptação aos diferentes climas, relevos e vegetações (VIANA, 2008).

Os ovinos foram trazidos para o Brasil durante o processo de colonização e hoje são encontrados em todo o território nacional. A variabilidade genética da espécie ovina no Brasil permite escolher o genótipo em função do local de produção. Assim, tem-se na região sul uma variedade de raças lanadas ou semilanadas, enquanto na região nordeste há um predomínio de raças deslanadas (AZEVEDO *et al.*, 2016).

O rebanho ovino brasileiro tinha 17,98 milhões de cabeças no ano de 2017 e comparando ao ano anterior houve uma redução nesse efetivo de 2,3%. A região nordeste detém o maior número de animais (64,2%), seguida pela região sul (23,7%), sendo a Bahia e Rio Grande do Sul detentores de 40,0% do efetivo nacional 2017 (IBGE, 2018).

No Brasil o crescimento do consumo de carne ovino depende de fatores como crescimento populacional e da renda. Porém, é fundamental que haja uma maior organização do setor, reduzindo aspectos como a informalidade dos abates (MARTINS

et al., 2016). Segundo Sorio e Rasi (2010), citam que o abate clandestino de ovinos é maior que o legalizado, mas essa informalidade também está presente na produção e no comércio. Segundo Viana e Silveira (2009) citam que as dificuldades encontradas pelos produtores na comercialização dos animais para os abatedouros, encontra-se na sazonalidade da produção, carência na frequência de produto para oferecer ao mercado, demanda contínua na oferta de animais, necessidade de escala na comercialização e a procura por animais mais jovens pelos abatedouros. Solucionar essas questões pode impulsionar o setor como um todo, ampliando até mesmo o consumo de carne ovina pelos brasileiros.

2.2. Raça Santa Inês

A raça Santa Inês foi criada a partir do cruzamento de raças europeias e africanas na região do nordeste brasileiro (PEREIRA, 2008). A raça é caracterizada por ser deslanada (Figura 1), com pelos curtos e sedosos, tem grande porte, com peso dos machos variando entre 80 a 120 kg e de fêmeas com peso entre 60 e 90 kg, além de apresentar boa qualidade de carne e baixo teor de gordura. Os animais apresentam tronco grande e comprido, cobertura muscular boa, com troncos bem posicionados, fortes e com bons aprumos. A pelagem pode variar entre vermelha, preta, branca e suas combinações, apresentando aptidão para produção de carne e pele com bom valor comercial.

De acordo com (PEREIRA, 2008) o crescimento da raça é devido as suas características raciais como bom porte, rusticidade e habilidade materna. Na região nordeste do país as espécies ovinas deslanadas não apresentam estacionalidade reprodutiva (MAIA, MEDEIROS e LIMA, 2011) e por apresentarem boa rusticidade, são adaptáveis a diversos sistemas de criação.

Figura 1 – Exemplos da raça Santa Inês



Fonte: Arquivo pessoal

2.3. Perfil metabólico

O perfil metabólico é uma ferramenta importante, pois fornece informações sobre o funcionamento do organismo de um indivíduo. O estudo do perfil metabólico foi proposto por Payne *et al.*, (1970) em Compton na Inglaterra, com vistas a conhecer os componentes hemato-bioquímicos no sangue de vacas leiteiras, a fim de diagnosticar e prevenir possíveis transtornos metabólicos. De acordo com Caldeira (2005), o sangue sempre foi o fluido mais utilizado para definir as concentrações dos indicadores sobre o estado nutricional ou metabólico, isso devido à qualidade de informações e fácil obtenção de coleta. A utilização do perfil metabólico contribui para o diagnóstico de doenças de produção e pode ser avaliado individualmente (GONZÁLEZ, 1997). Além disso, pode apontar possíveis desequilíbrios metabólicos e nutricionais, além de alterações clínicas e subclínicas. Diante disso, o perfil hematológico, juntamente com outros testes, fornece ao

clínico informações importantes para chegar a um diagnóstico final (POLIZOPOULOU, 2010).

Muitas variáveis podem ser mesuradas quando o objetivo é definir o perfil metabólico no sangue (WITTWER, 2000b). Glicose, ácidos graxos livres, corpos cetônicos, beta-hidroxibutirato e colesterol são indicadores que geralmente definem o perfil metabólico energético. Cálcio, fosfato, magnésio, sódio, potássio, cobre, zinco, selênio e T4 (iodo) formam o perfil metabólico mineral, enquanto hemoglobina, ureia e albumina refletem um perfil metabólico proteico.

O perfil metabólico já vem sendo utilizado na pecuária por diversos autores, com diferentes finalidades. Parâmetros bioquímicos do sangue foram usados para verificar o metabolismo energético-proteico em bovinos (GONZÁLEZ *et al.*, 2000) e ovinos (RIBEIRO *et al.*, 2003; BRITO *et al.*, 2006). Além disso, a influência de fatores como sexo e faixa etária sobre os parâmetros bioquímicos do sangue tem sido avaliado em ovinos, incluindo a raça Santa Inês (MEIRA-JR *et al.*, 2009) e a Dorper (MADUREIRA *et al.*, 2013).

O estado fisiológico do animal e a condição ambiental que o mesmo se encontra devem ser caracterizados, pois pode ocorrer alteração de região para região, e dessa forma influenciar na análise do perfil metabólico. Outros fatores podem alterar o perfil metabólico, por isso é importante conhecer os valores de referência para as diferentes espécies, clima, idade, sexo, condição corporal, estresse, entre outros fatores (HAIDA *et al.*, 1996; BARIONI *et al.*, 2001). Dentre as concentrações séricas de metabólitos sanguíneos tem-se a ureia e a albumina, que estão relacionadas com o metabolismo de proteínas. Estudos realizados com ovinos reportaram valores entre 24 a 45 g/L para albumina e 2,2 a 10 mmol/L para ureia (CALDEIRA, 2005).

2.4. Indicadores do metabolismo proteico

A ureia e a albumina são os principais indicadores do metabolismo proteico em ruminantes, pois a ureia demonstra em curto prazo o estado proteico do animal, enquanto baixa velocidade de síntese e degradação da albumina pelos ruminantes a torna um indicador de longo prazo (PAYNE e PAYNE, 1987).

A concentração dos metabólitos no sangue pode variar devido a alguns fatores ou situações, as quais podem indicar deficiências ou excessos de nutrientes, alterações bioquímicas que afetem a produção, fertilidade ou doenças (CONTRERAS, 2000), os quais citam como fatores ou situações:

- a) Fatores nutricionais - influencia a concentração dos metabólicos proteicos no sangue. A ingestão de proteínas na dieta altera a concentração de ureia e também da albumina. A energia da ração interfere nos indicadores do metabolismo proteico, uma vez que, decréscimos de energia no final do período de lactação têm sido associada a redução na concentração de albumina. Da mesma forma a menor quantidade de água ingerida aumenta a concentração de ureia sanguínea;
- b) Parto e lactação - no início da lactação a concentração de ureia e de albumina reduz, porém logo a albumina retoma sua concentração adequada, se o aporte de proteína na dieta for adequado. Quando a concentração de albumina está dentro do valor de referência, observa-se maior produção de leite durante a lactação e melhor fertilidade;
- c) Estações do ano - influenciam nas concentrações dos metabólicos proteicos, porém diferir a estação do efeito da alimentação é difícil, visto que a estação influência na qualidade do alimento disponível;

- d) Doenças infecciosas - podem ocasionar aumento de globulinas e redução nas concentrações de albumina, sendo as doenças de origem viral as que têm menos efeito.

2.4.1. Albumina

A albumina é a proteína que se encontra em maior concentração no plasma sanguíneo e corresponde a aproximadamente 50% das proteínas circulantes no plasma. A síntese de albumina ocorre no fígado e a concentração está relacionada com a quantidade de proteína da dieta. Porém, maior medida na concentração sanguínea também está relacionada com a capacidade que o fígado tem de sintetizar (CONTRERAS, 2000).

A albumina é um importante reservatório de proteínas lábeis e transportador de aminoácidos constituintes (KANEKO, 1997). A albumina contribui com 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, além de reserva proteica, transportar ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina, participa da regulação do pH sanguíneo (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003). A albumina é a proteína plasmática com maior atividade osmótica ativa e isso se deve a sua abundância e por ter pequeno tamanho, sua atividade osmótica no plasma fica em torno de 75% (KANEKO, 1997).

Mesmo que dietas contendo alto ou baixo nível de proteína influencie os componentes sanguíneos, deve-se ter cautela para interpretar os resultados que deem fora da normalidade dos perfis metabólicos relacionados à nutrição (PAYNE, 1978). Redução dos níveis de albumina, juntamente com o da ureia, indica uma deficiência proteica, já níveis de albumina reduzida e o de ureia normal ou elevado, mas com níveis de enzimas altos, é um indicativo de falha hepática (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

A albumina pode ser um indicador de déficit ou excesso de proteína na dieta, porém essas mudanças ocorrem de forma mais lenta. Logo, para detectar alterações de

albumina sérica é necessário um período de um mês, devido à síntese e a degradação ocorrerem mais lentamente (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003). A albumina pode ser um indicador estimável, mas somente quando se tem um longo período de deficiência de proteína na dieta animal (CONTRERAS, 2000).

2.4.2. Ureia

A ureia é um produto do metabolismo do nitrogênio, que pode informar através de amostras do soro sanguíneo à atividade metabólica proteica do animal (WITTWER, 2000a). Os níveis de ureia estão relacionados diretamente com a ingestão de proteína na dieta e com a relação energia:proteína. A síntese da ureia ocorre no fígado através da amônia oriunda do catabolismo de aminoácidos e reciclagem da amônia do rúmen. A principal forma de excreção da ureia é através da urina e em menor quantidade no intestino e no leite (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

A ureia responde com boa velocidade a alterações de proteínas na dieta (CONTRERAS, WITTWER e BÖHMWALD, 2000). As variações dos metabólitos podem ocorrer tanto pelo excesso como pela deficiência, porém deve-se analisar a inter-relação dos nutrientes para que não ocorram erros nos resultados. A ureia também pode ser alterada através do aporte energético da dieta. A proporção energia:proteína fornecida na dieta é importante para o adequado aproveitamento da ureia e alterações, mesmo que diárias, influenciam nos níveis de ureia no sangue e conseqüentemente no aproveitamento do animal. A ureia é um indicador sensível e rápido para sinalizar a ingestão de proteínas da dieta (CONTRERAS, 2000; GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003).

2.5. Associação genômica ampla

Identificar genes que tem maior efeito sobre características quantitativas ainda é difícil, visto que cada gene tem uma pequena contribuição na herdabilidade

(HIRSCHHORN e DALY, 2005). Porém, essa identificação pode contribuir para o conhecimento das variações genéticas dessas características e isso pode contribuir para o progresso genético (FRAZER *et al.*, 2009).

O melhoramento genético clássico utiliza-se do fenótipo e do pedigree para estimar os valores genéticos de cada indivíduo (PÉRTILE, SILVA e SALVIAN, 2016). Contudo, para variáveis de difícil mensuração estes procedimentos ainda são pouco eficazes. Por isso, identificar regiões no genoma associadas às características de interesse econômico pode contribuir para a seleção de animais.

Regiões genômicas associadas a uma característica de interesse econômico podem ser determinadas com base nas informações de marcadores moleculares através de um estudo de associação. Os primeiros estudos dessa natureza utilizavam poucos marcadores moleculares, mas agora é possível realizar estudos com um amplo número de marcadores, os quais são conhecidos como estudos de associação genômica ampla (GWAS - *Genome Wide Association Studies*). Os avanços nas tecnologias de genotipagem permitiram usar mapas mais densos (CASAS *et al.*, 2013) e esses mapas com maior densidade de marcadores permitem estimar com maior precisão os efeitos de cada marcador, levando a resultados que são mais coerentes com a natureza poligênica da herança de características quantitativas (BALDING, 2006).

Estudos com GWAS em ovinos vêm sendo desenvolvidos para características de crescimento e produção de carne (ZHANG *et al.*, 2013), produção de lã (WANG *et al.*, 2014a), desenvolvimento corporal (KOMINAKIS *et al.*, 2017), doenças hereditárias (SUÁREZ-VEJA *et al.*, 2015) e resistência a parasitas (BERTON *et al.*, 2017). No entanto, estudos de associação genômica para variáveis contida no perfil metabólico proteico são inexistentes. Esse estudo pode melhorar o conhecimento dos genes que estão

relacionados com níveis de albumina e ureia, os quais poderão ser mais bem explorados em futuros estudos para conhecimento do metabolismo de proteínas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. População e variáveis analisadas

Para obtenção dos dados fenotípicos foram utilizadas informações de 320 animais machos não castrados da raça Santa Inês. Os animais foram alojados na fazenda experimental da Universidade Federal da Bahia (UFBA), localizada no município de São Gonçalo dos Campos, Bahia. Até os 110 dias de idade os animais foram criados a pasto. Em seguida, os ovinos foram confinados em baias individuais de 1 m², com fornecimento de água *ad libitum* e ração balanceada segundo recomendação do NRC (NRC, 2007) para obtenção de um ganho diário de 250 gramas/dia.

Após 90 dias de confinamento, os animais foram abatidos. Os protocolos experimentais utilizados foram avaliados e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (protocolo 07/2016).

As coletas de sangue foram realizadas no terço final de cada confinamento. O sangue foi colhido através da venopunção jugular e distribuído em tubo a vácuo (Vacutainer[®]) contendo EDTA a 10% para a obtenção do plasma. A partir do plasma, foram estimadas as concentrações de albumina, utilizando o Kit Albumin VET (*Labtest Diagnóstica*[®], S.A., Lagoa Santa – MG, Brasil), e ureia utilizando o kit Ureia-UV-K56 (BioClin[®], Belo Horizonte – MG, Brasil).

3.2. Genotipagem

A obtenção do DNA genômico foi realizada através de amostras do músculo *Longissimus dorsi*, após o abate dos animais. Após a extração, foi obtido através da leitura do equipamento NanoDrop® a concentração e pureza do DNA. A análise da integridade do DNA ocorreu por eletroforese em gel de agarose 1%, utilizando corante GelRed™ para análise do DNA genômico sob iluminação UV.

A diluição do DNA foi feita de acordo com o protocolo de genotipagem, objetivando a hibridização na matriz do chip *Ovine SNP50 BeadChip* (Illumina Inc., San Diego, CA), após a diluição, mensuração da quantidade e qualidade do DNA, as amostras foram submetidas ao processo de genotipagem. O chip abrangia 54.241 SNPs, sendo 26 autossomos e dois cromossomos sexuais. As extrações de DNA e genotipagem ocorreram no Laboratório de Biotecnologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, em Piracicaba – SP.

3.3. Controle de qualidade dos dados

No presente estudo apenas marcadores moleculares contidos nos cromossomos autossomos foram utilizados nas análises. Todos os animais com fenótipo conhecido foram genotipados. Para realizar o controle de qualidade dos dados foi utilizado o pacote PREGSF90, da família BLUPF90 (MISZTAL *et al.*, 2002). Foram excluídos das análises os SNPs com menor frequência alélica menor que 5% ($MAF < 0,05$), diferenças entre heterozigosidades observada e esperada maior que 0,15 (Hardy-Weinberg equilibrium), além dos SNPs e indivíduos com *Call rate* menor que 90%. Após a limpeza do banco de dados, permaneceram 43.996 SNPs.

3.4 Análises de associação

Nas análises de associação foram utilizados os programas da família BLUPF90 (MISZTAL *et al.*, 2002), pelo método ssGBLUP (single-step genomic BLUP) (WANG, MISZTAL, *et al.*, 2012). A matriz genômica foi utilizada e incluiu todos os animais com informações genóticas e fenóticas empregando na análise o modelo genético animal unicaracterística. A notação matricial linear para prever os valores genéticos pode ser descrita como:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}\mathbf{a} + \mathbf{e} ,$$

em que \mathbf{y} é o vetor de observações da característica em análise; \mathbf{X} é a matriz de incidência para os efeitos fixos; $\boldsymbol{\beta}$ é o vetor de efeitos fixos, neste caso apenas o grupo de contemporâneos (mesmo lote de confinamento e mesma dieta dentro do lote); \mathbf{Z} é a matriz de incidência dos efeitos dos marcadores; \mathbf{a} é o vetor dos efeitos individuais dos animais; e \mathbf{e} é o vetor dos resíduos. Assume-se neste modelo que as variâncias de \mathbf{a} e \mathbf{e} são:

$$\text{Var} \begin{bmatrix} \mathbf{a} \\ \mathbf{e} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{H}\sigma_a^2 & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{I}\sigma_e^2 \end{bmatrix},$$

no qual, σ_a^2 e σ_e^2 representam as variâncias genética aditiva e residual, respectivamente. \mathbf{H} representa a matriz genômica que combina a matriz de pedigree e a matriz de informação genômica (AGUILAR *et al.*, 2010). Para a inversa da matriz \mathbf{H} foi utilizado o modelo:

$$\mathbf{H}^{-1} = \mathbf{A}^{-1} + \begin{bmatrix} \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{G}^{-1} - \mathbf{A}_{22}^{-1} \end{bmatrix},$$

onde, \mathbf{A} é a matriz de pedigree de todos os animais; \mathbf{A}_{22} representa a matriz de parentesco dos animais com genótipos; \mathbf{G} é a matriz de parentesco genômico (VANRADEN *et al.*, 2009).

Os componentes de (co)variância foram estimados pelo programa AIREMLF90, através do método de máxima verossimilhança restrita, utilizando o algoritmo EM (Expectation – Maximization) do programa BLUPF90, usando um modelo animal proposto por Misztal *et al.* (2002). Para estimar os efeitos dos SNPs foi utilizado o programa POSTGSF90 (MISZTAL *et al.*, 2002).

Os efeitos dos SNPs foram obtidos utilizando:

$$\hat{\mathbf{u}} = \mathbf{DZ}'[\mathbf{ZDZ}']^{-1}\hat{\mathbf{a}}_g$$

onde: $\hat{\mathbf{u}}$ é o vetor de efeito dos SNPs; \mathbf{D} representa a matriz diagonal com ponderadores para efeito dos SNPs; \mathbf{Z} é a matriz de incidência dos genótipos; e $\hat{\mathbf{a}}_g$ representa o vetor dos valores genômico dos animais genotipados (WANG *et al.*, 2012).

Para a obtenção dos efeitos dos marcadores SNPs foi realizado um processo de iteração com duas rodadas, onde na segunda rodada utilizaram-se os ponderadores encontrados na rodada anterior. Assim, foram recalculados os valores genéticos genômicos e/ou os marcadores genéticos, os pesos para os SNPs foram obtidos no mesmo software das análises de associação genômica (BLUPF90). As iterações servem para aumentar o peso dos SNPs que tenham maior efeito e reduzir os de menor efeito (WANG, MISZTAL, *et al.*, 2014).

Os resultados encontrados nas análises do GWAS foram apresentados com base nas regiões genômicas explicadas pelos SNPs em janelas genômicas do tamanho 1Mb (megabase) de comprimento. Todas as janelas que explicaram $\geq 1\%$ da variância genética aditiva das características estudadas foram objeto de estudo para identificar genes candidatos, utilizando informações da plataforma NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Ainda, na caracterização das funções biológicas dos genes e

estudo da ontologia genética foram realizadas pesquisas na plataforma Ensembl e para as vias metabólicas na plataforma DAVID 6.8 (JIAO, SHERMAN, *et al.*, 2012).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Valores estatísticos descritivos e herdabilidade

Os valores médios de albumina e ureia foram 35,10 g/L e 39,69 mg/dL, respectivamente (Tabela 1). Uma revisão bibliográfica encontrou valores médios variando de 24 a 45 g/L para albumina em diferentes raças de ovinos (CALDEIRA, 2005), enquanto Madureira *et al.* (2013) encontraram média de 40,8 mg/dL para ureia em machos Dorper com menos de 12 meses de idade. Assim, os valores médios de albumina e ureia encontrados no presente estudo estão próximos dos valores reportados em prévios estudos com ovinos. Com relação à variação, no presente estudo foram encontrados desvios-padrão iguais a 5,9 g/L para albumina e 14,07 mg/dL para ureia. Desvios-padrão próximos de 5 g/L foram reportados para albumina em diferentes estudos com ovinos (CALDEIRA, 2005), enquanto desvio-padrão de 10,9 mg/dL foi reportado para ureia em ovinos Dorper (MADUREIRA *et al.*, 2013). Logo, a variação encontrada na raça Santa Inês é similar a observada em outras raças de ovinos.

Variações nos níveis de albumina e ureia são normais, sobretudo quando se compara diferentes estudos, pois esses metabólitos dependem de fatores como raça, sexo, idade, gestação, disponibilidade de água e concentração de determinados nutrientes na dieta. Contudo, aqui foram utilizados apenas machos, de uma mesma faixa etária e que receberam dietas balanceadas para promover um ganho de peso diário de 250 gramas. Logo, esperava-se menor variação dos níveis de albumina e ureia. Parte dessa variação

pode ser atribuída a componentes genéticos aditivos, pois as estimativas de herdabilidade para albumina e ureia foram 0,29 e 0,10, respectivamente. Ressalta-se que os coeficientes de herdabilidade na raça Santa Inês estão próximos dos valores reportados em humanos para albumina ($0,15 \pm 0,04$) e ureia ($0,14 \pm 0,04$) (PRINS *et al.*, 2017). Portanto, tanto para albumina quanto para ureia é possível obter ganhos genéticos com a seleção.

Tabela 1 – Tamanho amostral (N), média, desvio-padrão (DP), mínimo, máximo, número de grupos de contemporâneos (GC), herdabilidade (h^2) e seu erro-padrão (SE), para as dosagens de ureia e albumina na raça Santa Inês.

Característica	N	Média	DP	Mínimo	Máximo	GC	h^2 (EP)
Ureia mg/dL	229	39,69	14,07	15,71	71,00	17	0,10 (0,07)
Albumina g/L	320	35,10	5,90	19,40	55,30	25	0,29 (0,0003)

Fonte: Construída a partir da análise dos dados coletados.

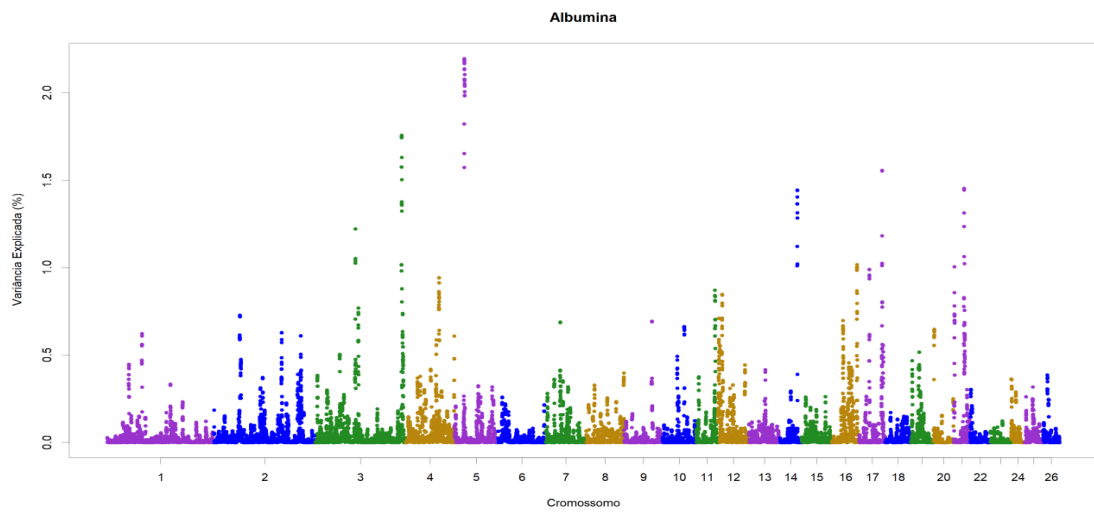
4.2. Albumina

Foram identificadas 8 regiões genômicas (Figura 2) explicando pelo menos 1% da variância genética aditiva de dosagem de albumina (Tabela 2), as quais estão localizadas nos cromossomos OAR3, OAR5, OAR14, OAR16, OAR17 e OAR21. O conjunto destas regiões explicou 11,6% da variância genética e nestas regiões foram identificados 108 genes com função biológica conhecida.

O nível sérico de albumina pode ser considerado um índice clínico de doenças e quanto maior for este nível, mais intacta será a saúde geral em humanos (FRIEDMAN e FADEM, 2010). Segundo estes autores, baixos níveis de albumina podem indicar doenças ou estado inflamatório, os quais podem atuar na redução da síntese, no aumento do catabolismo e/ou na permeabilidade vascular a albumina. Dentre os genes com função conhecida identificados nas janelas mapeadas, foi possível encontrar alguns que estão relacionados com processos fisiopatológicos no fígado ou nos rins como *ALDH7A1*,

STRAP, MGTS1, EI24, HAMP, PTPRO, FFAR1, FFAR2, FFAR3, KIRREL2, ITGA8, NPHS1, TYROBP, MAG, DIABLO, PRODH2 e *HPD*. Logo, são genes que podem estar influenciando os níveis séricos de albumina.

Figura 2 - Gráfico Manhattan da análise GWAS para dosagem de albumina em ovinos Santa Inês



Fonte: Construída a partir de dados coletados.

Tabela 2 - Regiões genômicas que explicaram pelo menos 1% da variância genética (V%) de dosagem de albumina em ovinos Santa Inês

Cromossomo	Posição	SNPs	V%	Genes localizados nas janelas
5	25766841:26751437	25	2,194	<i>LMNBI, GRAMD2B, ALDH7A1, PHAX, TEX43, LOC114115054, LOC114114925, LOC101107349</i>
3	213562255:214520608	24	1,756	<i>PTPRO, EPS8, STRAP, DERA, SLC15A5, MGST1, TRNAW-CCA, LOC114114234, LOC114114155 e LOC101115056</i>
17	61.984.865:62.923.564	17	1,555	<i>MORN3, TMEM120B, HPD, PSMD9, DIABLO, VPS33A, CLIP1, P2RX4, KDM2B, SETD1B, WDR66, CAMKK2, BCL7A, ANAPC5, MLXIP, LRRC43, B3GNT4, RNF34, ORAI1, RHOF, TRNAE-UUG, TRNAG-CCC, LOC114108898, LOC114108816 e LOC101123326</i>
21	29401654:30325768	22	1,452	<i>SOLD1, VSIG10L2, EI24, PATE2, CCDC15, DDX25, HYLS1, PUS3, PATE1, ACRV1, CHEK1, ATT3A, FEZ1, PKNOX2, TMEM218, SLC37A2, TRNAW-CCA, LOC114110184, LOC11410016, LOC114110015, LOC114110015, LOC105604048, LOC101117978 e LOC101110715</i>
14	48704135:49671403	17	1,443	<i>HAMP, IGFLR1, PSENEN, SBSN, U2AF1L4, FFAR2, SYNE4, ETV2, POLR2I, TBCB, LIN37, UPK1A, KIRREL2, DMKN, MAG, HAUS5, ATP4A, NPHS1, ZNF565, TMWM147, ZNF461, OVOL3, HCST, KRTDAP, WDR62, ZBTB32, CLIP3, ALKBH6, SDHAF1, THAP8, APLP1, PRODH2, ARHGAP33, NFKBID, LRFN3, PROSER3, HSPB6, KMT2B, RBM2B, ZNF567, GAPDHS, FFAR1, ZNF146, CD22, FFAR3, CAPNS1, TYROBP, TRNAW-CCA, TRNAT-UGU, TRNAG-CCC, LOC114118154, LOC114117891, LOC114117766, LOC114117764, LOC114117763, LOC114117762, LOC114117760, LOC105607577, LOC101122717, LOC101121538, LOC101121285, LOC101104171 e LOC101103344</i>
3	99375714:100334700	21	1,221	<i>DYSF, ZNF638, PAIP2B, NAGK, TRNAS-GGA, LOC114113945 e LOC105607893</i>
16	66014289:66994604	25	1,016	<i>LOC114118708, LOC114118698, LOC114118697, LOC114118696, LOC101120952, LOC101120862 e LOC101104428</i>
21	1994443:2974605	16	1,004	<i>ITGA8, MINDY3, LOC114110186 e LOC114110179, LOC114110172, LOC114110152 e LOC114110151</i>

Fonte: Construída a partir de dados coletados.

O gene *ALDH7A1* (*aldehyde dehydrogenase 7 family member A1*) codifica uma enzima que é altamente expressa no fígado e rins e protege contra estresse hiperosmótico através do metabolismo de aldeídos tóxicos (BROCKER *et al.*, 2010). Sabe-se que esta enzima também desempenha um importante papel no catabolismo da lisina no fígado de ratos e esse catabolismo ajuda a manter o pool de nitrogênio celular (TSAI e HENDERSON, 1974), o qual é fundamental para a síntese de albumina nos hepatócitos. Além disso, análise na plataforma DAVID revelou uma função molecular significativa ($P = 0,033$) (GO:0016620 - *oxidoreductase activity, acting on the aldehyde or oxo group of donors, NAD or NADP as acceptor*), a qual tem por objetivo catalisar uma reação de oxirredução na qual um grupo aldeído ou cetona atua como um doador de hidrogênio ou elétron e reduz NAD ou NADP. Nesta função, além do gene *ALDH7A1* tem-se o gene *GAPDHS* (*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, spermatogenic*), que aqui foi identificado na janela do cromossomo 14. Portanto, mutações nesses genes podem estar interferindo no ambiente intracelular dos hepatócitos ou dos glomérulos renais, levando a consequentes alterações no nível sérico de albumina.

O fígado exibe alta capacidade regenerativa, o que é crucial para homeostase e reparo tecidual. O TGF β (*Transforming growth factor-beta*) é um importante regulador da fisiologia e patologia hepática, sendo um dos principais mediadores dos processos de regeneração do fígado (KARKAMPOUNA *et al.*, 2012). Aqui nós identificamos o gene *STRAP* (*serine/threonine kinase receptor associated protein*) como potencial candidato para nível de albumina sérica, pois este gene participa de vias que levam à inibição das respostas transcricionais induzidas por TGF β (DATTA e MOSES, 2000). Isso pode afetar os processos de regeneração do tecido hepático e consequentemente alterar a síntese de albumina.

Lesões hepáticas podem ocorrer quando o quantitativo de agentes oxidantes prevalece sobre o quantitativo de agentes antioxidantes nas células, fenômeno que é conhecido como estresse oxidativo (LI *et al.*, 2015). Algumas enzimas são altamente expressas no fígado em situação de estresse oxidativo e dentre elas tem-se a MGST1 (*microsomal glutathione S-transferase 1*). Essa enzima catalisa reações que são dependentes de glutathione, sendo especialmente importante para proteção contra a peroxidação lipídica em condições de estresse oxidativo (JAKOBSSON *et al.*, 2000). Além disso, a enzima MGST1 está envolvida com a liberação do citocromo-c da mitocôndria (LEE *et al.*, 2008), o qual tem importante papel no apoptose celular. O gene *MGST1*, que codifica esta enzima, foi aqui identificado como candidato para albumina sérica e essa possível associação pode estar relacionada com processos oxidativos ou de apoptose celular no fígado.

As células possuem um sofisticado sistema de reciclagem conhecido como autofagia, através do qual macromoléculas intracelulares são decompostas nos lisossomos. A autofagia constitutiva tem como função a remoção de organelas senescentes ou danificadas e a manutenção do balanço energético basal, enquanto a autofagia adaptativa mobiliza nutrientes intracelulares para atender às necessidades de energia em caso de deficiência de nutrientes (KIM e LEE, 2014). Portanto, a autofagia tem importante papel na manutenção da homeostase celular e de um tecido como um todo. Aqui nós identificamos o gene *EI24* (*EI24 autophagy associated transmembrane protein*), que codifica uma proteína transmembrana (*Etoposide-induced protein 2.4*), localizada no retículo endoplasmático. Camundongos que tiveram depleção de EI24 no fígado apresentaram lóbulos hepáticos desorganizados e aparência inchada de hepatócitos (ZHAO *et al.*, 2012). Portanto, *EI24* é um gene essencial para a autofagia nos hepatócitos

e mutações neste gene podem estar influenciando o funcionamento deste órgão com consequente alteração na síntese de albumina.

Problemas no metabolismo do ferro pode ter consequências sobre o funcionamento do fígado. Aqui nós identificamos o gene *HAMP* (*Hepcidin Antimicrobial Peptide*) que codifica o hormônio Heparidina, que é o principal regulador da concentração plasmática de ferro. O fígado é de importância crucial para o metabolismo do ferro, dado que os hepatócitos são a fonte predominante de produção de Heparidina e o principal local de armazenamento de ferro parenquimatoso. Camundongos que não produziram Heparidina apresentaram acúmulo elevado de ferro no fígado, níveis elevados de ferritina e elevado nível de apoptose dos hepatócitos (LUNOVA *et al.*, 2014).

O filtro glomerular do rim tem como função remover água, íons e pequenas moléculas do sangue e excretar na urina, ao mesmo tempo que minimiza a perda de proteínas plasmáticas, como a albumina. Assim, a perda de albumina na urina tem sido relacionada com alterações estruturais na membrana basal glomerular (GBM), nos podócitos ou no endotélio (RABELINK e ZEEUW, 2015). Os podócitos, células epiteliais especializadas, desempenham papel estrutural e funcional importantes na manutenção da barreira de filtração (CHUNG *et al.*, 2015). O gene *PTPRO* (*protein tyrosine phosphatase receptor type O*) codifica proteínas específicas de podócitos que podem regular a estrutura e a função glomerular, afetando o controle da pressão glomerular e a taxa de filtração em camundongos (WHARRAM *et al.*, 2000). Esse gene foi associado à permeabilidade à albumina em glomérulos isolados de ratos e coelhos (CHARBA *et al.*, 2009). Além disso, uma análise do GWAS revelou uma associação entre mutações no gene *PTPRO* e a Síndrome Nefrótica (OZALTIN *et al.*, 2011), um grupo de distúrbios caracterizados por proteinúria, hipoalbuminemia e edema.

A macropinocitose é considerada uma via importante para a reabsorção de proteínas do filtrado glomerular por células dos túbulos proximais no rim (SCHNATWINKEL *et al.*, 2004) e quando a capacidade dessa reabsorção é saturada, há excreção de proteínas do plasma, como a albumina, na urina (CASTROP e SCHIEBL, 2017). A presença de ácidos graxos livres associados à albumina sérica estimulam a macropinocitose através de uma via que envolve receptores de ácidos graxos livres (CHUNG *et al.*, 2015). No presente estudo também foram encontrados três genes de uma família de receptores de ácidos graxos livres (*FFAR1*, *FFAR2* e *FFAR3*), o que, portanto, os tornam bons candidatos para estudos de associação com níveis de albumina sérica.

Outro gene candidato aqui identificado, que também está relacionado com a barreira de filtração nos rins, é o *KIRREL2* (*Kirre Like Nephrin Family Adhesion Molecule 2*). Este gene codifica uma proteína conhecida como Filtrin, que faz parte de uma superfamília de imunoglobulinas e tem importante papel na promoção do bom funcionamento da barreira de filtração renal (HEIKKILÄ *et al.*, 2011). Além disso, uma significativa diminuição da expressão desse gene foi observada em humanos com doenças glomerulares (IHALMO *et al.*, 2007).

As células mesangiais podem afetar significativamente a hemodinâmica glomerular, alterando a resistência vascular glomerular (KURIHARA e SAKAI, 2017). O gene *ITGA8* (*Integrin, alfa 8*) é expresso em células mesangiais do corpúsculo renal e camundongos com déficit na expressão deste gene apresentaram células mesangiais com alterações morfológicas quando comparados com camundongos com expressão normal desse gene (MAREK *et al.*, 2010). Alterações fenotípicas das células mesangiais desempenham um papel importante na patogênese da nefropatia diabética em humanos, levando a sinais clínicos como a microalbuminúria (NAGAI e DOI, 2016). O gene *ITGA8*

também é conhecido por participar do desenvolvimento de órgãos e mutações recessivas nesse gene foram associadas com agenesia renal bilateral em humanos (HUMBERT *et al.*, 2014).

O gene *NPHS1* (*NPHS1 Adhesion Molecule, Nephrin*) codifica uma proteína transmembrana conhecida como nefrina, que faz parte de uma superfamília de imunoglobulinas e é encontrada nos podócitos glomerulares. Ela está envolvida em processos que são importantes para o funcionamento, sobrevivência e diferenciação dos podócitos (PATRAKKA e TRYGGVASON, 2007). Algumas mutações nesse gene causaram ausência de nefrina e alterações morfológicas nos podócitos, bem como uma forma clinicamente grave de síndrome nefrótica congênita conhecida como NPHS1 (PATRAKKA *et al.*, 2000). Além disso, mutações no *NPHS1* foram associadas com suscetibilidade a glomerulonefrite membranosa (LO *et al.*, 2010), um problema renal caracterizado pela inflamação e espessamento lento e gradual da membrana basal dos capilares sanguíneos dos glomérulos renais. Aqui nós também identificamos uma função molecular (GO:0005515 - *protein binding*) significativa ($P < 0,041$), contendo *NPHS1* e outros dois genes *TYROBP* (*TYRO protein tyrosine kinase binding protein*) e *MAG* (*myelin associated glycoprotein*), ambos encontrados na mesma janela do *NPHS1* no cromossomo 14. Sabe-se que a inibição do gene *TYROBP* pode proteger os rins (GRIGORYEV *et al.*, 2013), mas nada se conhece sobre possíveis relações do gene *MAG* com funções renais ou hepáticas.

Existe uma correlação significativa entre o grau de proteinúria e o número de células tubulares renais em apoptose (ERKAN *et al.*, 2005) e sabe-se que a própria albumina pode induzir a apoptose de células tubulares do rim em humanos, através da via metabólica mitocondrial (ERKAN, DEVARAJAN e SCHWARTZ, 2007). No presente

estudo nós encontramos alguns genes ligados a apoptose celular que podem estar associados a este processo de apoptose nos túbulos renais. O citocromo-C é liberado das mitocôndrias para o citosol e promove a ativação da caspase-9, estimulando assim a apoptose celular (DU *et al.*, 2000). No entanto, algumas proteínas interagem com as caspases ativas inibindo-as, promovendo então a sobrevivência celular. A Smac/Diablo é uma proteína codificada pelo gene *DIABLO* (*direct inhibitor of apoptosis protein (IAP) binding protein*) que se liga as proteínas inibidoras de caspases, portanto, atua como um estimulador de apoptose celular (DU *et al.*, 2000). Alta expressão de Smac/Diablo foi observada em células epiteliais tubulares renais em processo de apoptose (JUSTO *et al.*, 2003).

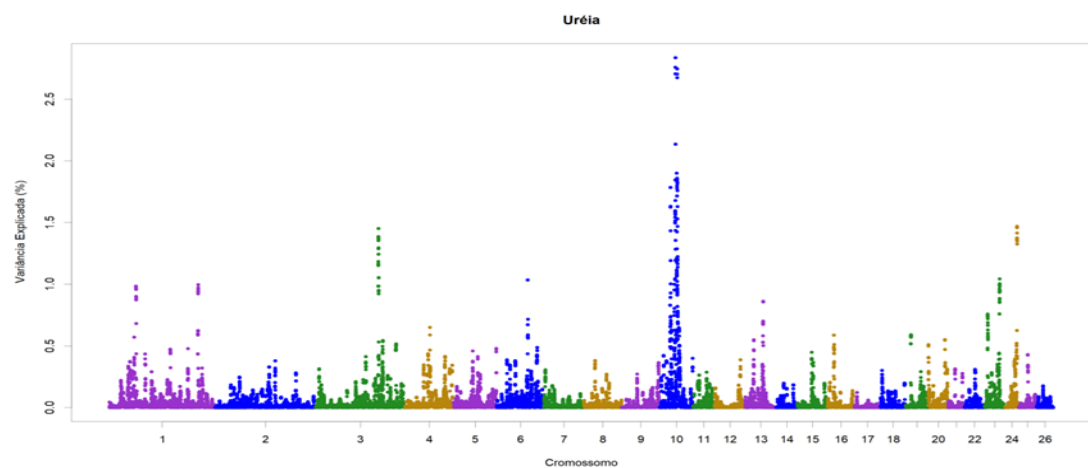
O gene *PRODH2* (*proline dehydrogenase 2*) codificada a proteína (*Proline dehydrogenase 2*) que catalisa o primeiro passo na via catabólica da hidroxiprolina e mutações nesse gene foram consideradas a principal causa genética da hidroxiprolinemia (STAUFNER *et al.*, 2016). Um dos produtos do catabolismo da hidroxiprolina é o glioxilato, que pode levar a um aumento nos níveis de oxalato e conseqüentemente a nefrolitíase, que é a formação de grandes cristais de oxalato de cálcio nos rins. Sabe-se que esses cristais provocam injúria mecânica nas células tubulares com conseqüentes alterações em suas funções (KHAN, SHEVOCK e HACKETT, 1992), o que pode levar a quadros de proteinúria e alteração nos níveis séricos de albumina.

O gene *HPD* (4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase) codifica uma enzima (*fumarylacetoacetate hydrolase*, FAH) da via metabólica da Tirosina. Déficit dessa enzima pode levar ao acúmulo e aumento na excreção da Tirosina e metabólicos tóxicos, os quais podem causar danos ao fígado e aos túbulos renais com conseqüente proteinúria (SANTRA e BAUMANN, 2008).

4.3 Ureia

Foram identificadas sete janelas genômicas (Figura 3) que individualmente explicaram pelo menos 1% da variância genética aditiva de dosagem de ureia (Tabela 3), as quais estão localizadas nos cromossomos OAR3, OAR6, OAR10, OAR23 e OAR24. O conjunto dessas janelas explicou 12,4% da variância genética aditiva de dosagem de ureia.

Figura 3 - Gráfico Manhattan da análise GWAS para dosagem de ureia em ovinos Santa Inês



Fonte: Construída a partir de dados coletados.

Tabela 3 - Regiões genômicas que explicaram pelo menos 1% da variância genética (V%) de dosagem de ureia em ovinos Santa Inês

Cromossomo	Posição	SNPs	V%	Genes nas janelas
10	41.338.827:42.297.892	16	2,83	<i>PCDH9, LOC114116694, LOC114116693, LOC114116656, LOC114116655 e LOC114116654</i>
10	46.421.333:47.386.192	25	2,74	<i>KLHL1, TRNAW-CCA, LOC101121784</i>
10	28322924:29319767	23	1,78	<i>MAB21L1, NBEA, TRNAC-GCA, TRNAE-UUG, LOC106991378, LOC105611536, LOC105611535 e LOC105611533</i>
24	36909766:37891468	21	1,47	<i>MIR25, MIR106B, COPS6, ATP5MF, GJC3, CPSF4, PILRB, AZGP1, TAF6, MAP11, KPNA7, ARPC1A, ARPC1B, ZSCAN25, ANF394, TMEM225B, ZNF789, TRIM4, ZNF3, PTC1D1, ZKSCAN5, ZNF655, MCM7, AP4M1, CNPY4, MBLAC1, LAMTOR4, GAL3ST4, BUD31, SMURF1, PDAP1, CYP3A24, TRNAW-CCA, LOC114110708, LOC114110699, LOC114110573, LOC114110572, LOC114110571, LOC114108597, LOC106991918, LOC105604801, LOC10564792, LOC101111419, LOC101110727, LOC101110202, LOC101104469, LOC101103117, LOC101102614 e LOC101102366</i>
3	156487633:157469105	26	1,45	<i>CNTN1, PDZRN4, LOC114113999, LOC114113998, LOC114113767, LOC114113628 e LOC105612842</i>
23	46.083.881:47.040.423	22	1,04	<i>RALBP1, TWSG1, ANKRD12, RAB31, PPP4R1, NDUFV2, MTCL1, RAB12, PTPRM e LOC114110462</i>
6	77404330:78402203	19	1,03	<i>KDR, CLOCK, NMU, PDCL2, TMEM165, SRD5A3, LOC114115485, LOC114115412, LOC114115411, LOC114115315, LOC105611521 e LOC101116147</i>

Fonte: Construída a partir de dados coletados.

O metabolismo de proteínas em ruminantes, bem como em outros vertebrados terrestres, tem como um dos produtos o grupo amino NH_4^+ , que é tóxico para várias células. Assim, esse produto é direcionado para o fígado, onde é transformado em ureia, cujo excesso será filtrado nos rins e excretado na urina (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2003). Portanto, genes que estejam envolvidos no ciclo da ureia, metabolismo da amônia ou com processos fisiopatológicos no fígado e rins, podem direta ou indiretamente influenciar os níveis séricos de ureia. Dentre os 57 genes encontrados nas janelas genômicas identificadas para níveis séricos de ureia, foi possível identificar alguns genes candidatos (*PCDH9*, *AZGP1*, *LAMTOR4*, *SMURF1*, *RAB31*, *ARPC1A*, *ARPC1B*, *CNTN1*, *PDZRN4*, *NDUFV2*, *CLOCK* e *NMU*) os quais relacionados com processos fisiopatológicos no fígado ou nos rins.

Na janela que explicou o maior percentual de variância genética de ureia foi identificado apenas um gene com função conhecida, o *PCDH9* (*protocadherin 9*). Este gene codifica uma proteína transmembrana que se expressa em vários tecidos, mas pouco se sabe sobre a função dessa proteína. Entretanto, alguns estudos revelaram que o gene *PCDH9* atua como um potencial supressor de tumor e que a perda da expressão do *PCDH9* pode ser um fator determinante para casos de câncer nos hepatócitos (LV *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2015). Além disso, este gene pode estar relacionado com funções renais, pois foi identificado como gene candidato em uma análise GWAS para excreção urinária de albumina (HWANG *et al.*, 2007), que é muito utilizada em estudos fisiopatológicos dos rins.

Outro potencial gene candidato para níveis de ureia é o *AZGP1* (*alpha-2-glycoprotein 1, zinc-binding*). Este gene é altamente expresso no fígado e foi relacionado como a modificação na expressão de outros genes nesse órgão de camundongos e

humanos. Em camundongos, a deleção do *AZGPI* gerou menor expressão dos genes *GPD1* e *ACSL1*, que estão envolvidos na síntese de triglicerídeos e na síntese e transporte de ácidos graxos, respectivamente, além de ter gerado um aumento na expressão do gene *Il-6* que está envolvido na resposta inflamatória (FAULCONNIER *et al.*, 2019). Já em humanos, maior expressão do gene *AZGPI* inibiu a lipogênese, promoveu a lipólise e oxidação de ácidos graxos, atenuou o acúmulo intracelular de gordura no fígado, enquanto uma menor expressão desse gene inibiu a oxidação de ácidos graxos, aumentou a lipogênese e o acúmulo de lipídios (XIAO *et al.*, 2017). Alterações no metabolismo lipídico no fígado podem gerar um ambiente de estresse que compromete o metabolismo da ureia, com consequente efeito sobre os níveis circulantes de ureia. Sabe-se também que os níveis circulantes de *AZGPI* estão aumentados em pacientes com lesão renal aguda (SÖRENSEN-ZENDER *et al.*, 2013), o que pode levar a problemas na excreção de ureia.

O gene *LAMTOR4* (*late endosomal/lysosomal adaptor, MAPK and MTOR activator 4*) codifica uma importante proteína do complexo *Rag-Ragulator*, que tem papel essencial na formação de lisossomos (SHEN, SIDIK e TALBOT, 2016). Portanto, pode ter consequências sobre os processos de autofagia nas células. Sabe-se que a autofagia tem um papel crucial na fisiologia e metabolismo no fígado, podendo gerar uma série de doenças hepáticas (WANG, LIU, *et al.*, 2019). Além disso, ele é importante para a ativação do complexo mTOR 1 (mTORC1) (BAR-PELED *et al.*, 2012), uma serina-treonina-quinase evolutivamente conservada que atua na regulação do crescimento, proliferação e metabolismo celular, com relevante função na manutenção da homeostase das células renais e da autofagia. Além disso, esta quinase tem sido implicada no desenvolvimento de doença glomerular, doença renal policística, lesão renal aguda e

rejeição de transplante renal (FANTUS *et al.*, 2016). Logo, o gene *LAMTOR4* pode estar influenciando os níveis de ureia via processos de autofagia no fígado ou nos rins.

O gene candidato *SMURF1* (*SAMD Specific E3 Ubiquitin Protein Ligase 1*), aqui encontrado na janela do cromossomo 24, regula de forma seletiva os processos de autofagia (ORVEDAHL *et al.*, 2011), logo tem importante papel na proteção dos tecidos onde se expressa. Além disso, prévios estudos demonstraram que a deficiência de expressão do gene *SMURF1* interfere na expressão do *PPAR γ* , afetando a síntese de lipídios e levando a esteatose hepática em camundongos com dieta rica em gordura (ZHU *et al.*, 2018). Logo, este gene pode ter um papel importante na proteção do fígado de animais recebendo dietas com alta caloria, como é o caso de animais de produção. Além disso, a análise no DAVID revelou a via Endocitose como significativa ($P = 0,012$), a qual contém os genes *SMURF1*, *RAB31* (*member RAS oncogene family*), aqui localizado no cromossomo 23, *ARPC1A* (*actin related protein 2/3 complex subunit 1A*) e *ARPC1B* (*actin related protein 2/3 complex subunit 1B*), ambos localizados no cromossomo 24. Sabe que o silenciamento do gene *RAB31* induz a apoptose de células e previne o carcinoma hepatocelular (SUI, ZHENG e ZHAO, 2015; PAN *et al.*, 2016). Já os genes *ARPC1A* e *ARPC1B* codificam proteínas muito semelhantes que funcionam como subunidades p41 do completo proteico Arp2/3, o qual está envolvido no controle da polimerização de actina em diferentes tipos celulares. A regulação dinâmica do citoesqueleto de actina do podócito é vital para a função normal do filtro renal e mutações que afetem proteínas do podócito levam ao rearranjo do citoesqueleto de actina, o que causa proteinúria (TRYGGVASON, PIKKARAINEN e PATRAKKA, 2006). Assim, toda proteína que tem papel regulador da dinâmica da actina dos podócitos são cruciais para o filtro glomerular (FAUL *et al.*, 2007).

Os dois únicos genes de função conhecida mapeados na janela localizada no cromossomo 3 (*PDZRN4* e *CNTN1*) foram previamente reportados em estudos que avaliaram o desenvolvimento de carcinoma hepático. O gene *PDZRN4* (*PDZ domain containing ring finger 4*) parece ter um papel importante como supressor da proliferação celular em linhas celulares de câncer de fígado em humanos (HU, YANG e HAN, 2015). Já a maior expressão do gene *CNTN1* (*Contactin 1*) foi associada com maior desenvolvimento e metástase de carcinoma hepático (LI *et al.*, 2016). Porém, os efeitos destes genes sobre condições hepáticas normais ainda não são conhecidos.

As primeiras etapas do ciclo da ureia no fígado ocorrem na matriz mitocondrial (BIGOT *et al.*, 2017), que é envolvida por duas membranas. Na membrana mais interna se encontra o sistema de fosforilação oxidativa, que tem papel importante no metabolismo energético celular (JANSSEN *et al.*, 2006). Aqui nós identificamos como candidato para níveis de ureia o gene *NDUFV2* (*NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit V2*), que codifica uma subunidade do Complexo I, importante componente do sistema de fosforilação oxidativa (JANSSEN *et al.*, 2006). O Complexo I catalisa a oxidação de NADH e contribui para a síntese de ATP (COO *et al.*, 1995). Além disso, sabe-se que o complexo I gera espécies reativas de oxigênio que podem danificar componentes celulares, sendo considerado um bom preditor da longevidade de mamíferos (MOTAMARTORELL *et al.*, 2010). Recentes estudos demonstraram que o gene *NDUFV2* pode estar envolvido na fibrose de células hepáticas, dada sua alta expressão em células com fibrose hepática (YIN *et al.*, 2020).

O gene *CLOCK* (*clock circadian regulator*), encontrado na janela do cromossomo 6 (Tabela 3), codifica uma proteína que está envolvida na regulação transcricional de muitos genes no fígado de camundongos (OISHI *et al.*, 2003), o que pode ter efeito sobre

várias funções fisiológicas (REINKE e ASHER, 2016). Dentre essas funções, destaca-se a homeostase do nitrogênio, que exibe periodicidade de 24 horas em camundongos e seres humanos e é dependente do gene *KLF15*, que por sua vez tem a expressão dependente do sistema CLOCK/BMAL1 (JEYARAJ *et al.*, 2012). Além disso, sabe-se que metabólitos do ciclo da ureia (*ornithine*, *citrulline* e *4-guanidino-butyrate*) exibem um ritmo circadiano (MINAMI *et al.*, 2009), pois pelo menos três proteínas do ciclo da ureia (*Carbamoyl phosphate synthetase 1*, *Argi-nosuccinate synthetase 1* e *Arginase 1*) também apresentam ritmo circadiano (REDDY *et al.*, 2006). Assim, o gene *CLOCK* pode ter efeito sobre os níveis de ureia circulante, ao afetar diretamente a transcrição de genes que codificam proteínas que tem papel importante no ciclo ureia.

O gene *NMU* (*Neuromedin U*) codifica um neuropeptídeo bioativo que tem múltiplas funções fisiológicas e está envolvido na ocorrência de obesidade (HAINEROVÁ *et al.*, 2006). Camundongos com bloqueio do gene *NMU* exibiram fígado gorduroso (HANADA *et al.*, 2004), enquanto camundongos com alta expressão deste gene apresentaram reduzido acúmulo de gordura no fígado (KOWALSKI *et al.*, 2005). Assim, o *NMU* tem importante papel em doenças hepáticas ocasionadas pelo excessivo acúmulo de gordura no fígado (TERANISHI *et al.*, 2018).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da associação genômica ampla realizado aqui identificou várias regiões genômicas que explicam ao menos 1% da variância genética aditiva das dosagens de albumina e ureia em ovinos Santa Inês. Alguns genes candidatos foram identificados, os quais estão relacionados a processos fisio-patológicos no fígado ou nos rins. Logo, o efeito sobre as concentrações de albumina ou ureia podem estar relacionados com a síntese no fígado ou com os processos de excreção que tem início nos rins. Ressalta-se que este é primeiro estudo a identificar genes candidatos para estas variáveis em animais de produção, sendo, portanto, uma fonte de referência para futuros estudos. Um próximo passo pode ser o sequenciamento completo dos genes candidatos aqui identificados, para a realização de estudos de associação com maior densidade de marcadores nestas regiões, o que permitirá identificar as variantes que são responsáveis pelo controle parcial da variância genética aditiva nos níveis circulantes de ureia e albumina em ovinos Santa Inês.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASIF-DAR, M.; HAQUE, A.; ISLAM, A.; HASSAN, I.; AHMAD, F.
Characterisation of molten globule-like state of sheep serum albumin at physiological pH. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 605-613, 2016.
- AGUILAR I.; MISZTAL I.; JOHNSON D. L.; LEGARRA A.; TSURUTA S.;
LAWLOR T. J. Hot topic: a unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 743-752, 2010.
- AZEVEDO, H. C.; PAIVA, S. R.; MCMANUS, C. M.; MUNIZ, E. N.; OLIVEIRA, A. A.; DANTAS, T. V. M.; PINTO, L. F. B.; SILVA, R. S. Biotecnologias de seleção, conservação e multiplicação de recursos genéticos de ovinos Santa Inês. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 19, p. 46-51, 2016.
- BALDING, D. J. A tutorial on statistical methods for population association studies. **Nature Review Genetics**, v. 7, p. 781-791, 2006.
- BARIONI, G.; FONTEQUE, J. H.; PAES, P. R. O.; TAKAHIRA, R. K.;
KOHAYAGAWA, A.; LOPES, R. S.; LOPES, S. T. A.; CROCCI, A. J. Valores séricos de cálcio, fósforo, sódio, potássio e proteínas totais em caprinos fêmeas da raça Parda Alpina. **Ciência Rural**, v. 31, p. 435-438, 2001.
- BAR-PELED, L.; SCHWEITZER, L. D.; ZONCU, R.; SABATINI, D. M. Ragulator is a GEF for the Rag GTPases that signal amino acid levels to mTORC1. **Cell**, v. 150, p. 1196-1208, 2012.
- BERTON, M. P.; SILVA, R. M. O.; PERIPOLLI, E.; STAFUZZA, N. B.; MARTIN, J. F.; ÁVAREZ, M. S.; GAVINÃ, B. V.; TORO, M. A.; BANCHERO, G.; OLIVEIRA, P. S.; ELER, J. P.; BALDI, F.; FERRAZ, J. B. S. Genomic regions and pathways associated with gastrointestinal parasites resistance in Santa Inês breed adapted to tropical climate. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 8, p. 73, 2017.

BIGOT, A.; TCHAN, M. C.; THOREAU, B.; BLASCO, H.; MAILLOT, F. Liver involvement in urea cycle disorders: a review of the literature. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 40, p. 757–769, 2017.

BRAUN, J. P.; TRUMEL, C.; BÉZILLE, P. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 10–18, 2010.

BRITO, M. A.; GONZÁLEZ, F. D.; RIBEIRO, L. A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.; BARBOSA, P. R.; BERGMANN, G. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, v. 36, p. 942-948, 2006.

BROCKER, C.; LASSEN, N.; ESTEY, T.; PAPPAS, A.; CANTORE, M.; ORLOVA, V. V.; CHAVAKIS, T.; KAVANAGH, K. L.; OPPERMANN, U.; VASILIOU, V. Aldehyde dehydrogenase 7A1 (ALDH7A1) is a novel enzyme involved in cellular defense against hyperosmotic stress. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, p. 18452-18463, 2010.

CALDEIRA, R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 100, p. 125-139, 2005.

CASAS, E.; LEACH, R.J.; REINHARDT, T.A.; THALLMAN, R.M.; LIPPOLIS, J.D.; BENNETT, G. L.; KUEHN, L. A. Genomewide association study identified CYP2J2 as a gene controlling serum vitamin D status in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 3549–3556, 2013.

CASTROP, H.; SCHIEBL, I. M. Novel routes of albumin passage across the glomerular filtration barrier. **Acta Physiologica**, v. 219, p. 546-555, 2017.

CHARBA, D. S.; WIGGINS, R. C. GOYAL, M.; WHARRAM, B. L.; WIGGINS, J. E.; MCCARTHY, E. T.; SHARMA, R.; SHARMA, M.; SAVIN, V. J. Antibodies to protein tyrosine phosphatase receptor type O (PTPro) increase glomerular albumin permeability (P(alb)). **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 297, p. F138-F144, 2009.

CHEN, Y.; XIANG, H.; ZHANG, Y.; WANG, J.; YU, G. Loss of PCDH9 is associated with the differentiation of tumor cells and metastasis and predicts poor survival in gastric cancer. **Clinical and Experimental Metastasis**, v. 32, p. 417-428, 2015.

CHUNG, J. J.; HUBER, T. B.; GÖDEL, M.; JARAD, G.; HARTLEBEN, B.; KWOH, C.; KEIL, A.; KARPITSKIY, A.; HU, J.; HUH, C. J.; CELLA, M.; GROSS, R. W.; MINER, J. H.; SHAW, A. S. Albumin-associated free fatty acids induce macropinocytosis in podocytes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 125, p. 2307-2316, 2015.

CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: GONZÁLEZ, F. H. D., et al. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p. 23-30.

CONTRERAS, P.; WITTEWER, F.; BÖHMWALD, H. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional dos ovinos. In: GONZÁLEZ, F. H. D., et al. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p. 75-88.

COO, R.; BUDDIGER, P.; SMEETS, H.; KESSEL, A. G. V.; MORGAN-HUGHES, J.; WEGHUIS, D. O.; OVERHAUSER, J.; OOST, B. V. Molecular cloning and characterization of the active human mitochondrial NADH:ubiquinone oxidoreductase 24-kDa gene (NDUFV2) and its pseudogene. **Genomics**, v. 26, p. 461-466, 1995.

DATTA, P. K.; MOSES, H. L. STRAP and Smad7 synergize in the inhibition of transforming growth factor beta signaling. **Molecular and Cellular Biology**, v. 20, p. 3157-3167, 2000.

DU, C.; FANG, M.; LI, Y.; LI, L.; WANG, X.. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. **Cell**, v. 102, p. 33-42, 2000.

ERKAN, E.; DEVARAJAN, P.; SCHWARTZ, G. J. Mitochondria are the major targets in albumin-induced apoptosis in proximal tubule cells. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 18, p. 1199-1208, 2007.

- ERKAN, M.; KLEEFF, J.; ESPOSITO, I.; GIESE, T.; KETTERER, K.; BÜCHLER, M. W.; GIESE, N. A.; FRIESS, H. Loss of BNIP3 expression is a late event in pancreatic cancer contributing to chemoresistance and worsened prognosis. **Oncogene**, v. 24, p. 4421-4432, 2005.
- FANTUS, D.; ROGERS, N. M.; GRAHAMMER, F.; HUBER, T. B.; THOMSON, A. W. Roles of mTOR complexes in the kidney: implications for renal disease and transplantation. **Nature Reviews Nephrology**, v. 12, p. 587–609, 2016.
- FAUL, C.; ASANUMA, K.; YANAGIDA-ASANUMA, E.; KIM, K.; MUNDEL, P. Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton. **Trends in Cell Biology**, v. 17, p. 428–437, 2007.
- FAULCONNIER, Y.; BOBY, C.; PIRES, J.; LABONNE, C.; LEROUX, C. Effects of *Azgp1*^{-/-} on mammary gland, adipose tissue and liver gene expression and milk lipid composition in lactating mice. **Gene**, v. 692, p. 201-207, 2019.
- FRAZER, K. A.; MURRAY, S. S.; SCHORK, N. J.; TOPOL, E. J. Human genetic variation and its contribution to complex traits. **Nature Reviews**, v. 10, p. 241-251, 2009.
- FRIEDMAN, A. N.; FADEM, S. Z. Reassessment of albumin as a nutritional marker in kidney disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 21, p. 223-230, 2010.
- GONZÁLEZ, F. H. D. O perfil metabólico no estudo de doenças de produção em vacas leiteiras. **Arquivo da Faculdade Veterinária UFRGS**, 25, 1997. 13-33.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; CONCEIÇÃO, T. R.; SIQUEIRA A. J. S.; LA ROSA, V. L. Variações sanguíneas de ureia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no rio grande do sul. **A Hora Veterinária**, v. 20, p. 59 - 62, 2000.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R. **Doze leituras em bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 73-88.
- GRIGORYEV, D. N.; CHERANOVA, D. I.; HERUTH, D. P.; HUANG, P.; ZHANG, L. Q.; RABB, H.; YE, S. Q. Meta-analysis of molecular response of kidney to ischemia

reperfusion injury for the identification of new candidate genes. **BMC Nephrology**, v. 14, p. 231, 2013.

HAIDA, K. S.; GONZÁLEZ, F. H. D.; PARZIANELLO, N.; FLANGER, C.; FIGUR, K. C.; BORG, L. Estudo do perfil metabólico de um rebanho leiteiro do oeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 17, p. 72-76, 1996.

HAINEROVÁ, I.; TOREKOV, S. S.; EK, J.; FINKOVÁ, M.; BORCH-JOHNSEN, K.; JØRGENSEN, T.; MADSEN, O. D.; LEBL, J.; HANSEN, T.; PEDERSEN, O. Association between Neuromedin U Gene Variants and Overweight and Obesity. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 91, p. 5057–5063, 2006.

HANADA, R.; TERANISHI, H.; PEARSON, J. T.; KUROKAWA, M.; HOSADA, H.; FUKUSHIMA, N.; FUKUE, Y.; SERINO, R.; FUJIHARA, H.; UETA, Y.; IKEMA, M.; OKABE, M.; MURAKAMI, N.; SHIRAI, M.; YOSHIMATSU, H.; KANGAWA, K.; KOJIMA, M. Neuromedin U has a novel anorexigenic effect independent of the leptin signaling pathway. **Nature Medicine**, v. 10, p. 1067-1073, 2004.

HEIKKILÄ, E.; RISTOLA, M.; HAVANA, M.; JONES, N.; HOLTHÖFER, H.; LEHTONEN, S. Trans-interaction of nephrin and Neph1/Neph3 induces cell adhesion that associates with decreased tyrosine phosphorylation of nephrin. **Biochemical Journal**, v. 435, p. 619-628, 2011.

HIRSCHHORN, J. N.; DALY, M. J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, p. 95-108, 2005.

HU, T.; YANG, H.; HAN, Z. G. PDZRN4 acts as a suppressor of cell proliferation in human liver cancer cell lines. **Cell Biochemistry and Function**, v. 33, p. 443-449, 2015.

HUMBERT, C.; SILBERMANN, F.; MORAR, B.; PARISOT, M.; ZARHRATE, M.; MASSON, C.; TORES, F.; BLANCHET, P.; PEREZ, M-J.; PETROV, Y.; KIEN, P. K. V.; ROUME, J.; LEROY, B.; GRIBOUVAL, O.; KALAYDJIEVA, L.; HEIDET, L.; SALOMON, R.; ANTIGNAC, C.; BENMERAH, A.; SAUNIER, S.; JEANPIERRE, C. Integrin alpha 8 recessive mutations are responsible for bilateral renal agenesis in humans. **American Journal of Human Genetics**, v. 94, p. 288–294, 2014.

HUMES, H. D.; BUFFINGTON, D. A.; MACKAY, S. M.; FUNKE, A. J.; WEITZEL, W. F. Replacement of renal function in uremic animals with a tissue-engineered kidney. **Nature Biotechnology**, v. 17, p. 451-455, 1999.

HWANG, S. J.; YANG, Q.; MEIGS, J. B.; PEARCE, E. N.; FOX, C. S. A genome-wide association for kidney function and endocrine-related traits in the NHLBI's Framingham Heart Study. **BMC Medical Genetics**, v. 8, p. S10, 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Produção da Pecuária municipal, Pesquisa da Pecuária Municipal. **IBGE**, 2018. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=o-que-e>>. Acesso em: 21 Jan 2018.

IHALMO, P.; SCHMID, H.; RASTALDI, M. P.; MATTINZOLI, D.; LANGHAM, R. G.; LUIMULA, P.; KILPIKARI, R.; LASSILA, M.; GILBERT, R. E.; KERJASCHKI, D.; KRETZLER, M.; HOLTHÖFER, H. Expression of filtrin in human glomerular diseases. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 22, p. 1903–1909, 2007.

JAKOBSSON, P. J.; MORGENSTERN, R.; MANCINI, J.; FORD-HUTCHINSON, A.; PERSSON, B. Membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism (MAPEG). **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, p. S20–S24, 2000.

JANSSEN, R. J. R. J.; NIJTMANS, L. G.; HEUVEL, L. P. V. D.; SMEITINK, J. A. M. Mitochondrial complex I: Structure, function and pathology. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 29, p. 499–515, 2006.

JEYARAJ, D.; SCHEER, F. A. J. L.; RIPPERGER, J. A.; HALDAR, S. M.; LU, Y.; PROSDOCIMO, D. A.; EAPEN, S. J.; EAPEN, B. L.; CUI, Y.; MAHABELESWAR, G. H.; LEE, H-G.; SMITH, M. A.; CASADESUS, G.; MINTZ, E. M.; SUN, H.; WNAG, Y.; RAMSEY, K. M.; BASS, J.; SHEA, S. A.; ALBRECHT, U.; JAIN, M. K. Klf15 Orchestrates Circadian Nitrogen Homeostasis. **Cell Metabolism**, v. 15, p. 311-323, 2012.

JIAO, X.; SHERMAN, B. T.; HUANG, D. W.; STEPHENS, R.; BASELER, M. W.; LANE, H. C.; LEMPICKI, R. A. DAVID-WS: a stateful web service to facilitate gene/protein list analysis. **Bioinformatics**, v. 28, p. 1805-1806, 2012.

JUSTO, P.; LORZ, C.; GÓMEZ-GARRE, D.; MEZZANO, S.; EGIDO, J.; ORTIZ, A. Expression of Smac/Diablo in tubular epithelial cells and during acute renal failure.

Kidney International Supplements, v. 86, p. S52-S56, 2003.

KAMATANI, Y.; MATSUDA, K., OKADA, Y., KUBO, M., HOSONO, N., DAIGO, Y., NAKAMURA, Y., KAMATANI N. Genome-wide association study of hematological and biochemical traits in a Japanese population. **Nature Genetics**, v. 42, p. 210-215, 2010.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals (5^a ed.)**. London: Academic Press Inc., 1997. p. 117-138.

KARKAMPOUNA, S.; DIJKE, P. T.; DOOLEY, S.; JULIO, M. K. TGF β signaling in liver regeneration. **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, p. 4103-4113, 2012.

KHAN, S. R.; SHEVOCK, P. N.; HACKETT, R. L. Acute hyperoxaluria, renal injury and calcium oxalate urolithiasis. **The Journal of Urology**, v. 147, p. 226-230, 1992.

KIM, K. H.; LEE, M. S. Autophagy--a key player in cellular and body metabolism. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, p. 322–337, 2014.

KOMINAKIS, A.; HAGER-THEODORIDES, A. L.; ZOIDIS, E.; SARIDAKI, A.; ANTONAKOS, G.; TSIAMIS, G. Combined GWAS and ‘guilt by association’-based prioritization analysis identifies functional candidate genes for body size in sheep. **Genetics Selection Evolution**, v. 49, p. 41, 2017.

KOWALSKI, T. J.; SPAR, B. D.; MARKOWITZ, L.; MAGUIRE, M.; GOLOVKO, A.; YANG, S.; FARLEY, C.; COOK, J. A.; TETZLOFF, G.; HOOS, L.; VECCHIO, R. A. D.; KAZDOBA, T. M.; MCCOOL, M. F.; HWA, J. J.; HYDE, L. A.; DAVIS, H.; VASSILEVA, G.; HEDRICK, J. A.; GUSTAFSON, E. L. Transgenic overexpression of neuromedin U promotes leanness and hypophagia in mice. **Journal of Endocrinology**, v. 185, p. 151-164, 2005.

KURIHARA, H.; SAKAI, T. Cell biology of mesangial cells: the third cell that maintains the glomerular capillary. **Anatomical Science International**, v. 92, p. 173-186, 2017.

- LEE, K. K.; SHIMOJI, M.; HOSSAIN, Q. S.; SUNAKAWA, H.; ANIYA, Y. Novel function of glutathione transferase in rat liver mitochondrial membrane: role for cytochrome c release from mitochondria. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 232, p. 109–118, 2008.
- LI, G. Y.; HUANG, M.; PAN, T-T.; JIA, W-D. Expression and prognostic significance of contactin 1 in human hepatocellular carcinoma. **OncoTargets and Therapy**, v. 9, p. 387–394, 2016.
- LI, S.; TAN, H-Y.; WNAG, N.; ZHANG, Z-J.; LAO, L.; WONG, C-W.; FENG, Y. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 26087-26124, 2015.
- LO, W. Y.; CHEN, S. Y.; WANG, H. J.; SHIH, H. C.; CHEN, C. H.; TSAI, C. H.; TSAI, F. J. Association between genetic polymorphisms of the NPHS1 gene and membranous glomerulonephritis in the Taiwanese population. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, p. 714-718, 2010.
- LUNOVA, M.; GOEHRING, C.; KUSCUOGLU, D.; MUELLER, K.; CHEN, Y.; WALTHER, P.; DESCHEMIN, J-C.; VAULONT, S.; HAYBAECK, J.; LACKNER, C.; TRAUTWEIN, C.; STRNAD, P. Hecpudin knockout mice fed with iron-rich diet develop chronic liver injury and liver fibrosis due to lysosomal iron overload. **Journal of Hepatology**, v. 61, p. 633-641, 2014.
- LV, J.; ZHU, P.; ZHANG, X.; ZHANG, L.; CHEN, X.; LU, F.; YU, Z.; LIU, S. PCDH9 acts as a tumor suppressor inducing tumor cell arrest at G0/G1 phase and is frequently methylated in hepatocellular carcinoma. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, p. 4475–4482, 2017.
- MADUREIRA, K. M.; GOMES, V.; BARCELOS, B.; ZANI, B. H.; SHECAIRA, C. L.; BACCILI, C. C.; BENESI, F. J. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, p. 811-816, 2013.
- MAIA, M. S.; MEDEIROS, I. M.; LIMA, C. A. C. Características reprodutivas de carneiros no Nordeste do Brasil: parâmetros seminais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 35, p. 175-179, 2011.

- MAREK, I.; VOLKERT, G.; JAHN, A.; FAHLBUSCH, F.; ZÜRN, C.; ÖZCAN, Z.; GOPPELT-STRUEBE, M.; HILGERS, K. F.; RASCHER, W.; HARTNER, A. Lack of alpha8 integrin leads to morphological changes in renal mesangial cells, but not in vascular smooth muscle cells. **BMC Molecular and Cell Biology**, v. 11, p. 102, 2010.
- MARTINS E. C.; MAGALHÃES, K A.; SOUZA, J. D. F.; GUIMARÃES, V. P.; BARBOSA, C. M. P.; HOLANDA FILHO, Z. F. Cenários mundial e nacional da caprinocultura e da ovinocultura. **Boletim Ativos de Ovinos e Caprinos**, p. 3-6, 2016.
- MATANOVIC, K.; SEVERIN, K.; MARTINKOVIC, F.; SIMPRAGA, M.; JANICKI, Z.; BARISIC, J. Hematological and biochemical changes in organically farmed sheep naturally infected with *Fasciola hepática*. **Parasitology Research**, v. 101, p. 1657–1661, 2007.
- MEIRA JR. E. B. S.; RIZZO, H.; BENESI, F. J.; GREGORY, L. Influência dos fatores sexuais e etários sobre a proteína total, fração albumina e atividade sérica de aspartato-aminotransferase e gama-glutamilttransferase de ovinos da raça Santa Inês. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, p. 448-454, 2009.
- MERLOT, A. M.; KALINOWSKI, D. S.; RICHARDSON, D. R. Unraveling the mysteries of serum albumin-more than just a serum protein. **Frontiers in Physiology**, v. 5, p. Art-299, 2014.
- MINAMI, Y.; KASUKAWA, T.; KAKAZU, Y.; IIGO, M.; SUGIMOTO, M.; IKEDA, S.; YASUI, A.; VAN DER HORST, G. T.; SOGA, T.; UEDA, H. R. Measurement of internal body time by blood metabolomics. **PNAS**, v. 106, p. 9890–9895, 2009.
- MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; STRABEL, T.; AUVRAY, B.; DRUET, T.; LEE, D. H. **BLUPF90 and related programs (BGF90)**. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier: [s.n.]. p. Communication N° 28-07, 2002.
- MOTA-MARTORELL, N.; JOVE, M.; PRADAS, I.; SANCHES, I.; GÓMEZ, J.; NAUDI, A.; BARJA, G.; PAMPLONA, R. Low abundance of NDUFV2 and NDUFS4 subunits of the hydrophilic complex I domain and VDAC1 predicts mammalian longevity. **Redox Biology**, v. 34, p. 101539, 2010.

NAGAI, K.; DOI, T. CIN85: Implications for the Development of Proteinuria in Diabetic Nephropathy. **Diabetes**, v. 65, p. 3532-3534, 2016.

NRC. **Nutrient requirements of small ruminants. Sheep, goats, cervids and new world camelids.** Washington, D.C.: The NATIONAL ACADEMY PRESS, 2007. 362 p.

OISHI, K.; MIYAZAKI, K.; KADOTA, K.; KIKUNO, R.; NAGASE, T.; ATSUMI, G-I.; OHKURA, N.; AZAMA, T.; MESAKI, M.; YUKIMASA, S.; KOBAYASHI, H.; LITAKA, C.; UMEHARA, T.; HORIKOSHI, M.; KUDO, T.; SHIMIZU, Y.; YANO, M.; MONDEN, M.; MACHIDA, K.; MATSUDA, J.; HORIE, S.; TODO, T.; ISHIDA, N. Genome-wide Expression Analysis of Mouse Liver Reveals CLOCK-regulated Circadian Output Genes. **Journal of Biological Chemistry** , v. 278, p. 41519-41527, 2003.

OKADA, Y.; SIM, X.; GO, M.J.; WU, J.Y.; GU, D.; TAKEUCHI, F.; TAKAHASHI, A.; MAEDA, S.; TSUNODA, T.; CHEN, P.; LIM, S.C.; WONG, T.Y.; LIU, J.; YOUNG, T.L.; AUNG, T.; SEIELSTAD, M.; TEO, Y.Y.; KIM, Y.J.; LEE, J.Y.; HAN, B.G.; KANG, D.; CHEN, C.H.; TSAI, F.J.; CHANG, L.C.; FANN, S.J.C.; MEI, H.; RAO, D.C.; HIXSON, J.E.; CHEN, S.; KATSUYA, T.; ISONO, M.; OGIHARA, T.; CHAMBERS, J.C.; ZHANG, W.; KOONER, J.S.; THE KIDNEYGEN CONSORTIUM, THE CKDGEN CONSORTIUM, ALBRECHT, E.; THE GUGC CONSORTIUM, YAMAMOTO, K.; KUBO, M.; NAKAMURA, Y.; KAMATANI, N.; KATO, N.; HE, J.; CHEN, Y.T.; CHO, Y.S.; TAI, E.S.; TANAKA, T. Meta-analysis identifies multiple loci associated with kidney function-related traits in east Asian populations. **Nature Genetics**, v. 44, p. 904-909, 2012.

ORVEDAHL, A.; SUMPTER JR. R.; XIAO, G.; NG, A.; ZOU, Z.; TANG, Y.; NARIMATSU, M.; GILPIN, C.; SUN, Q.; ROTH, M.; FORST, C. V.; WRANA, J. L.; ZHANG, Y. E.; LUBY-PHELPS, K.; XAVIER, R. J.; XIE, Y.; LEVINE, B. Image-based genome-wide siRNA screen identifies selective auto-phagy factors. **Nature**, v. 480, p. 113-117, 2011.

OZALTIN, F.; IBSIRLIOGLU, T.; TASKIRAN, E. Z.; BAYDAR, D. E.; KAYMAZ, F. BUYUKCELİK, M.; KILIC, B. D.; BALAT, A.; IATROPOULOS, P., ASAN, E.;

- AKARSU, N. A.; SCHAEFER, F.; YILMAZ, E.; BAKKALOGLU, A. PODONET CONSORTIUM. Disruption of PTPRO Causes Childhood-Onset Nephrotic Syndrome. **The American Journal of Human Genetics**, v. 89, p. 139–147, 2011.
- PAN, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, L.; LIU, Y.; FENG, Y.; YAN, J. The Critical Role of Rab31 in Cell Proliferation and Apoptosis in Cancer Progression. **Molecular Neurobiology**, v. 53, p. 4431-4437, 2016.
- PATRAKKA, J.; KESTILÄ, M.; WARTIOVAARA, J.; RUOTSALAINEN, V.; PÄIVI, T.; LENKKERI, U.; MÄNNIKKÖ, M.; VISAPÄÄ, I.; HOLMBERG, C.; RAPOLA, J.; TRYGGVASON, K.; JALANKO, H. Congenital nephrotic syndrome (NPHS1): features resulting from different mutations in Finnish patients. **Kidney International**, v. 58, p. 972-980, 2000.
- PATRAKKA, J.; TRYGGVASON, K. Nephrin - a unique structural and signaling protein of the kidney filter. **Trends in Molecular Medicine**, v. 13, p. 396-403, 2007.
- PAYNE, J. M. The Compton metabolic profile test. **BSAP Occasional Publication**, v. 1, p. 3–12, 1978.
- PAYNE, J. M.; DEW, S. M.; MANSTON, R.; FAULKS, M. The use metabolic profile test in dairy herds. **Veterinary Record**, v. 87, p. 150-158, 1970.
- PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford: Oxford University Press, 1987. 188 p.
- PEREIRA, J. C. C. **Melhoramento genético aplicado à produção animal**. 5. ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2008. 617 p.
- PÉRTILE, S. F. N.; SILVA, F. F.; SALVIAN, M. M. G. B. Seleção e associação genômica ampla para o melhoramento genético animal com uso do método ssGBLUP. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 1729-1736, 2016.
- POLIZOPOULOU, Z. S. Haematological tests in sheep health management. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 88-91, 2010.
- PRINS, B. P.; KUCHENBAECKER, K. B.; BAO, Y.; SMART, M.; ZABANEH, D.; FATEMIFAR, G.; LUAN, J.; WAREHAM, N. J.; SCOTT, R. A.; PERRY, J. R. B.;

LANGENBERG, C.; BENZEVAL, M.; KUMARI, M.; ZEGGINI, E. Genome-wide analysis of health-related biomarkers in the UK Household longitudinal study reveals novel associations. **Scientific Reports**, v. 7, p. 11008, 2017.

RABELINK, T. J.; ZEEUW, D. The glycocalyx—linking albuminuria with renal and cardiovascular disease. **Nature Reviews Nephrology**, v. 11, p. 667–676, 2015.

REDDY, A. B.; KARP, N. A.; MAYWOOD, E. S.; SAGE, E. A.; DEERY, M.; O'NEIL, J. S.; WONG, G. K. Y.; CHESMAN, J.; ODELL, M.; LILLEY, K. S.; KYRIACOU, C. P.; HASTINGS, M. H. Circadian Orchestration of the Hepatic Proteome. **Current Biology**, v. 16, p. 1107–1115, 2006.

REINKE, H.; ASHER, G. Circadian Clock Control of Liver Metabolic Functions. **Gastroenterology**, v. 150, p. 574–580., 2016.

RIBEIRO, L. A. O.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CONCEIÇÃO, T. R.; BRITO, M. A.; LA ROSA, V.; CAMPOS, R. Perfil metabólico de borregas Corriedale em pastagem nativa do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, p. 167 – 170, 2003.

ROTHSCHILD, M. A.; ORATZ, M.; SCHREIBER, S. S. Regulation of albumin metabolism. **Annual Review of Medicine**, v. 26, p. 91-104, 1975.

SANTRA, S.; BAUMANN, U. Experience of nitisinone for the pharmacological treatment of hereditary tyrosinaemia type 1. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 9, p. 1229-1236, 2008.

SCHNATWINKEL, C.; CHRISTOFORIDIS, S.; LINDSAY, M. R.; UTTERNWEILER-JOSEPH, S.; WILM, M.; PARTON, R. G.; ZERIAL, M. The Rab5 effector Rabankyrin-5 regulates and coordinates different endocytic mechanisms. **PLOS Biology**, v. 2, p. E261, 2004.

SHEN, K.; SIDIK, H.; TALBOT, W. S. The Rag-Ragulator Complex Regulates Lysosome Function and Phagocytic Flux in Microglia. **Cell Reports**, v. 14, p. 547–559, 2016.

SÖRENSEN-ZENDER, I.; BENEKE, J.; SCHMIDT, B. M. W.; MENNE, J.; HALLER, H.; SCHMITT, R. Zinc-alpha2-glycoprotein in patients with acute and chronic kidney disease. **BMC Nephrology**, v. 14, p. 145, 2013.

- SORIO, A.; RASI, L. Ovinocultura e abate clandestino: um problema fiscal ou uma solução de mercado?. **Revista de Política Agrícola**, v. XIX, p. 71-83, 2010.
- STAUFNER, C.; HAACK, T. B.; FEYH, P.; GRAMER, G.; RAGA, D. E.; TERRILE, C.; SAUER, S.; OKUN, J. G.; FANG-HOFFMANN, J.; MAYATEPEK, E.; PROKISCH, H.; HOLFMANN, G. F.; KÖLKER, S. Genetic cause and prevalence of hydroxyprolinemia. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, v. 39, p. 625–632, 2016.
- SUÁREZ-VEGA, A.; GUTIÉRREZ-GIL, B.; BENAVIDES, J. PEREZ, V.; TOSSER-KLOPP, G.; KLOPP, C.; KEENEL, S. J.; ARRANZ, J. J. Combining GWAS and RNA-Seq Approaches for Detection of the Causal Mutation for Hereditary Junctional Epidermolysis Bullosa in Sheep. **Plos One**, v. 10, p. e0126416, 2015.
- SUI, Y.; ZHENG, X.; ZHAO, D. Rab31 promoted hepatocellular carcinoma (HCC) progression via inhibition of cell apoptosis induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway. **Tumor Biology**, v. 36, p. 8661-8670, 2015.
- TERANISHI, H.; HAYASHI, M.; HIGA, R.; MORI, K.; MIYAZAWA, T.; HINO, J.; AMANO, Y.; TOZAWA, R.; IDA, T.; HANADA, T.; MIYAZATO, M.; HANADA, R.; KANGAWA, K.; NAKAO, K. Role of neuromedin U in accelerating of non-alcoholic steatohepatitis in mice. **Peptides**, v. 99, p. 134-141, 2018.
- TREFTS, E.; GANNON, M.; WASSERMAN, D. H. The liver. **Current Biology**, v. 27, p. R1147-R1151, 2017.
- TRYGGVASON, K.; PIKKARAINEN, T.; PATRAKKA, J. Nck links nephrin to actin in kidney podocytes. **Cell**, v. 125, p. 221–224, 2006.
- TSAI, C. H.; HENDERSON, L. M. Degradation of O-Phosphohydroxylysine in Rat Liver - Purification and properties of 2-aminoadipic semialdehyde dehydrogenase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 249, p. 5790–5792, 1974.
- VANRADEN, P. M.; VAN TASSEL, C. P.; WIGGANS, G. R.; SOSNTERGARD, T. S.; SCHNABEL, R. D.; TAYLOR, J. F.; SCHENKEL, F. S. Invited review: reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 16–24, 2009.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, v. 4, p. 44-47, 2008.

VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, C. P. Cadeia produtiva da ovinocultura no Rio Grande do Sul: Um estudo descritivo.. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 2, p. 9-20, 2009.

WANG, H.; MISZTAL I.; LEGARRA A.; MUIR W. M. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes. **Genetics Research**, v. 94, p. 73-83, 2012.

WANG, H.; MISZTAL, I.; AGUILAR, I.; LEGARRA, A.; FERNANDO, R. L.; VITEZICA, Z.; OKIMOTO, R.; WING, T.; HAWKEN, R.; MUIR, W. M. Genome wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes in a single-step (ssGWAS) for 6 week body weight in broiler chickens. **Frontiers in Genetics**, v. 5, p. 134, 2014.

WANG, H.; LIU, Y.; WANG, D.; XU, Y.; DONG, R.; YANG, Y.; LV, Q.; CHEN, X.; ZHANG, Z. The upstream pathway of mTOR-mediated autophagy in liver diseases. **Cells**, v. 8, p. 1597, 2019.

WANG, Z.; ZHANG H, YANG, H.; WANG, S.; RONG, E.; PEI, W.; LI, H.; WANG, N. Genome-wide association study for wool production traits in a Chinese Merino sheep population. **Plos One**, v. 9, p. e107101, 2014a.

WEINER, I. D.; MITCH, W. E.; SANDS, J. M. Urea and Ammonia Metabolism and the Control of Renal Nitrogen Excretion. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 10, p. 1444–1458, 2015.

WHARRAM, B. L.; GOYAL, M.; GILLESPIE, P. J.; WIGGINS, J. E.; KERSHAW, D. B.; HOLZMAN, L. B.; DYSKO, R. C.; SAUNDERS, T. L.; SAMUELSON, L. C.; WIGGINS, R. C. Altered podocyte structure in GLEPP1 (Ptp^{ro})-deficient mice associated with hypertension and low glomerular filtration rate. **Journal of Clinical Investigation**, v. 106, p. 1281-1290, 2000.

WITTWER, F. Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: GONZÁLEZ, F. H. D., et al. **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000a. p. 9-22.

WITTWER, F. Marcadores Bioquímicos no Controle de Problemas Metabólicos Nutricionais em Gado de Leite. In: GONZALES, F. H. D., et al. **Perfil Meatabólico em Ruminantes - Seu Uso em Nutrição e Doenças Nutricionais**. Porto Alegre: UFRGS, 2000b. p. 53-62.

XIAO, X.; LI, H.; QUI, X.; WANG, Y.; XU, C.; LIU, G.; WEN, G.; LIU, J. Zinc alpha2 glycoprotein alleviates palmitic acid-induced intracellular lipid accumulation in hepatocytes. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 439, p. 155-164, 2017.

YIN, L.; ZHANG, Y.; SHI, H.; FENG, Y.; ZHANG, Z.; ZHANG, L. Proteomic profiling of hepatic stellate cells in alcohol liver fibrosis reveals proteins involved in collagen production. **Alcohol**, v. 86, p. 81-91, 2020.

ZHANG, L.; LIU, J.; ZHAO, F.; REN, H.; XU, L.; LU, J.; ZHANG, S.; ZHANG, X.; WEI, C.; LU, G.; ZHENG, Y.; DU, L. Genome-Wide Association Studies for Growth and Meat Production Traits in Sheep. **Plos One**, v. 8, p. e66569, 2013.

ZHAO, Y. G.; ZHAO, H.; MIAO, L.; WANG, L.; SUN, F.; ZHANG, H. The p53-induced gene *Ei24* is an essential component of the basal autophagy pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, p. 42053–42063, 2012.

ZHU, K.; TANG, Y.; XU, X.; DANG, H.; TANG, L. Y.; WANG, X.; WANG, X. W.; ZHANG, Y. E. Non-proteolytic ubiquitin modification of *PPAR γ* by *Smurf1* protects the liver from steatosis. **Plos Biology**, v. 16, p. e3000091, 2018.