



# Expressão dos genes *Dapper1* e *Dapper2* durante o desenvolvimento do membro de embrião de galinha



UNICAMP



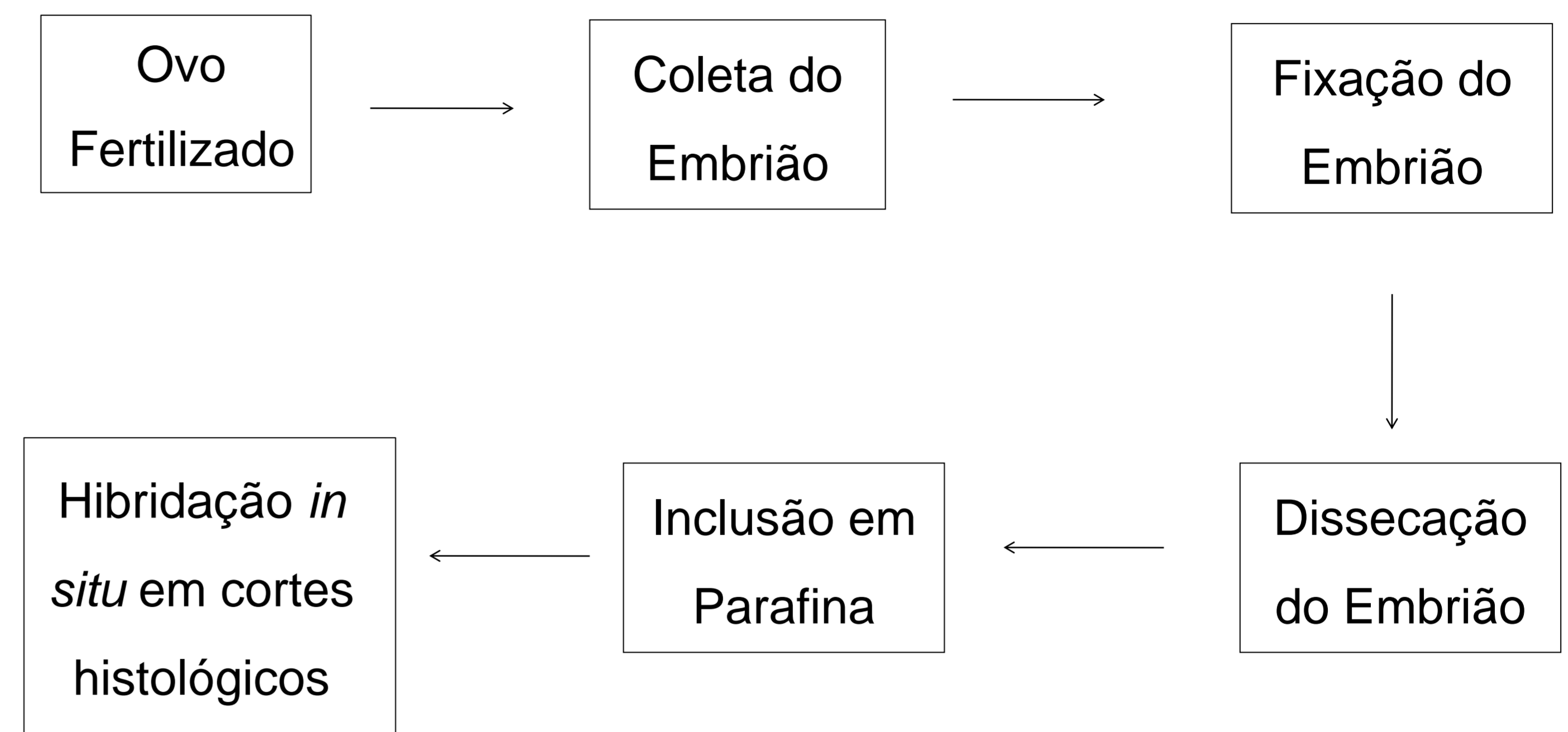
RIRSCH, T.<sup>1C</sup>, PETERLINI, D.J.<sup>1</sup>, PEDROSA, A.V.<sup>1</sup>, SENSIAE, L.A.<sup>1</sup>, ALVARES, L.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>. Laboratório de Biologia do Desenvolvimento, Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – São Paulo

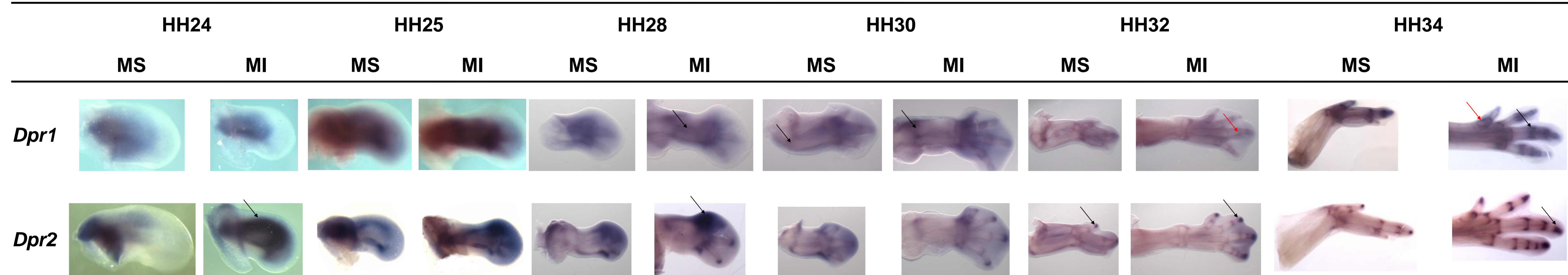
## Introdução

A família dos genes *Dapper* (*Dpr*) tem sido associada a diversos processos do desenvolvimento dos vertebrados, incluindo movimentos morfogenéticos durante a gastrulação, especificação do tecido neural e do mesoderma, além de morfogênese do encéfalo, olhos e coração. Devido a importância desta família gênica, o objetivo deste trabalho é caracterizar o padrão de expressão dos dois parálogos do gene *Dpr* presentes no genoma da galinha (*Dpr1* e *2*) durante o desenvolvimento do membro. Para permitir comparações, os domínios de expressão de marcadores de musculatura esquelética (*MyoD*) e desenvolvimento de cartilagem (*Sox9*) também foram estabelecidos.

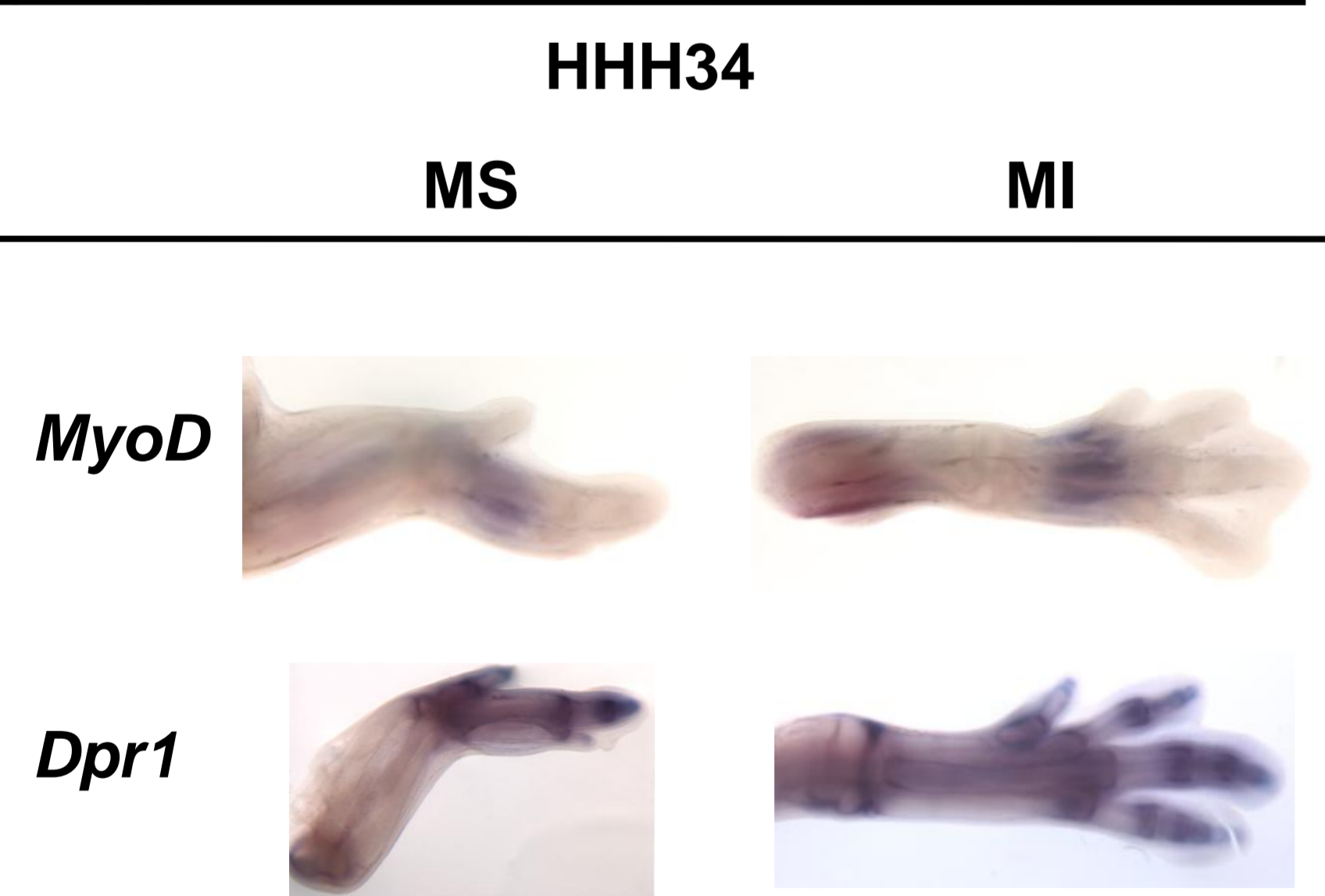
## Material e Métodos



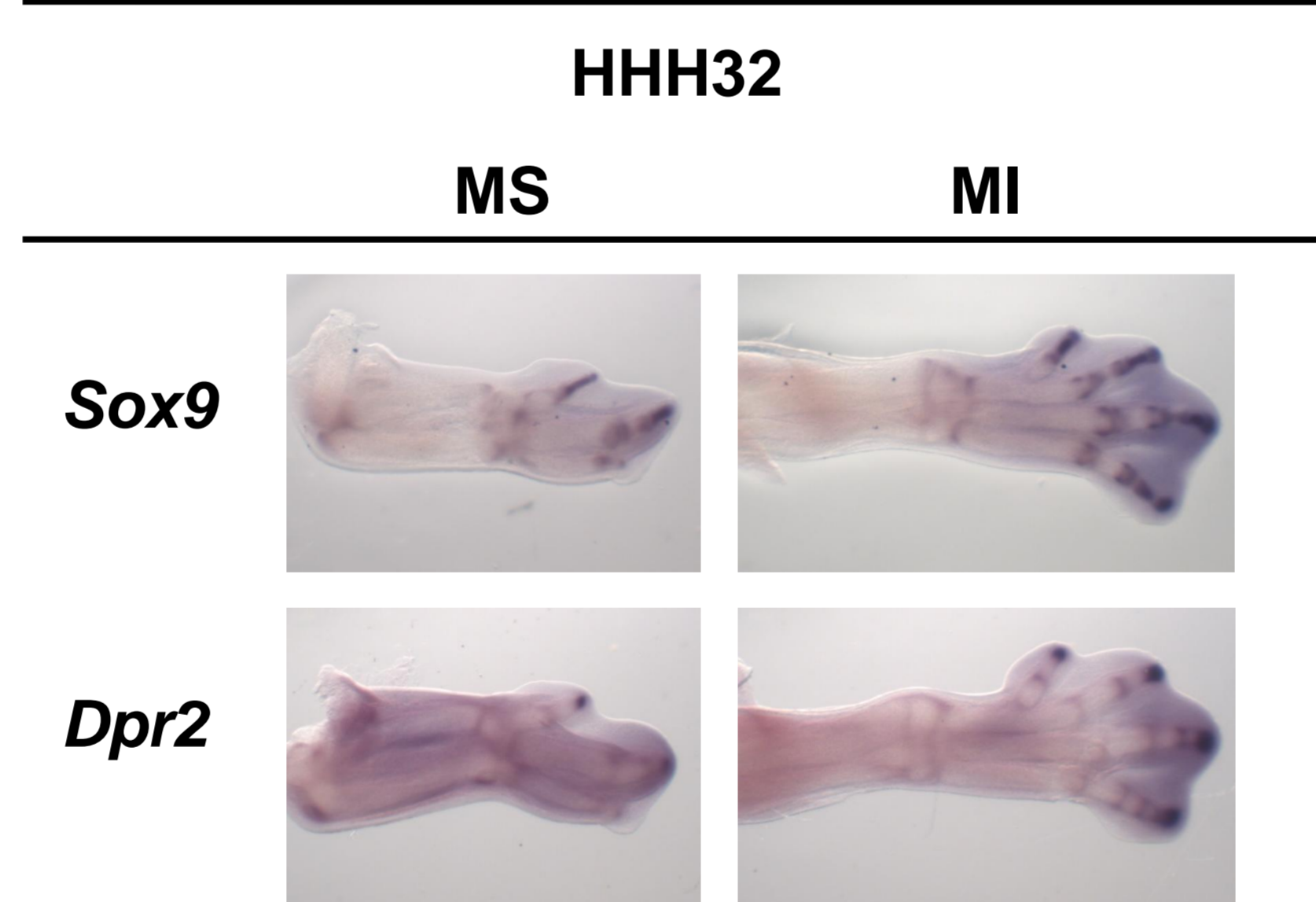
## Resultados e Discussão



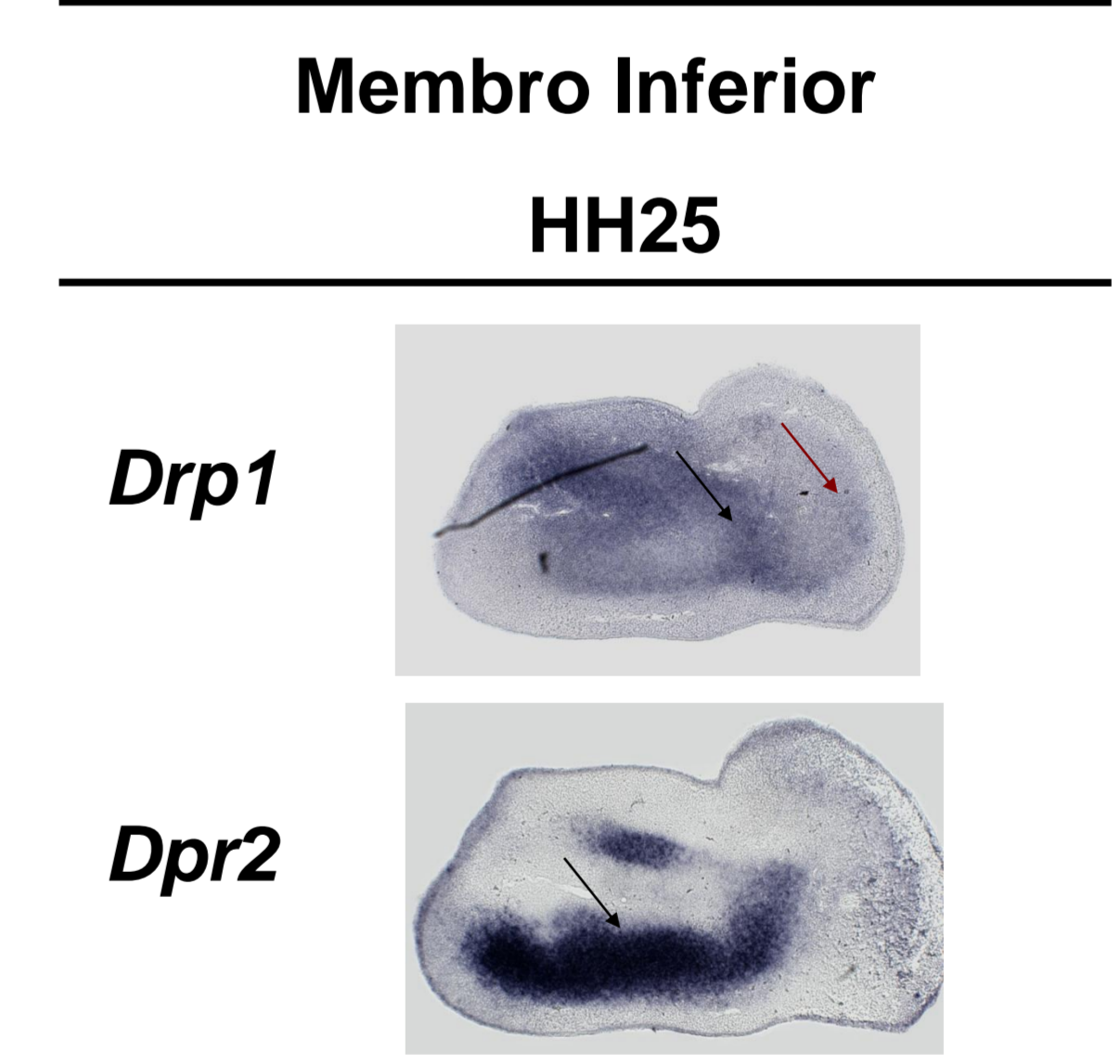
**Figura 1.** Padrão de expressão do *Dpr1* e *Dpr2* durante o desenvolvimento do membro de galinha. Hibridação *in situ whole mount* de embriões de galinha nos estágios HH24, HH25, HH28, HH30, HH32 e HH34 no membro superior (MS) e no membro inferior (MI). Entre os estágios HH24 e HH25, a expressão de *Dpr1* é forte no mesênquima central do broto do membro. Nestes estágios, a expressão de *Dpr2* mostra uma forma de Y fechada por um arco (seta preta). Em HH28, a expressão de *Dpr1* parece rodear a cartilagem do zeugópode, possivelmente na região do pericôndrio (seta preta) e também nas regiões carpal e tarsal. *Dpr2* tem uma expressão notável na região distal do broto do membro, onde localizam-se os blastemas dos dígitos. Observe que há uma expressão muito particular neste estágio nas áreas de morte celular (como nos dígitos 1 e 5 da asa e no dígito 5 da pata) e na região que sofrerá uma rotação espacial do seu eixo (dígito 1 na pata - seta preta). Entre os estágios HH30 e HH32 a expressão de ambos os genes se torna quase totalmente restrita ao autópode. Os transcritos do *Dpr1* estão mais difusos e localizados principalmente nas articulações interfalangiais (seta vermelha), do cotovelo (MS - seta preta) e do joelho (MI - seta preta), assim como na membrana interdigital. *Dpr2* tem uma distribuição intensa de transcritos nas articulações interfalangiais e também na ponta distal dos dígitos (seta preta), que coincide com a região do blastema dos dígitos. Finalmente, em HH34 ambos os transcritos são expressos no autópode, na região da articulação interfalangeal (seta preta). Além disso, *Dpr1* também é encontrado na região metatarsal (seta vermelha), enquanto que *Dpr2* é encontrado na ponta dos dígitos (seta preta).



**Figura 2.** Análise comparativa da expressão de *MyoD* e *Dpr1* no membro de galinha no estágio HHH34. Neste estágio, ambos os genes são expressos principalmente no autópode, mas seus domínios de expressão aparentemente não coincidem.



**Figura 3.** Expressão de *Sox9* e *Dpr2* no broto do membro de galinha no estágio HHH32. É notável a similaridade entre os domínios de expressão de *Sox9* e *Dpr2*, principalmente na extremidade dos dígitos e nas regiões de formação de articulações.



**Figura 4.** Hibridação *in situ* de *Dpr1* e *Dpr2* de cortes longitudinais em parafina do membro posterior de embriões de galinha no estágio HH25. Aqui nos podemos observar a expressão de *Dpr1* ao redor da ulna/radio (seta preta) e no autópode (seta vermelha). *Dpr2* tem sua expressão no mesênquima indiferenciado que antecede a cartilagem. É interessante perceber que seus domínios de expressão parecem ser complementares.

## Conclusões

Nossos resultados sugerem fortemente o envolvimento de ambos os genes *Dapper* no desenvolvimento do membro em galinha. *Dpr1* parece estar envolvido com a formação de elementos da articulação e do pericôndrio. Por outro lado, a expressão de *Dpr2* no broto do membro parece anteceder o aparecimento das condensações condrogênicas, devido a sua expressão parecida com a do *Sox9*. Além disso, *Dpr2* tem uma forte expressão no autópode, especialmente na região onde os dígitos não serão formados, sugerindo o seu envolvimento em processos apoptóticos.

## Perspectivas

O padrão de expressão dos genes *Dpr1* e *Dpr2* de aves sugere que estes genes atuem na condrogênese, na formação de articulações e, possivelmente, de tendões. Ensaio funcionais, visando inativar ou super-expressar estas moléculas, serão realizados no futuro para elucidar o papel dos genes *Dapper* na formação dos membros.