

## DIETAS RICAS EM ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS CONSUMIDAS AO LONGO DE GERAÇÕES PROMOVEM DOWN-REGULATION EM UM GENE RELACIONADO COM A SÍNTESE DE ÁCIDOS GRAXOS

**PATRÍCIA MATTEI<sup>1</sup>; CAROLINA BESPALHOK JACOMETO<sup>1</sup>; EDUARDO SCHMITT<sup>1</sup>; RUBENS ALVES PEREIRA<sup>1</sup>; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO<sup>1</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)  
 Faculdade de Veterinária – Universidade Federal de Pelotas, UFPel  
 Campus Universitário – 96010-900 – Pelotas/RS – Brasil  
 nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec

### 1. INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) da família ômega-3 e ômega-6 são classificados como essenciais, definidos desta forma pela incapacidade de síntese do organismo, sendo necessária a ingestão via dieta (HAGGARTY, 2010). Além de atuarem como fonte energética, os AGPIs estão envolvidos na permeabilidade e composição das membranas celulares, no controle de processos imunológicos e da atividade de diversas enzimas (PEGORIER et al., 2004). Estudos demonstram que a suplementação de ratos com AGPIs durante o período gestacional e no pós-parto recente pode exercer efeito regulatório na expressão gênica de genes relacionados ao metabolismo lipídico e de carboidratos, a nível hepático, tanto da mãe quanto da prole (JUMP et al., 2008; MATHAI et al., 2004).

Dentre os genes que têm sua expressão modulada por AGPIs está o *Fasn* (do inglês, *fatty acid synthase*), que codifica para o complexo enzimático da síntese de ácidos graxos. Este complexo desempenha funções chave no metabolismo lipídico, atuando na homeostase energética, através da conversão do excesso de energia em lipídios para armazenamento, que quando necessário fornecem energia através da  $\beta$ -oxidação, e para a síntese de lipídios do leite durante a lactação (CHIRALA et al., 2003). Sua concentração em tecidos lipogênicos, como por exemplo, o fígado, é extremamente sensível ao status nutricional (MOON et al., 2002).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a expressão hepática do gene *Fasn*, ao longo de três gerações consecutivas de ratas *Wistar* alimentadas com dietas ricas em AGPIs, com diferenças na proporção entre ômega-3 e ômega-6, nos períodos pré e pós-parto.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizadas 36 fêmeas adultas de *Rattus norvegicus* – Wistar/UFPel, alojadas individualmente em caixas, dispostas em estante de circulação de ar, com temperatura controlada ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Inicialmente, os animais passaram por um período de aclimação de 30 dias, e foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo ômega (OM), que recebeu uma dieta rica em ácidos graxos ômega-3 (relação ácido graxo linolênico - LNA: ácido graxo linoleico - LA 2,44:1), tendo como fonte energética o óleo de linhaça e grupo controle (CTL), rico em ácidos graxos ômega-6 (relação LNA:LA 0,007:1), tendo

como fonte energética óleo de soja. As dietas foram formuladas de acordo com as recomendações da AIN-93G (REEVES et al., 1993), de forma que fossem isoproteicas e isoenergéticas, fornecidas *ad libitum* e com controle diário de ingestão individual.

As fêmeas (G0) foram acasaladas numa proporção 3:1, por um período de três dias. No momento do desmame (21 dias), progênies fêmeas foram selecionadas para compor a F1 e foram divididas em três grupos (n = 16/grupo): fêmeas do grupo OM que continuaram a receber dieta contendo óleo de linhaça (OM-OM); fêmeas do grupo OM que passaram a receber dieta contendo óleo de soja (OM-CTL); e fêmeas do grupo CTL que continuaram a receber dieta contendo óleo de soja (CTL-CTL). Estes animais foram acasalados aos 60 dias de idade tal como descrito acima (G0). A F2 (n = 16/grupo) foi selecionada como na F1, e os mesmos grupos foram mantidos: OM-OM-OM; OM-CTL-CTL; e CTL-CTL-CTL. A geração F2 foi acasalada da mesma maneira que a geração F1.

Foram realizadas eutanásias, para coleta de material hepático em todas as gerações, nos momentos pré-parto, entre o 19-20º dia de gestação (n = 4/grupo), e no pós-parto (21 dias, n = 6/grupo). qRT-PCR foi realizada para avaliar a expressão do gene *Fasn*. As análises estatísticas foram realizadas através do Programa SAS 9.0 (*Statistical Analysis System for Windows 9.0 - SAS - SAS Institute Inc., Cary, EUA*), por ANOVA Mixed Models, e foram considerados significantes resultados com  $P < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os grupos foram observadas diferenças apenas na geração F1. No período pré-parto, o grupo OM apresentou menor expressão de *Fasn* comparado ao grupo OM-CTL ( $P = 0,032$ ) (Figura 1A) e no período pós-parto menor expressão comparado ao grupo controle ( $P = 0,006$ ) (Figura 1B).

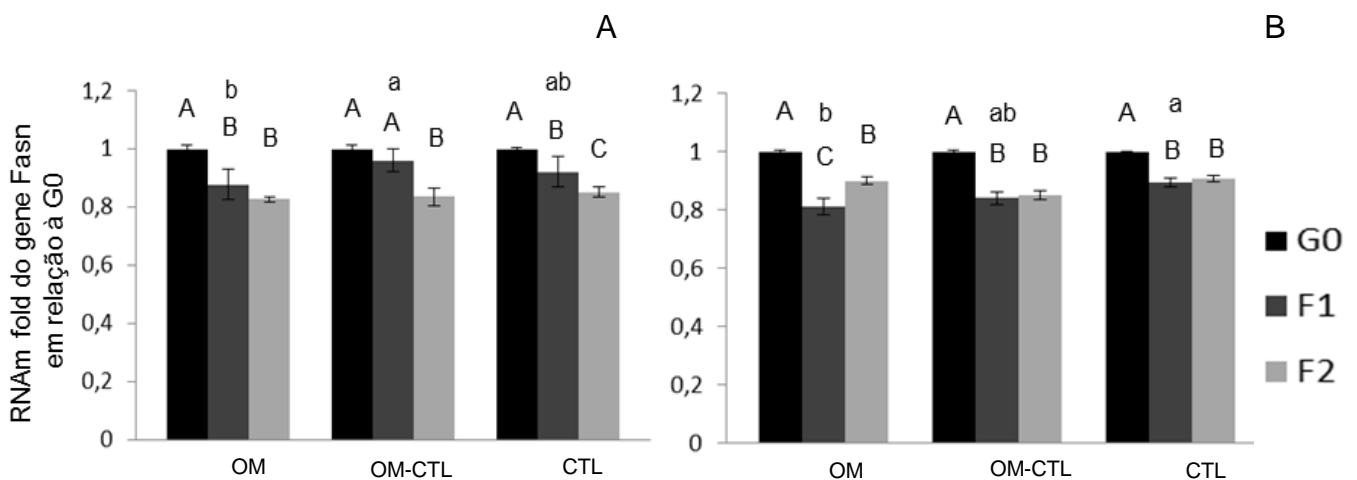


Figura 1– RNAm fold change do gene FASN no momento pré-parto (A) e no pós-parto (B), dos grupos OM, OM-CTL e CTL em F1 e F2 em relação à G0. Letras maiúsculas indicam diferenças no mesmo grupo entre gerações; letras minúsculas indicam diferenças entre os grupos na mesma geração.

Segundo JUMP & CLARKE (1999), dietas que contêm em sua composição AGPIs ômega-3 e ômega-6 suprimem rapidamente a transcrição de genes hepáticos com função lipogênica, como o Fasn. Contudo, AGPIs da família ômega-3 estão especialmente relacionados com a indução da expressão de genes envolvidos na oxidação de ácidos graxos. De acordo com essa afirmação, observou-se menor expressão do Fasn no grupo OM, pois há uma relação inversa entre oxidação e lipogênese.

CLARKE e colaboradores (1997) observaram que a down-regulation de genes modulados por ácidos graxos é restrita a moléculas com 18 carbonos e pelo menos duas insaturações, sendo que a up-regulation é independente do grau de saturação da cadeia carbonada. Este resultado corrobora o encontrado neste estudo, em que houve um decréscimo na expressão do gene Fasn ao longo das gerações, tanto no período pré como no pós-parto, conforme demonstra a Figura 2.

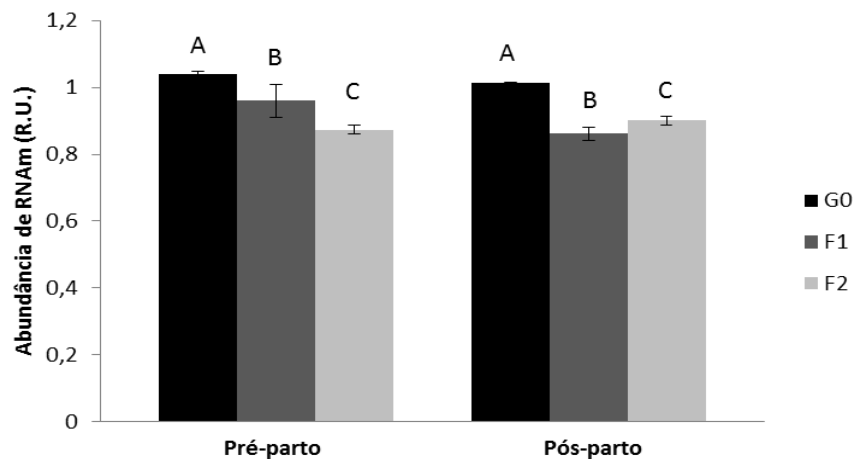


Figura 2 – Abundância de RNAm (U.R.) do gene Fasn, numa média dos grupos OM, OM-CTL e CTL nos momentos pré e pós-parto, ao longo das gerações. Letras maiúsculas indicam diferenças entre as gerações no mesmo momento.

Este resultado também permite inferir que o efeito dos AGPIs na regulação da expressão do gene Fasn é cumulativo ao longo das gerações, independente da família do AGPI que é consumido.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados indicam que o consumo de ácidos graxos poli-insaturados modula a expressão do gene Fasn, diminuindo sua expressão, e este efeito é cumulativo e multigeracional.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHIRALA, S. S.; CHANG, H.; MATZUK, M.; ABU-ELHEIGA, L.; MAO, J.; MAHON, K.; FINEGOLD, M.; WAKIL, S. Fatty acid synthesis is essential in

embryonic development: Fatty acid synthase null mutants and most of the heterozygotes die in utero. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, California, v. 100, n. 11, p. 6358–6363. 2003.

CLARKE, S. D.; BAILLIE, R.; JUMP, D. B.; NAKAMURA, M. T. Fatty acid regulation of gene expression. Its role in fuel partitioning and insulin resistance. **Annual Review of Nutrition**. Gainesville. v. 20, n. 827, p.178–187, 1997.

HAGGARTY, Paul. Fatty acid supply to the human fetus. **Annual Review of Nutrition**. Gainesville, v.30, n.1, p.237-255, 2010.

JUMP, D.B. N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. **Current Opinion in Lipidology**. London, v.19, n. 3, p. 242–247. 2008.

JUMP, D.B. & CLARKE, S.D. Regulation of gene expression by dietary fat. **Annual Review of Nutrition**. Gainesville, v. 19, p. 63-90,1999.

MATHAI, M.L.; SOUEID, M.; CHEN,N.; JAYASOORIYA, A.P.; SINCLAIR, A.J.; WLODEK, M.E., M.E.; WEISINGER, H.S.; WEISINGER, R.S. Does perinatal w-3 polyunsaturated fatty acid deficiency increase appetite signaling? **Obesity Research**. v. 12, n. 11, p. 1886-1894. 2004.

MOON, Y.S.; LATASSA, M.J.; GRIFFIN, M.J.; SUL, H.S. Suppression of fatty acid synthase promoter by polyunsaturated fatty acids. **Journal of Lipid Research**, v. 43, n. 5, p. 691-698, 2002.

PÉGORIER, J.P.; CÉDRIC, L.M.; GIRARD, J. Control of gene expression by fatty acids. **The Journal of Nutrition**. Maryland, v. 134, p. 2444 – 2449, 2004.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition**. Maryland, v.123, n. 11, p. 1939-1951. 1993.