

## CONSUMO DE DIETAS RICAS EM ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS AO LONGO DE GERAÇÕES REGULA A EXPRESSÃO HEPÁTICA DE ENZIMAS RELACIONADAS À OXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS EM RATAS GESTANTES

PATRÍCIA MATTEI<sup>1</sup>; CAROLINA BESPALHOK JACOMETO<sup>1</sup>; EDUARDO SCHMITT<sup>1</sup>; SAMANTA REGINE FENSTERSEIFER<sup>1</sup>; RUBENS ALVES PEREIRA<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

As condições ambientais a qual um indivíduo é exposto no início da vida podem causar profundas mudanças em alguns aspectos fisiológicos do organismo. Estudos em humanos e outros mamíferos demonstram que o status nutricional da mãe influencia o status metabólico do embrião e do feto, e essa alteração no início da vida pode predispor o adulto a síndromes metabólicas como a hipertensão, obesidade e doenças cardiovasculares (LANGLEY-EVANS, 2006; GLUCKMAN et al., 2008; HOWIE et al., 2012).

A cada ano as pesquisas refinam mais os estudos sobre o efeito específico de cada nutriente no metabolismo materno e as influências no desenvolvimento da prole, tais como ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) (MUHLHAUSLER et al., 2011). AGPIs da família ômega-3 e ômega-6 são conhecidos por regularem a expressão de fatores de transcrição que controlam o metabolismo hepático de lipídios. Nos hepatócitos, ocorre *dowregulation* da expressão de diversos genes envolvidos na lipogênese, e *upregulation* de genes envolvidos na oxidação lipídica, que facilita a transferência de ácidos graxos para a mitocôndria (JUMP, 2008; SCORLETTI; BYRNE, 2013).

Estudos demonstram que a suplementação de ratos com AGPIs durante o período gestacional pode exercer efeito regulatório na expressão de genes hepáticos relacionados ao metabolismo lipídico, tanto da mãe quanto da prole (JUMP, 2008; MATHAI et al., 2004). Dentre esses genes modulados por AGPI's estão o CPT1a e o ACADVL.

O CPT1a – carnitina palmitoiltransferase, codifica para uma enzima hepática que catalisa o transporte de acil-CoA de cadeia longa do citoplasma para a matriz mitocondrial, pela conversão do acil-CoA de cadeia longa para acilcarnitinas, possibilitando que estas moléculas sejam metabolizadas através da  $\beta$ -oxidação (SADANA et al., 2007). Já o ACADVL codifica para a enzima acetil-CoA desidrogenase de cadeia muito longa, enzima hepática responsável pelos passos iniciais da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos de cadeia muito longa na mitocôndria (OLSEN et al., 2010).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de dietas ricas em AGPI's com diferentes proporções de ômega-3 e ômega-6 na expressão hepática dos genes CPT1a e ACADVL, ao longo de três gerações consecutivas de ratas *Wistar*, no período pré-parto.

## 2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado 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), progênie fêmeas foram selecionadas para compor a F1 e foram divididas em dois grupos: fêmeas do grupo OM que continuaram a receber dieta contendo óleo de linhaça (OM-OM, n=16) e fêmeas do grupo CTL que continuaram a receber dieta contendo óleo de soja (CTL-CTL, n=16). Estes animais foram acasalados aos 60 dias de idade tal como descrito anteriormente (G0). A F2 foi selecionada como na F1, e os mesmos grupos foram mantidos: OM-OM-OM (n=16) e CTL-CTL-CTL (n=16). A geração F2 foi acasalada da mesma maneira que a geração F1.

Foram realizadas eutanásias para coleta de material hepático em todas as gerações, no momento pré-parto, entre o 19-20º dia de gestação (n = 4/grupo). qRT-PCR foi realizada para avaliar a expressão dos genes CPT1a e ACADVL. 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 valores de  $P < 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo das gerações, observou-se um redução na expressão de CPT1a no grupo OM entre a G0 e F2 ( $P=0,02$ ), enquanto para ACADVL, a redução da expressão entre G0 e F2 foi observada no grupo CTL ( $P = 0,002$ ).

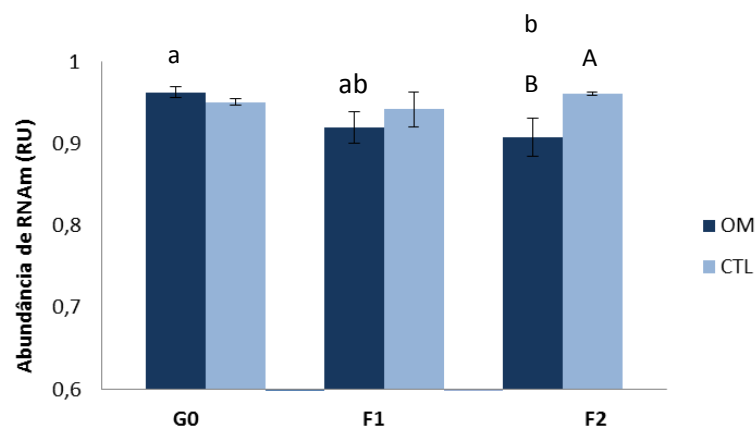


Figura 1 – Abundância de RNAm (U.R.) do gene CPT1a dos grupos OM e CTL no momento pré-parto, ao longo das gerações. Letras maiúsculas indicam diferenças entre grupos na mesma geração, e letras minúsculas indicam diferenças do mesmo grupo ao longo das gerações.

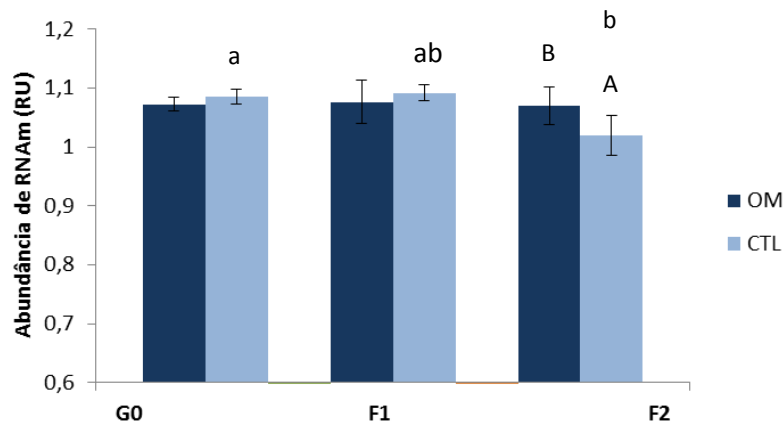


Figura 2 – Abundância de RNAm (U.R.) do gene ACADVL dos grupos OM e CTL no momento pré-parto, ao longo das gerações. Letras maiúsculas indicam diferenças entre grupos na mesma geração, e letras minúsculas indicam diferenças no mesmo grupo ao longo das gerações.

Não foi observado efeito dos tratamentos quando comparadas as médias do período ao longo das gerações (CPT1a,  $P=0,09$ ; e ACADVL,  $P=0,59$ ).

Interessantemente, quando analisado o padrão de expressão desses dois genes na geração F2, observou-se eles apresentam comportamento inverso. Para CPT1a, gene que codifica para uma enzima responsável pela transferência dos AG para a matriz mitocondrial, o grupo CTL apresentou maior expressão comparado ao grupo OM ( $P=0,01$ ). Já para ACADVL, gene que codifica para uma enzima que inicia o processo de beta-oxidação, o grupo OM apresentou maior expressão comparado ao grupo CTL ( $P=0,03$ ). Este comportamento observado apenas na geração F2 pode ser explicado por um mecanismo celular de regulação. Por estas enzimas possuírem funções complementares, a redução na captação de ácidos graxos para a matriz mitocondrial resultou em um aumento no processo de  $\beta$ -oxidação, caracterizando uma regulação no equilíbrio do mecanismo de oxidação de ácidos graxos (JACOMETO et al., 2014).

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados indicam que o consumo de ácidos graxos poli-insaturados ao longo de gerações atua na regulação do mecanismo de oxidação através da modulação da expressão dos genes CPT1a e ACADVL.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GLUCKMAN, P.D.; HANSON M.A.; COOPER, C.; THORNBURG, K.L. Effect of In utero and early-life conditions on adult health and disease. **The New England Journal of Medicine**, Boston, n. 1, v. 359, p. 61-73, 2008.

HOWIE G.; SLOBODA D.; VICKERS M. Maternal undernutrition during critical windows of development results in differential and sex specific effects on postnatal

adiposity and related metabolic profiles in adult rat offspring. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, n. 2, v.108 , p.298-307, 2012.

JACOMETO, C.B.; SCHMITT, E.; PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; BADO, F.; ROSA, F.T.; HALFEN, S. DEL PINO, F.A.B.; LOOR, J.J.; CORRÊA, M.N.; DIONELLO, N.J.L. Linoleic and  $\alpha$ -linolenic fatty acid consumption over three generations exert cumulative regulation of hepatic expression of genes related to lipid metabolism. **Genes & Nutrition**, Berlin, n. 4, v. 9, p. 405 1-11, 2014.

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.

LANGLEY-EVANS, S.C. Developmental programming of health and disease. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, n.1, v.65, p.97-105, 2006.

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**, Malden, n.11, v.12, p. 1886-1894. 2004.

MUHLHAUSLER, B.S.; GIBSON, R.A.; MAKRIDES M. The effect of maternal omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid (n-3 LCPUFA) supplementation during pregnancy and/or lactation on body fat mass in the offspring: A systematic review of animal studies. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, Oxford, n.2, v. 85, p.83–88, 2011.

OLSEN, R.K.J.; DOBROWOLSKI, S.F.; KJELDSEN, M.; HOUGAARD, D.; SIMONSEN, H.; GREGERSEN, N.; ANDRESEN, B.S. High-resolution melting analysis, a simple and effective method for reliable mutation scanning and frequency studies in the *acadv1* gene. **Journal of Inherited Metabolic Disease**, Heidelberg, n.3, v.33, p. 247-260, 2010.

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, n. 11, v.123, p. 1939-1951, 1993.

SADANA, P.; ZHANG, Y.; SONG, S.; COOK G.A.; ELAM M.B.; PARK E.A. Regulation of carnitine palmitoyltransferase I (CPT-I alpha) gene expression by the peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator (PGC-1) isoforms. **Molecular and Cellular Endocrinology**, Philadelphia, n. 267, v. 1, p.6–16, 2007.

SCORLETTI, E.; BYRNE, C.D. Omega-3 fatty acids, hepatic lipid metabolism, and nonalcoholic fatty liver disease. **Annual Reviews in Nutrition**, Gainesville, v.33, p. 231-248, 2013.