

EFEITO DE DIETAS RICAS EM AGPIs NA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE RECEPTORES NUCLEARES RELACIONADOS AO METABOLISMO LIPÍDICO

RENATA LEIVAS DE OLIVEIRA^{1,2}; CAROLINA BESPALHOK JACOMETO¹;
PATRÍCIA MATTEI¹; EDUARDO SCHMITT¹; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT
DEL PINO¹; MARCIO NUNES CORRÊA^{1,3}

¹Núcleo 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

²renataleivas15@hotmail.com; ³marcio.nunescorreia@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Durante o ciclo reprodutivo, o metabolismo animal sofre diversas adaptações, incluindo alterações no metabolismo lipídico. Estas alterações ocorrem com intuito de direcionar os nutrientes circulantes, no período de gestação para o crescimento do feto, durante a lactação para a glândula mamária e no período pós-parto para reposição do tecido adiposo de reserva, que geralmente é utilizado como fonte de energia extra durante o período de lactação (DAMASO; OLLER DO NASCIMENTO, 1998).

Estudos demonstram que a suplementação de ratos com ácidos graxos poli-insaturados (AGPIs) da família ômega-3 e ômega-6 durante o período gestacional e no pós-parto podem exercer efeito regulatório na expressão gênica de genes relacionados ao metabolismo lipídico (HAGGARTY, 2010).

Os receptores nucleares constituem uma família de proteínas que funcionam de forma a induzir ou reprimir a transcrição de genes envolvidos em várias funções fisiológicas importantes, tais como em determinados genes do metabolismo lipídico (GRONEMEYER et al., 2004; SONODA et al., 2008). Os AGPIs atuam também como sinalizadores intracelulares, suprimindo a expressão gênica de genes envolvidos na lipogênese e induzindo a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica (ANDRADE; CARMO, 2006).

Os principais receptores nucleares que medeiam estas funções são RXR- α (do inglês, *retinoid X receptor alpha*), LXR- α (do inglês, *liver X receptor alpha*), PPAR- α (do inglês, *peroxisome proliferator-activated receptor alpha*) e SREBP-1c (do inglês, *sterol regulatory element binding protein-1c*) (JUMP et al., 2005).

No fígado o PPAR- α é a isoforma mais abundantemente (PEGORIER et al., 2004), e quando ativado por AGPIs desencadeia a ativação de genes responsáveis pela β -oxidação de ácidos graxos (JUMP, 2008). Entretanto, para sua ativação e ligação às regiões responsivas ao PPAR- α nos genes alvo é necessário a formação de um heterodímero com outro receptor nuclear, o RXR- α (CONTRERAS et al., 2013).

LXR- α pertence à superfamília de receptores nucleares hormonais, desempenhando um papel crucial na regulação do metabolismo dos ácidos graxos, atuando sinergicamente com o SREBP-1c na regulação transcricional de enzimas lipogênicas e colesterogênicas (TAKEUCHI et al., 2010, YOSHIKAWA et al., 2003).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a expressão de receptores nucleares de ratas Wistar alimentadas com dietas ricas em AGPIs com diferença 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 3 (OM3), 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 (CON), 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 foram acasaladas numa proporção 3:1, por um período de três dias. Foram realizadas eutanásias para coleta do tecido hepático, no momento pré-parto, entre o 19-20º dia de gestação ($n = 4/\text{grupo}$) e no momento pós-parto (21 dias, $n = 6/\text{grupo}$). qRT-PCR foi realizada para avaliar a expressão dos genes RXR- α , LXR- α , PPAR- α e SREBP-1c. Os resultados são apresentados como expressão relativa a média geométrica da expressão de três genes de controle interno (GAPDH, ACTB, r18S). 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 Modelse foram considerados significantes resultados com $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A expressão hepática dos genes avaliados nesse estudo (RXR- α , LXR- α , PPAR- α e SREBP-1c) não foi alterada pela dieta fornecida (OM3 vs CON, $P > 0,05$), bem como estado fisiológico dos animais (pré-parto vs pós-parto, $P > 0,05$) (Figuras 1 e 2). Entretanto o grupo OM3 apresentou uma tendência ($P = 0,07$) de maior expressão do gene RXR- α no momento pós-parto comparado ao pré-parto (Figura 1-A).

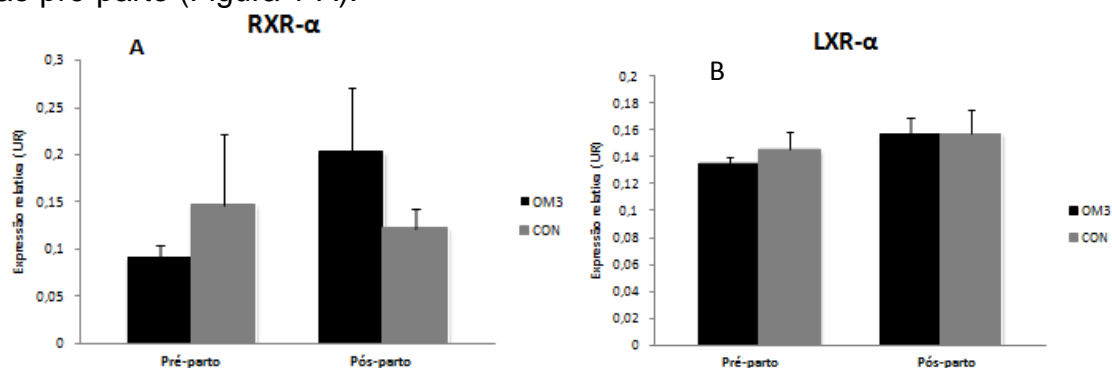


Figura 1—Expressão hepática dos genes RXR- α (A) e LXR- α (B) nos momentos pré e pós-parto.

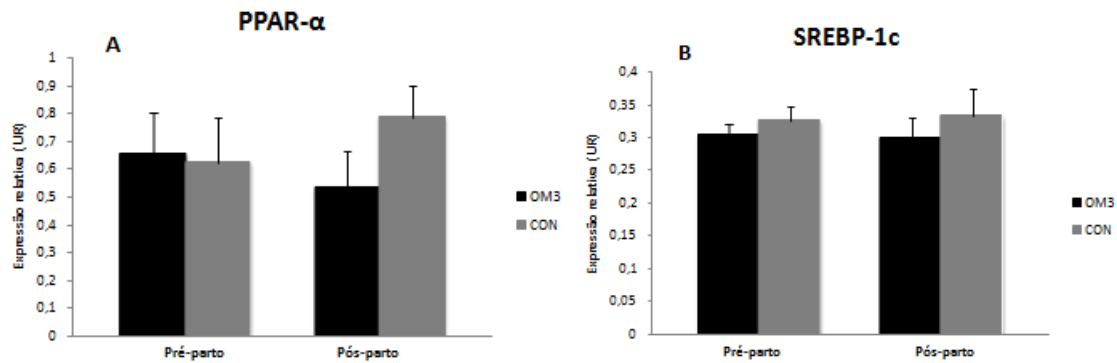


Figura 2– Expressão hepática dos genes PPAR- α (A) e SREBP-1c (B) nos momentos pré e pós-parto.

Os receptores nucleares selecionados para avaliação neste estudo são descritos na literatura como importantes moduladores do metabolismo de ácidos graxos, estando sob influência dos AGPIs, ativando vias lipolíticas e inativando lipogênicas a nível hepático (JUMP, 2008; JUMP et al., 2005). Entretanto há também outras formas de regulação, entre elas a ação de co-repressores de receptores nucleares (NCoRs). Eles interagem com os receptores nucleares livres, reprimindo a função transcricional e promovendo o silenciamento gênico (WATSON et al., 2012). Portanto a ação de NCoRs poderia explicar a falta de interação entre a dieta e os momentos fisiológicos na expressão dos receptores nucleares avaliados, entretanto estudos complementares devem ser realizados para melhor elucidar esses mecanismos de regulação.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a expressão hepática dos receptores nucleares RXR- α , LXR- α , PPAR- α e SREBP-1c não é afetada pela proporção entre ômega-3 e ômega-6 da dietas ou pelo estado fisiológico (pré ou pós-parto) em ratos Wistar.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, P.M.M.; CARMO, M.G.T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. **Mn-metabólica**, Porto Alegre, v.8, n.3, p.135-143, 2006.

CONTRERAS, A.V.; TORRES, N.; TROVAR, A.R. PPAR- α as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation. **Advances in Nutrition**, Bethesda, v.4, n.1, p.439-454, 2013.

DAMASO, A.R.; OLLER DO NASCIMENTO, C.M. Efeitos do exercício realizado durante o ciclo reprodutivo sobre o metabolismo lipídico: análise de estudos utilizando animais experimentais. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.12, n.1, p.54-70, 1998.

GRONEMEYER, H.; GUSTAFSSON, J.A.; LAUDET, V. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. **Nature Reviews Drug Discovery**, New York, v.50, n.3, p.64-68, 2004.

HAGGARTY, P. 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.; BOTOLIN, D.; WANG, Y.; XU, J.; CHRISTIAN, B.; DEMEURE, O. Fatty acid regulation of hepatic gene transcription. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.11, n.1, p.2503-2506, 2005.

PEGORIER, J. P.; LE MAY, C.; GIRARD, J. Control of gene expression by fatty acids. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.9, n.2, 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.

SONODA, J.; PEI, L.; EVANS, R. M. Nuclear receptors: decoding metabolic disease. **FEBS Letters**, Oxford, v.18, n.1, p.2-9, 2008.

TAKEUCHI, Y.; YAHAGI, N.; IZUMIDA, Y.; NISHI, M.; KUBOTA, M.; TERAOKA, Y.; YAMAMOTO, T.; MATSUZAKA, T.; NAKAGAWA, Y.; SEKIYA, M.; IIZUKA, Y.; OHASHI, K.; OSUGA, J.; GOTODA, T.; ISHIBASHI, S.; ITAKA, K.; KATAOKA, K.; NAGAI, R.; YAMADA, N.; KADOWAKI, T.; SHIMANO, H. Polyunsaturated fatty acids selectively suppress sterol regulatory element-binding protein-1 through proteolytic processing and autoloop regulatory circuit. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v.2, n.1, p.11681-11691, 2010.

YOSHIKAWA, T.; IDE, T.; SHIMANO, H.; YAHAGI, N.; AMEMIYA-KUDO, M.; MATSUZAKA, T.; YATOH, S.; KITAMINE, T.; OKAZAKI, H.; TAMURA, Y.; SEKIYA, M.; TAKAHASHI, A.; HASTY, A. H.; SATO, R.; SONE, H.; OSUGA, J.; ISHIBASHI, S.; YAMADA, N. Cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and liver X receptor (LXR) in nutritional regulation of fatty acid metabolism. I. PPARs suppress sterol regulatory element binding protein-1c promoter through inhibition of LXR signaling. **Molecular Endocrinology**, Washington, v.17, n.7, p.1240-1254, 2003.

WATSON, P. J.; FAIRALL, L.; SCHWABE, W.R. Nuclear hormone receptor co-repressors: Structure and function. **Molecular and Cellular Endocrinology**, London, v.8, n.1, p.440-449, 2012.