

## EFEITO DO CONSUMO DE ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS NA EXPRESSÃO HEPÁTICA DE GENES RELACIONADOS A INFLAMAÇÃO

PAULA MONTAGNER<sup>1,2</sup>; CAROLINA BESPALHOK JACOMETO<sup>1,3</sup>;  
PATRICIA MATTEI<sup>1</sup>, VIVIANE RABASSA<sup>1</sup>, EDUARDO SCHMITT<sup>1</sup>,  
MARCIO NUNES CORREA<sup>1,4</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/nupeec;

<sup>2</sup>paulamontagner@gmail.com;

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Zootecnia, Universidad de La Salle,  
Bogotá DC, Colombia;

<sup>4</sup>marcionunescorrea@cnpq.com.

### 1. INTRODUÇÃO

Os nutrientes que atravessam a placenta impactam no metabolismo e crescimento fetal, assim o desenvolvimento do feto depende do metabolismo materno e das adaptações do metabolismo a diferentes nutrientes (HERRERA et al. 2006). Um dos mais importantes e essenciais nutrientes que o feto obtém através da circulação materna e que atravessam a placenta são essenciais (AGE); ácido linolênico (LNA 18:2 n-6) e ácido linoleico (LA, 18:3 n-3) (HAGGARTY 2010; HERRERA 2002).

Os impactos observados pelo AGE compreender a modulação da resposta inflamatória, porém os AGEs não trabalham no mesmo sentido; ácidos graxos saturados (AGS) são considerados pró-inflamatórios, ácidos graxos insaturados são levemente pró-inflamatórios ou neutros, enquanto os n-3 ácidos graxos têm ação anti-inflamatória (CALDER 2010; SINGER et al. 2008).

Diversas moléculas alvos tem sido sugeridas para explicar os efeitos anti-inflamatórios do omega-3: via ativação de rotas dos genes PPAR (do inglês, Peroxisome Proliferator Activated Receptor), resolininas e seus receptores, e G-protein-coupled receptores (GPCRs). Os GPCRs são importantes sinalizadores relacionados com vários aspectos da função celular (ICHIMURA et al. 2009), sendo o GPR120 receptor de ácidos graxos insaturados de cadeia longa (WELLHAUSER & BELSHAM 2014). A ativação dos TLR4 e TLR2 (do inglês Toll Like Receptor), importantes mediadores da resposta inflamatória, também apresenta modulação pelos ácidos graxos (MURUMALLA et al. 2012). Entretanto, poucos trabalhos elucidam os efeitos do ômega-3 a nível molecular e seu efeito sobre a prole de mães que receberam maiores quantidades de ômega-3.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a expressão hepática dos genes GPR120, ARRB2 (do inglês Arrestin Beta 2), TLR2 e TLR4, ao longo de três gerações consecutivas de ratas Wistar alimentadas com dietas com diferenças na proporção entre os ácidos graxos ômega-3 e ômega-6.

### 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 ( $20\pm2^{\circ}\text{C}$ ).

Os animais passaram por um período de adaptação de 30 dias e posteriormente foram divididos em dois grupos: grupo ômega (OM), que recebeu uma dieta rica em ácidos graxos ômega-3 (relação LNA:LA 2,44:1), sendo a fonte energética o óleo de linhaça e grupo controle (CTL), rico em ácidos graxos ômega-6 (relação LNA:LA 0,007:1), em que a fonte energética foi 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.

O desenho experimental visou que três gerações sucessivas de ratas recebessem a mesma relação de LAN:LA na dieta. Primeiramente as fêmeas (G0) foram acasaladas numa proporção 3:1, por um período de três dias. No momento do desmame (21 dias), progêneres fêmeas foram selecionadas para compor a F1. Estes animais foram acasalados aos 60 dias para gerar a F2 e os mesmos grupos foram mantidos.

Foram realizadas eutanásias, para coleta de material hepático nas três gerações nos momentos pré-parto, entre o 19-20º dia de gestação ( $n = 4/\text{grupo}$ ), e no pós-parto (21 dias,  $n = 5/\text{grupo}$ ). A expressão gênica foi realizada por qRT-PCR, utilizando 3 genes controles.

As análises estatísticas foram realizadas através do Programa SAS 9.4 (Statistical Analysis System for Windows 9.0 - SAS – SAS Institute Inc., Cary, EUA), por Mixed Models, e foram considerados significantes resultados com  $P < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A expressão hepática apresentou efeito da dieta (CTL vs OM,  $P>0,05$ ) para o gene ARRB2, sendo maior a expressão no grupo OM, os demais genes não apresentaram diferença, conforme apresentado na Tabela 1. A atividade do ARRB2 é dependente da ativação do GPR120 pelos AGE, especificamente o ômega 3. Uma vez ativada, a ARRB2 se liga ao a proteína TAB1, impedindo a transdução de sinais da via inflamatória e o desenvolvimento da inflamação (TALUKDAR et. al 2011). Nossos resultados sugerem um melhor controle da via inflamatório no grupo OM comparado ao grupo CTL.

O estado fisiológico dos animais (pré-parto vs. pós-parto) apresentou diferença para os genes TLR2, TLR4 e GPR120 ( $P>0,05$ ) e tendência para ARRB2 (Tabela 1). A expressão hepática foi maior no momento pré-parto para os genes que diferiram, sugerindo uma maior resposta imune neste momento do que no pós-parto (SOARES et al. 2012).

Tabela 1: Expressão gênica hepática em relação ao grupo e ao momento fisiológico dos animais analisados.

| Genes  | GRUPO             |                   |                  | MOMENTO           |                   |      | P     |         |  |
|--------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------|-------|---------|--|
|        | CTL               | OM                | EPM <sup>1</sup> | Pré-parto         | Pós-parto         | EPM  | Grupo | Momento |  |
| GPR120 | 1,18              | 1,19              | 0,09             | 1,29 <sup>A</sup> | 1,07 <sup>B</sup> | 0,10 | 0,963 | 0,0404  |  |
| ARRB2  | 1,12 <sup>b</sup> | 1,32 <sup>a</sup> | 0,05             | 1,14              | 1,30              | 0,06 | 0,007 | 0,0843  |  |
| TLR2   | 1,34              | 0,89              | 0,22             | 1,76 <sup>A</sup> | 0,46 <sup>B</sup> | 0,22 | 0,139 | <.0001  |  |
| TLR4   | 1,38              | 1,41              | 0,10             | 1,66 <sup>A</sup> | 1,14 <sup>B</sup> | 0,10 | 0,575 | 0,0005  |  |

<sup>1</sup>EPM: Maior erro padrão da media; <sup>a,b</sup>: valores médios com diferentes sobrescritos diferem no efeito de grupo; <sup>A,B</sup>: valores médios com diferentes sobrescritos diferem no efeito momento (pré e pós-parto).

Ativação do Toll-like receptores 4 e 2 é importante no desencadeamento da resposta imune, e pode ser mediada pelo ômega-3, o qual compete com os liposacarídeos e ácidos graxos saturados, e sua ligação aos receptores resulta na supressão da ativação de NF-κB (do inglês Nuclear Factor Kappa B)(LEE et al. 2003). Apesar de não observada a diferença entre grupos para os TLRs, o TLR2 apresentou interação GRUPO\*GERAÇÃO\*MOMENTO, como demonstrado na Figura 1.

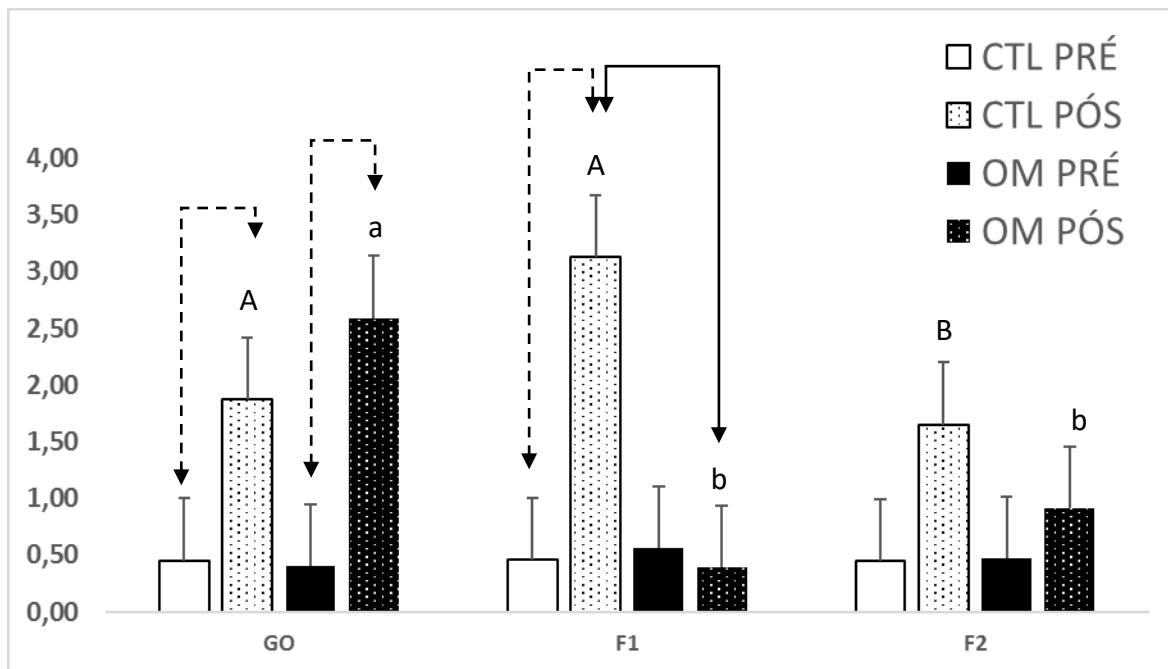


Figura 1: Expressão hepática do gene TLR2 nas três gerações avaliadas. A,B diferenças ( $P < 0,05$ ) entre gerações no grupo CTL no momento pós-parto. a,b diferenças ( $P < 0,05$ ) entre gerações no grupo OM no momento pós-parto. Linha tracejada diferenças ( $P < 0,05$ ) pré e pós-parto. Linha continua diferença ( $P < 0,05$ ) entre grupos na mesma gerações e momento fisiológico.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a expressão hepática de genes relacionados a vias inflamatórias é afetada pela dieta e pelo estado fisiológico (pré ou pós-parto) em ratas Wistar. A avaliação da expressão de demais genes envolvidos na rota inflamatória precisa ser avaliada para elucidar os efeitos acumulativos entre gerações de dietas contendo maiores proporções de ômega 3.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALDER, PC. Omega-3 Fatty Acids and Inflammatory Processes. **Nutrients**, Basel, v.2, n.3, p.355-374, 2010.

HAGGARTY, P. Fatty Acid Supply to the Human Fetus. **Annual review of nutrition**, Basel, v.30, p.237-255, 2010.

HERRERA, E. 2002. Implications of Dietary Fatty Acids during Pregnancy on Placental, Fetal and Postnatal Development--a Review. **Placenta**, London, v.23, suppl A p.S9–19, 2002.

HERRERA, E.; AMUSQUIVAR, E.; LÓPEZ-SOLDADO, I.; ORTEGA, H. Maternal Lipid Metabolism and Placental Lipid Transfer. **Hormone Research**, Basel, v.65 p.59–64, 2006.

ICHIMURA, A.; AKIRA, H.; TAKAFUMI, H.; GOZOH, T. 2009. Free Fatty Acid Receptors Act as Nutrient Sensors to Regulate Energy Homeostasis. **Prostaglandins & other lipid mediators**, New York, v.89, n.3, p.82–88, 2009.

LEE, JY.; YE, J.; GAO, Z.; YOUN, HS.; LEE, WH., ZHAO, L., SIZEMORE, N.; HWANG, DH. Reciprocal Modulation of Toll-like Receptor-4 Signaling Pathways Involving MyD88 and Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT by Saturated and Polyunsaturated Fatty Acids. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 278, n. 39, p. 37041–37051, 2003.

MURUMALLA RK, GUNASEKARAN MK, PADHAN JK, BENCHARIF K, GENCE L, FESTY F, CÉSARI M, ROCHE R, HOAREAU L. Fatty acids do not pay the toll: effect of SFA and PUFA on human adipose tissue and mature adipocytes inflammation. **Lipids in Health and Disease**, London v 11. n, 175, p 1-9, 2012.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C, Jr. 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** Springfield v.123, n.11, p1939–1951, 1993.

SINGER, P.; SHAPIRO, H.; THEILLA, M.; ANBAR, R.; SINGER, J.; COHEN, J. Anti-Inflammatory Properties of Omega-3 Fatty Acids in Critical Illness: Novel Mechanisms and an Integrative Perspective. **Intensive Care Medicine**, Berlin, v.34, n.9, p.1580–1592, 2008.

Soares, JB.; Pimentel-Nunes, P.; Afonso, L.; Rolanda, C.; Lopes, P.; Roncon-Albuquerque, R.; Leite-Moreira, AF. Increased hepatic expression of TLR2 and TLR4 in the hepatic inflammation-fibrosis-carcinoma sequence. **Innate Immunity**, Los Angeles, v.18, n.5, p.700–708, 2012

TALUKDAR, S.; OLEFSKY, JM.; OSBORN, O. Targeting GPR120 and Other Fatty Acid-Sensing GPCRs Ameliorates Insulin Resistance and Inflammatory Diseases. **Trends in Pharmacological Sciences**, Amsterdam, v.32, n.9, p.543–50, 2011.

WELLHAUSER, L &. BELSHAM, DD. Activation of the Omega-3 Fatty Acid Receptor GPR120 Mediates Anti-Inflammatory Actions in Immortalized Hypothalamic Neurons. **Journal of neuroinflammation**, London, v.11 n.60, p.1-13, 2014