A ADIÇÃO COMBINADA DE C16:0 E C18:0 AUMENTA A EXPRESSÃO DE GENES ENVOLVIDOS NA SÍNTESE LIPÍDICA[1]

Bruno Emanuel Barreta[2], Dimas Estrasulas de Oliveira[3], Daniella Thaís de Castro Bessani[4], Rayllana Larsen[4], Rafaella Horstmann[4], Charline Godinho Padilha[4].

[1] Vinculado ao projeto "Efeito dos ácidos palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) em explantes de glândula mamária e tecido adiposo de ovelhas lactantes cultivados in vitro"
[2] Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária – CAV – Bolsista PIBIC/CNPq
[3] Orientador, Departamento de Produção Animal e Alimentos – CAV – dimas.oliveira@udesc.br
[4] Mestre em Ciência Animal – CAV

Suplementos lipídicos fornecidos a animais lactantes servem como fonte de energia e tem a capacidade de alterar o perfil de ácidos graxos (AG) do leite. Após a biohidrogenação ruminal formam-se dois principais AG saturados: o ácido palmítico (C16:0) e o ácido esteárico (C18:0). Na glândula mamária, a síntese de gordura é dinâmica, tendo como substratos os AG sintetizados nas células epiteliais mamárias ou aqueles pré-formados, que podem derivar da dieta ou da mobilização das reservas corporais. A utilização de explantes mamários para estudos moleculares *in vitro* é uma ferramenta para auxiliar no entendimento da ação de diferentes AG sobre o metabolismo lipogênico desse tecido, o que permite o desenvolvimento de estratégias que otimizem a produção e o perfil da gordura do leite, além de reduzir o número de animais em experimentos. O objetivo deste estudo foi determinar se o emprego dos AG C16:0, C18:0 e da combinação de ambos altera a expressão dos genes que codificam as enzimas Acetil-CoA Carboxilase Alfa PII (ACACAα), Ácido Graxo Sintase (FASN), Estearoil-CoA Dessaturase 1 (SCD1), das proteínas de ligação de ácidos graxos (FABP3 e FABP4) e do translocador de ácidos graxos (CD36) em tecido mamário cultivado *in vitro.* Foram utilizados explantes de glândula mamária de duas ovelhas da raça Lacaune, com partos gemelares, 30 ± 5 dias em lactação, peso vivo de 70 ± 5 kg e escore de condição corporal de 3,0 ± 0,5. Os explantes foram separados em 24 fragmentos, com peso médio de 40 ± 3 mg e cultivados em placas de 6 poços em estufa a 37°C, 5% de CO_2 e umidade saturada por 24 horas. Os tratamentos foram: A) **Controle** (3,5 mL de meio de cultivo + 0,1% BSA; albumina de soro bovino livre de AG); B) **C16** (3,5 mL de meio de cultivo + 200 µM de ácido palmítico); C) **C18** (3,5 mL de meio de cultivo + 200 µM de ácido esteárico); D) **C16C18** (3,5 mL de meio de cultivo + 100 µM de ácido palmítico + 100 µM de ácido esteárico). Após o cultivo, os explantes foram retirados das placas e a extração de RNA foi feita com um "Kit" comercial seguindo o protocolo do fabricante (RNeasy Lipid Tissue - Qiagen Sciences), a pureza foi verificada pelo espectrofotômetro NanoDrop. Para a síntese do DNA complementar (cDNA), foi empregado um "Kit" comercial com *random primers*. A análise de RT-qPCR para mensurar a abundância de RNA mensageiro (mRNA) dos genes de interesse utilizou *primers* específicos. Os dados foram analisados pelo software estatístico SAS (University Edition, 2017) por meio do procedimento MIXED, a 5% de significância. Os tratamentos foram considerados como efeito fixo e as amostras como efeito aleatório em um delineamento inteiramente casualizado. O tratamento C16C18, em comparação ao controle, aumentou a abundância de mRNA da ACACAα e do CD36 em 80 e 44%, respectivamente (Figura 1-A e 1-B). A ACACAα é uma das principais enzimas envolvidas na síntese *de novo*, enquanto o CD36

atua na translocação de ácidos graxos de cadeia longa da corrente sanguínea para glândula mamária. O tratamento C18, em comparação ao C16, aumentou a abundância de mRNA da ACACAα, FASN, FABP3, respectivamente, em 37, 37 e 41% e reduziu em 41% a abundância de mRNA da FABP4. Sugere-se que o aumento da abundância de mRNA da ACACAα e do CD36 sob o tratamento C16C18 ocorre em função de uma relação ideal na concentração desses AG no tecido. Conclui-se que a adição combinada de C16:0 e C18:0 em explantes de glândula mamária de ovelhas lactantes aumenta a expressão dos genes envolvidos na síntese lipídica.

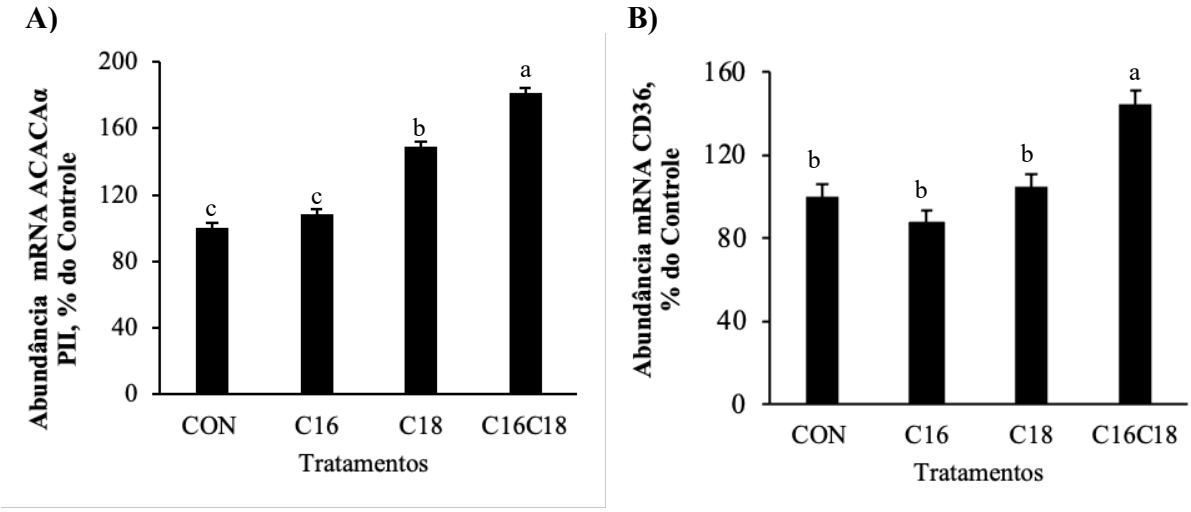

Figura 1. *Abundância dos genes da glândula mamária em função dos usos de ácidos graxos:* ***A)*** *ACACAα (Enzima Acetil-CoA Carboxilase Alfa) e* ***B)*** *Molécula CD36 (Translocador de Ácidos Graxos).*
*Letras diferentes denotam diferenças significativas entre os tratamentos (P<0,05).

Palavras-chave: Explantes mamários. Expressão Gênica. Lipogênese.

Apoio: CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico · fapesc Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina · GOVERNO DE SANTA CATARINA