



ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE DA ÁCIDO GRAXO SINTASE NO FÍGADO DE RATOS MACHOS E FÊMEAS NORMOESTROGÊNICAS E OVARIETOMIZADAS

Naiara Cristina Lucredi (PIBIC/CNPq/UEM), Clairce Luzia Salgueiro-Pagadigorria (Orientador), e-mail: clspadigorria@uem.br.
Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Fisiologia, Fisiologia de órgãos e sistemas.

Palavras-chave: FAS, estrogênio, fígado.

Resumo:

A ácido graxo sintase (FAS) é uma enzima lipogênica controlada por hormônios e pelo estado nutricional. A atividade da FAS foi avaliada em ratas fêmeas controle normoestrogênicas, ratas ovariectomizadas (OVX) e ratos machos, nos estados alimentados e realimentados, com o objetivo de verificar a influência do estrogênio e da insulina sobre a atividade da FAS. Para a realização dos experimentos as ratas fêmeas foram ovariectomizadas ou sham-operadas e após 4 meses os animais foram eutanasiados e o fígado foi removido, homogeneizado e centrifugado e o sobrenadante foi utilizado para medir a atividade da FAS por espectrofotometria. A atividade da FAS apresentou-se reduzida nos animais machos e nas fêmeas OVX, quando comparados às fêmeas controle, no estado alimentado. Já no estado realimentado não houve diferença significativa entre os animais machos e fêmeas controle, enquanto o grupo OVX apresentou valores significativamente menores em relação aos demais grupos.

Introdução

Nos hepatócitos e adipócitos, a maior parte do NADPH do citosol é gerado pela via das pentoses-fosfato, sendo que nos hepatócitos o NADPH é necessário para a biossíntese dos ácidos graxos (Lehninger e Cox, 2011). A enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) que é a primeira da via das pentoses fosfato, é ativada pelo estrogênio e insulina (Ibim, Randall,



Han e Musey, 1989), então, sem esses hormônios, a enzima fica menos ativa e produz menos NADPH que é substrato da FAS, afetando a atividade da mesma.

O produto principal da reação da FAS é palmitato (C16:0), mas ácidos graxos de cadeia mais curtas também podem ser sintetizados. Os substratos da FAS são acetil-CoA, malonil-CoA, e NADPH (Smith et al., 2003).

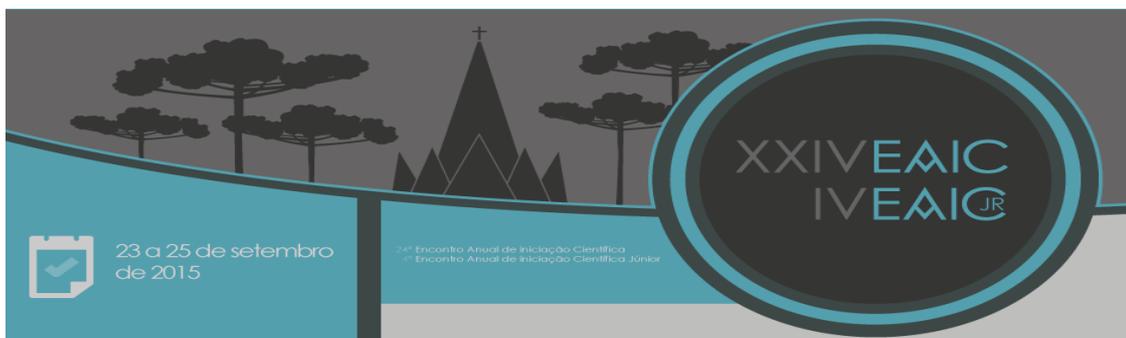
Sabe-se que a FAS hepática é regulada pela insulina, glucagon, AMP cíclico, frutose, glicose e a gordura da dieta (Jensen-Urstad e Semenkovich, 2012). A re-alimentação de camundongos ou ratos com uma dieta rica em carboidratos após jejum prolongado provoca um aumento na expressão da FAS, em comparação com animais sob alimentação *ad libitum* (Nepokroeff et al., 1974).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade da FAS em fígado de ratos Wistar machos e fêmeas controle ou OVX para determinar a influência do estado nutricional e hormonal dos animais sobre a atividade da enzima, visando compreender a importância desses parâmetros no metabolismo de lipídeos.

Materiais e métodos

Para a realização dos experimentos foram utilizados ratos Wistar fêmeas e machos provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. As Fêmeas Wistar foram submetidas ao procedimento cirúrgico de ovariectomia bilateral (OVX, FO) ou sham-operação (FC), com anestesia. Todos os animais foram eutanasiados após quatro meses da cirurgia de OVX. A atividade da FAS foi avaliada em animais alimentados ou realimentados.

Para a medida da atividade da FAS foram adicionados a tampão fosfato de potássio, pH 7,0, 100 nmoles de malonil-CoA, 33 nmoles de acetil-CoA, 100 nmoles de NADPH, 1 μ mole de EDTA, 1 μ mole β -mercaptoetanol. Passado o período de pré-incubação, a reação iniciou-se por meio da adição do sobrenadante do homogenato de fígado. A oxidação de NADPH foi avaliada em 340 nm durante 5 minutos. Um controle, sem malonil-CoA foi executado em paralelo para determinar a oxidação espontânea de NADPH ou por outras enzimas. A atividade da FAS foi expressa em nmoles de NADPH oxidado/minuto/mg de proteína (Nepokroeff et al., 1975). As concentrações de proteína determinadas de



acordo com o método de Lowry et al. (1951) usando albumina bovina como padrão.

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão. Foi aplicado o teste de análise de variância (ANOVA) one way, seguido do pós-teste de Newman-Keuls para análise dos dados entre todos os grupos.

Resultados e Discussão

O gráfico **A** mostra as médias da atividade da FAS obtidas para as ratas controle (fêmeas no gráfico), OVX e machos no estado alimentado em nmoles de NADPH oxidado/min/mg de proteína e os erros padrões encontrados para cada um desses grupos na mesma ordem foram: 0,1916; 0,1792 e 2,100 em nmoles de NADPH oxidado/min/mg de proteína.

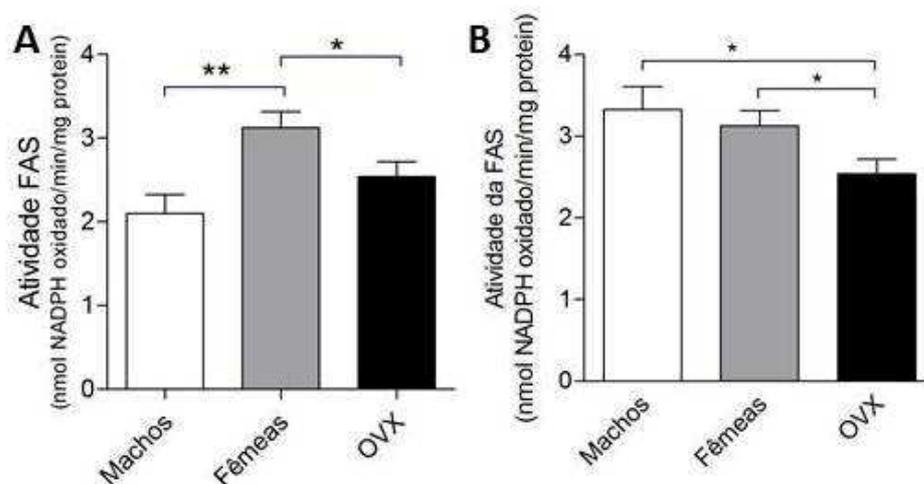


Fig. 1. Atividade média da enzima FAS encontrada para os três grupos de animais avaliada nos estados alimentado (A) e realimentado (B).

O gráfico **B** mostra as médias para a atividade da FAS obtidas para as ratas controle, ovariectomizadas (OVX) e machos realimentados em nmoles de NADPH oxidado/min/mg de proteína. Os erros padrões encontrados para cada um desses grupos na mesma ordem foram: 0,1916; 0,1792 e 0,2766 em nmoles de NADPH oxidado/min/mg de proteína.



A atividade da FAS se manteve igual para as ratas controle e OVX tanto no estado alimentado quanto no realimentado, porém para os machos a atividade enzimática aumentou 36,92% no estado realimentado. As divergências nos valores da atividade da enzima deve-se à presença ou não de estrogênio nos animais que ativa a enzima G6PD e a FAS e à capacidade de responder a insulina a curto prazo.

Conclusões

A atividade da FAS é influenciada pelos estados hormonal e nutricional, sendo que o estrogênio, insulina e glucagon são os principais hormônios responsáveis por alterações na sua atividade através de ações genômicas ou efeitos imediatos.

Agradecimentos

CAPES e CNPq

Referências

IBIM, S. E. M.; RANDALL, R.; HAN, P.; MUSEY, P. I. Modulation of hepatic glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in male and female rats by estrogen. **Life Sciences**, Atlanta, v. 45, n. 17, p. 1559-1565, 1989.

JENSEN-URSTAD, A. P. L.; SEMENKOVICH, C. F. Fatty acid synthase and liver triglyceride metabolism: Housekeeper or messenger? **Biochimica Biophysica Acta**, v. 1821, p. 747-753, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

NEPOKROEFF, C. M.; LAKSHMANAN, M. R.; PORTER, J. W. Fatty acid synthase from rat liver. In: **Methods in enzymology**. New York: Academic Press, Waltham, v. 35, p. 37-44, 1975.

SMITH, S.; WITKOWSKI, A.; JOSHI, A. K. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. **Progress in Lipid Research**, v. 42, p. 289-317, 2003.