

Influência dos ácidos graxos na expressão gênica de peixes - Influence of fatty acid gene expression in fish

Araújo, Jamile da Costa: Universidade Federal de Lavras (UFLA), jamilejca | **Pereira, Raquel Tatiane:** Universidade Federal de Lavras (UFLA), Tatiane | **Rosa, Priscila Vieira:** Universidade Federal de Lavras (UFLA) | **Palha, Maria das Dores Correia:** Universidade Federal Rural da Amazônia. jamilejca@yahoo.com.br

Resumo

Sabe-se que os lipídios podem regular o metabolismo e a funcionalidade das células, ao contrário do que se pensava no começo do século passado, quando se achava que os ácidos graxos seriam apenas substratos energéticos e componentes estruturais de membranas. As funções destas moléculas no crescimento dos peixes são diversas, como: energéticas, no metabolismo de lipídios de carboidratos e produção de enzimas digestivas; estruturais; hormonais; no sistema imune, como precursores de eicosanoides, na modulação da produção de TNG- α ; e bioquímicas. O uso de CLA (ácido linoléico conjugado) e TTA (ácido tetradeciltioacético) também tem chamado atenção devido aos efeitos metabólicos sobre o metabolismo de lipídios, diminuindo a lipogênese e aumentando a lipólise; atuando no perfil hormonal e em outras reações fisiológicas. Tais efeitos dos ácidos graxos na expressão gênica de peixes são cada vez mais estudados, principalmente por conta das modificações na nutrição dos mesmos, com o intuito de obter melhor desempenho e qualidade com o menor custo, fazendo com que a substituição de nutrientes de origem animal pelos de origem vegetal seja cada vez mais utilizada. Conhecer os efeitos que tal mudança na nutrição desses animais e o que as mesmas podem provocar sobre o seu metabolismo é imprescindível, visto que tal conhecimento é determinante para obtenção do sucesso desses novos manejos.

Palavras-chave: nutrição | CLA | TTA | sistema imune

Abstract

It is known that lipids can regulate cell metabolism and function in fish, through gene expression modulation of certain substances, contrary to what was thought at the beginning of last century, when it was thought that fatty acids would be only substrates energy and structural components of membranes. In this paper, aim is to meet and discuss current

knowledge on this subject. Fatty acids functions in fish growth are diverse as energy, acting on the carbohydrates and lipids metabolism, and modulating digestive enzymes production; structural; hormonal; immune system, as precursors of eicosanoids and in modulating TNG- α production, among others. Use of bioactive fatty acids such as CLA (conjugated linoleic acid) and TTA (tetradecylthioacetic acid) have also attracted attention due to metabolic effects on lipid metabolism, decreasing lipogenesis and increasing lipolysis, acting in the hormonal profile and in other physiological reactions. These effects of fatty acids on fish gene expression are increasingly studied, mainly because of changes in the nutrition of the same, in order to achieve better performance and quality at the lowest cost, making the replacement of nutrients from animal the vegetable is increasingly used. Knowing the effects that such change in nutrition of these animals and what they may have on your metabolism is essential, since such knowledge is crucial to achieving success in these new managements.

Key words: nutrition | CLA | TTA | immune system

INTRODUÇÃO

Os lipídios, juntamente com sua dinâmica, são fundamentais para a saúde, sobrevivência e sucesso reprodutivo das populações de peixes (Adams, 1998). As funções destas moléculas no crescimento dos peixes são: energéticas, estruturais, hormonais, precursores de eicosanoides, bioquímicas, entre outras (Haliloglu et al., 2003). E atualmente, sabe-se que os lipídios podem regular o metabolismo e a funcionalidade das células, ao contrário do que se pensava no começo do século passado, quando se achava que os ácidos graxos seriam apenas substratos energéticos e componentes estruturais de membranas (Pompéia et al., 2000).

Entre os lipídios, os ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) são requeridos para um crescimento e desenvolvimento normal, principalmente através da manutenção da integridade estrutural e funcional das membranas (Sargent et al., 1999). A composição, distribuição e a relação entre as séries n-3 e n-6 nos peixes são influenciadas basicamente por três fatores: genéticos (espécie, etapa de desenvolvimento, entre outros), ambientais (temperatura e salinidade), e fundamentalmente nutricionais (Justi et al., 2003).

Variações no perfil dos ácidos graxos da dieta, devido à inclusão de óleos vegetais, podem alterar o metabolismo dos peixes, o que pode afetar a saúde e a resistência ao estresse (Mourente et al., 2005). A inclusão de óleos vegetais na ração pode produzir inadequadas proporções de ácidos

graxos n-3/n-6 no peixe, o que afeta sua saúde por alterar a síntese de eicosanóides. Estes têm sua produção provavelmente associada com situações estressantes e são moduladores da função imunológica (Sargent et al., 2002). Entretanto, a função dos ácidos graxos n-3 e n-6 em peixes e a resposta imunológica é incerta e contraditória, e outros estudos neste sentido estão sendo desenvolvidos (Montero et al., 2003). Portanto, este artigo objetiva debater a influência da ingestão de ácidos graxos na expressão gênica de peixes, colaborando para maior elucidação do assunto.

Rotas de metabolização dos ácidos graxos

Algumas enzimas possuem capacidade reconhecida de dessaturar e alongar os ácidos graxos com 18 átomos de carbono, ácidos linoléico (18:2n-6 carbono) e linolênico (18:3n-3), em ácidos graxos altamente insaturados (HUFA) com 20 e 22 átomos como o araquidônico (AA), ácido eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) (Henderson e Tocher, 1987; Sargent et al., 2002). Estes HUFA desempenham um papel importante na produção de eicosanóides (AA e EPA), na visão (DHA), no desenvolvimento do cérebro (DHA) e regulação da expressão de diversos genes envolvidos no metabolismo lipídico (Cook, 1991; Spiegelman e Flier, 1996; Clarke et al., 1997; Forman et al., 1997). Em contraste com peixes de água doce, peixes marinhos possuem uma deficiência na capacidade de bioconverter precursores C18 para HUFA e, portanto, exigem a presença de HUFA pré-formada em sua dieta (Sargent et al., 2002). Tal deficiência pode ser devido à perda do gene correspondente a uma adaptação para os alimentos marinhos ricos em HUFA n-3, como também sugerido para os carnívoros terrestres (Sargent et al., 1995). Por outro lado, a deficiência da atividade de dessaturases D6 e D5 em peixes marinhos pode ser devido a uma diminuição da atividade de dessaturase pelos altos níveis de HUFA normalmente presentes na dieta (Olsen et al., 1990).

Como já mencionado anteriormente, é sabido que peixes marinhos têm uma capacidade menor do que peixes de água doce para a bioconversão de ácidos graxos C18 em ácidos graxos C20-22 altamente insaturados (HUFA). Por conta deste fator, Seilliez et al. (2003) investigou o primeiro passo deste caminho, a dessaturação-D6, em Dourada (*Sparus aurata*). Onde um comprimento total de DNAC desaturase-like foi identificado a partir de RNA total extraído de vísceras de peixes juvenis alimentados durante 96 dias em dieta experimental livre de HUFA, contendo óleo de oliva como a única fonte de lipídios. Análises Northern mostraram duas transcrições de aproximadamente 3,7 e 1,8 kb que foram altamente expressas em peixes alimentados com dieta livre de HUFA, e ligeiramente expressas nos peixes alimentados com dieta rica em HUFA. O perfil de ácidos graxos do grupo que inseriu HUFA foi caracterizado por elevados níveis de produtos de dessaturação-D6 (18:2 n-9 e 20:2 n-9), com níveis não detectáveis de produto de dessaturação-D5 (20:3 n-9). Estes

resultados demonstraram pela primeira vez a presença e modulação nutricional de um DNAc dessaturase-D6 DNAc D6 em peixes marinhos.

Estudo efetuado por Zheng et al. (2004), relatando tanto a expressão do gene e atividades enzimáticas em uma investigação da regulação nutricional da via biossintética de HUFA em hepatócitos de salmão do Atlântico alimentados com dietas contendo óleos vegetais, apresentou evidências de que o controle transcricional da expressão do gene da dessaturase e elongase de ácido graxo é um mecanismo pelo qual ácidos graxos podem influenciar a atividade da via biossintética de HUFA. Zheng et al. (2004) realizaram um ensaio através do qual juvenis de salmão em tanques de água do mar foram alimentados por 40 semanas com cinco diferentes dietas. As dietas consistiram em uma dieta controle e em quatro dietas contendo óleo de peixe (OP), nas quais o mesmo foi substituído de forma gradual por óleo de linhaça (OL). Especificamente, em níveis de óleos adicionados, as cinco dietas foram de 100% (OP), 100% OL (OL100) e OP/OL em proporções de 3:1 (OL25), 1:1 (OL50) e 1:3 (OL75). As coletas foram realizadas depois de 20 e 40 semanas, e as amostras de fígado foram coletadas para análises de lipídios e de extração de RNA total. Os hepatócitos também foram analisados e a atividade da via biossintética de HUFA determinada. Os resultados mostraram que, após 20 semanas de alimentação, a expressão do gene da elongase e dessaturase no fígado aumentou de forma gradativa de acordo com o aumento do OL dietético. A expressão dos dois genes foi positiva e negativamente correlacionada com a dieta 18:3n3 e HUFAn3, respectivamente. Após 40 semanas de alimentação, nenhuma expressão do gene mostrou o mesmo grau de correlação com a composição de ácidos graxos na dieta. Em contraste com a atividade, da via biossintética de HUFA, que mostrou alguma associação com a dieta em 20 semanas, foi positiva e significativamente correlacionada com a OL dieta após 40 semanas de alimentação. A atividade de alongamento refletiu a atividade global da via biossintética de HUFA a um maior grau de atividade de dessaturação D5.

Uma associação similar entre a capacidade de síntese de HUFA no hepatócito e a composição dos ácidos graxos da dieta já havia sido observada previamente por Tocher et al. (2003). Onde, o mesmo observou correlação entre a atividade da via metabólica de HUFA e níveis de 18:3n3, PUFA C18 total e HUFAn3 na dieta, sendo os mesmos altamente significantes após 50 semanas de alimentação experimental, porém em 32 semanas de experimento não foi encontrada correlação significativa para 18:3n3, PUFA C18 total.

O fato das correlações entre a composição de ácidos graxos alimentares e reações bioquímicas se tornarem mais significativas com maior período de alimentação é bastante lógico. Além disso, o fato da expressão gênica do tecido e da atividade das enzimas associadas não serem igualmente correlacionadas com a composição de ácidos graxos na dieta não é necessariamente contraditória, quando todos os fatores que interagem são

considerados. A alteração na composição de ácidos graxos na dieta possivelmente afeta diretamente a expressão do gene, assim como a composição de ácidos graxos do tecido. As mudanças na expressão genética levará a atividade alterada da via biossintética de HUFA, que também irá resultar em mudanças na composição dos ácidos graxos dos tecidos. Alteração na composição de ácidos graxos do tecido, incluindo níveis alterados de intermediários chave, tais como 18:4n-3 e 20:4n-3, pode ter efeitos de feedback sobre as atividades da enzima que irá contribuir para a atividade global da via. Um entendimento mais completo de todos os mecanismos envolvidos na regulação da atividade das enzimas dessaturase e elongase é necessário, mas, quando a complexidade deste sistema é apreciada, a dissociação entre a expressão dos genes e enzimas pode ser entendida (Zheng et al., 2004).

Embora a dessaturase D6 seja considerada como o principal passo limitante na biossíntese de HUFA nos mamíferos, a dessaturase D5 é relatada como estando também sob efeito da regulação nutricional (Brenner, 1981). O ensaio de biossíntese de HUFA mede a atividade do percurso inteiro e, como tal, dá uma boa estimativa da atividade global ou fluxo através da via. Além disso, pela soma dos produtos individuais, algumas estimativas podem ser feitas das atividades relativas dos diferentes passos no caminho. No entanto, deve ser levado em consideração que cada passo é dependente das atividades do substrato anterior como das etapas enzimáticas posteriores, e assim só pode dar uma indicação de atividades relativas. A posição da dessaturase D5, no meio do caminho, talvez contribua para o resultado observado onde a sua atividade não foi correlacionada com quaisquer níveis dietéticos de 18:3n-3 (substrato da via) ou HUFA_{n-3} (produtos da via). Além disso, a dessaturase D5 opera em apenas uma etapa (conversão de 20:4n-3 para 20:5n-3) na via, enquanto a elongase pode operar em todas as etapas de alongamento da via. Portanto, talvez não seja surpreendente que a atividade da elongase seja mais próxima a atividade global da via (Hastings et al., 2004).

O alongamento de ácidos graxos é um processo microsossomal feito em quatro etapas, cada qual catalisada por uma enzima específica. O primeiro passo é uma reação de condensação do precursor de ácidos graxos de cadeia acila com malonil-CoA para produzir uma cadeia h-cetoacil, que é posteriormente hidrogenada em três etapas sucessivas. Esta primeira etapa de condensação determina a especificidade de substrato, e é o passo limitante do processo (Cinti et al., 1992). No passado, os trabalhos sobre a regulação da via de biossíntese de HUFA tenderam a centrar-se sobre as enzimas dessaturases como os pontos de regulação (Brenner, 1981).

Mourente et al. (2005) estudaram a dessaturação/alongamento e H-oxidação de LNA e EPA em hepatócitos e enterócitos dos cecos pilóricos no robalo, alimentados com dietas com substituição parcial (60%) de óleo de peixe por óleos vegetais de canola, linhaça e palma misturados em

diferentes proporções, por 64 semanas. Os resultados obtidos no estudo apóiam a seguinte hipótese: (i) A substituição parcial (60%) de óleo de peixe com misturas de canola, linhaça e óleo de palma em dietas para o robalo não comprometem de forma significativa o crescimento, desempenho e sobrevivência dos peixes, durante um período de 64 semanas; (ii) As taxas de atividade de dessaturação/elongamento de 14C-LNA, EPA e DHA foram muito baixas nos hepatócitos de todos os tratamentos dietéticos, e não foram observadas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos. E as taxas de dessaturação de 14C-LNA em enterócitos dos cecos pilóricos foram superiores a dos hepatócitos, mas ainda muito baixas; (iii) A atividade total de dessaturação/elongamento de 14C-EPA em enterócitos foi superior a dos hepatócitos, mas não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos; (iv) As taxas de oxidação do H-14C e 14C-LNA-EPA foram muito superiores às taxas de dessaturação e alongamento em ambos, hepatócitos e enterócitos, e diferenças estatisticamente não significativas foram observadas em qualquer tipo de célula entre os tratamentos.

A carnitina palmitoiltransferase (CPT) que é considerada a principal enzima reguladora da oxidação mitocondrial de ácidos graxos, pois catalisa a conversão de acil-CoA em acil-carnitina, para a entrada na matriz mitocondrial (Hoppel e Kerner, 2000). No entanto, existem inúmeros mecanismos que regem a regulação da CPT I, incluindo a inibição alostérica por malonil-CoA (M-CoA) (Murthy e Pande, 1987), mudanças na expressão do gene e CPT I e/ou fatores de transcrição (Price et al., 2000), bem como a composição e fluidez da membrana externa mitocondrial (Kolodziej e Zammit, 1990; Morash et al., 2008). Existe uma relação entre os principais índices de fluidez da membrana e a sensibilidade de CPT I para M-CoA nos tecidos em truta arco-íris (Morash et al., 2008). No entanto não está claro como a manipulação da composição da membrana e as propriedades físico-químicas afetaram a cinética da CPT I. Há evidências de que os vários mecanismos envolvidos na regulação da CPT I e, conseqüentemente, β -oxidação mitocondrial de ácidos graxos são moduladas por vários nutrientes. Por exemplo, ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) da dieta, através da sua capacidade de atuar como ligantes para receptores nucleares específicos podem modular a expressão do gene da CPT I, pelo menos em muitas espécies de mamíferos (Power et al., 1994). O M-CoA pode inibir a atividade da CPT I, reduzindo a oxidação dos ácidos graxos recém-formados (McGarry e Brown, 2000). O M-CoA é sintetizado no fígado durante a primeira etapa da síntese de novo de ácidos graxos, e seus níveis podem refletir no estado metabólico do organismo. Por exemplo, o aumento dos níveis circulantes de glicose no sangue e insulina associada à alimentação têm sido utilizados para promover a lipogênese hepática e armazenamento de gordura através de aumentos nos níveis de M-CoA hepático e inibição da atividade da CPT I (Chien et al., 2000). No músculo, os níveis de M-CoA são mais sensíveis à regulação por parte de acetil-CoA carboxilase e seu papel principal parece ser modular a atividade da CPT I (McGarry et al., 1983).

Segundo Morash et al. (2009), a composição de ácidos graxos da dieta, particularmente ácidos graxos poliinsaturados, pode afetar mecanismos genéticos e não genéticos de regulação de CPT I, a principal enzima reguladora da oxidação mitocondrial de ácidos graxos. Na pesquisa realizada, pelos autores supracitados, o objetivo foi determinar como esses mecanismos reguladores foram afetados por mudanças na composição dos ácidos graxos da dieta, em peixes. Especificamente, truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com dieta com altos níveis de PUFA, dieta com alto nível de ácido graxo saturado (SFA) e um controle com dieta de mistura de ácidos graxos (CTL) por 8 semanas, para determinar se as modificações de ácidos graxos da dieta afetaria: 1) a expressão genética da CPT I e seu fator de transcrição dos receptores ativados por proliferador de peroxissomo (PPAR), 2) a composição da membrana mitocondrial e se essas alterações afetariam a sensibilidade da CPT I a malonil-CoA, e 3) os níveis de malonil-CoA nos tecidos. Os resultados demonstraram que os peixes alimentados com a dieta elevada em PUFA aumentaram significativamente a expressão do RNAm de CPT I no músculo vermelho, fígado e tecido adiposo, enquanto a expressão de PPAR α e β foram variáveis no tecidos. Poucas alterações significativas foram observadas na composição da membrana mitocondrial, com exceção de DHA no músculo vermelho. Não houve diferença significativa na sensibilidade de CPT I a malonil-CoA e no conteúdo de malonil-CoA dos tecidos com qualquer dieta experimental. Segundo os autores, os dados sugerem que alterações na expressão gênica da CPT I e PPARs é o principal mecanismo na regulação da CPT I em peixes quando utilizada tal dieta experimental.

Enzimas digestivas

A expressão da lipase e fosfolipase A2 é principalmente regulada a nível transcricional, embora regulações pós-transcricionais sejam descritas em alguns casos (Morais et al., 2004). Segundo estudo realizado por Cahu et al. (2003) a resposta da lipase pancreática para o nível de triglicérides dietéticos não foi linear para larvas de robalo alimentadas com dietas contendo triglicérides de 13% até 23%, mostrando um limiar, triglicérides em torno de 20%, em que a atividade máxima da lipase e o nível de mensageiro foi atingido. Pelo contrário, a resposta de fosfolipase A2 para nível de fosfolipídios na dieta (variando de 3 a 12%) foi gradual, com 80% e 70% de aumento na atividade e nível de mensageiro, respectivamente. Essas diferenças entre a expressão da lipase e fosfolipase A2 sugerem fortemente que as larvas de peixes são mais bem preparadas para digerir fosfolipídios, em vez de triglicérides.

Vários autores têm mostrado que os processos de digestão e absorção de lipídios nos peixes ocorrem principalmente na região anterior do intestino (Diaz et al., 1997; Olsen et al., 1999). No entanto, Gisbert et al. (2005) revelaram que os diferentes padrões de absorção e acúmulo de lipídios podem ser observados na mucosa intestinal de larvas de robalo, dependendo do nível e classe dos lipídios utilizados na dieta. De fato, a

acumulação intracelular e intercelular de lipídios foi observada no intestino anterior de peixes alimentados com dietas contendo altos níveis (58%) de triglicérides da fração lipídica, no entanto essa acumulação também foi evidenciada quando as larvas foram alimentadas com níveis moderados (cerca de 30%) de triglicérides da fração lipídica. Dietas inadequadas incorporando fontes de lipídios ou altos níveis de triglicérides induzem um acúmulo de gotículas lipídicas nos enterócitos do intestino anterior, embora esta acumulação não tenha sido descrita como sendo a causa de danos patológicos (Caballero et al., 2003). Além disso, a deposição de grandes vacúolos lipídicos também foram observados na mucosa intestinal pós-valvular de larvas que se alimentaram com dietas de elevados níveis de fosfolipídios (mais de 60%), revelando que os fosfolipídios foram preferencialmente absorvidos no intestino pós-valvular (Gisbert et al., 2005).

Desenvolvimento

Estudos têm demonstrado que existe uma estreita relação entre nutrição larval na primeira alimentação e o desenvolvimento, essa relação pode ser facilmente observada no caso de anormalidades esqueléticas (Zambonino Infante et al., 1997; Suzuki et al., 2000a, b). Alguns genes do desenvolvimento, e especialmente aqueles envolvidos na modelação do corpo, podem ser regulados pela natureza, e forma molecular dos nutrientes (Suzuki et al., 2000a, b; Balmer e Blomhoff, 2002; Haga et al., 2003). Na verdade, investigações têm demonstrado que há alguma relação entre nutrientes e receptores nucleares específicos, receptores de ácido retinóico (RetinoicAcidReceptors-RAR) e receptores X retinóides (RetinoidXReceptors-RXR) com a vitamina A (Suzuki et al., 2000a, b; Villeneuve et al., 2005a); receptores de proliferadores peroxissomais (peroxisome proliferator-activated receptor-PPAR) com ácidos graxos poliinsaturados (Kliwer et al., 1997; Bonilla et al., 2000; Villeneuve et al., 2005b); e receptor de vitamina D (VDR) com a vitamina D (Suzuki et al., 2000a, b; Thompson et al., 2001). Estes receptores funcionam através da formação de heterodímeros obrigatórios com RXR, envolvido em quase todos os processos associados ao desenvolvimento, ressaltando o papel fundamental na rede de sinalização desempenhado pela via retinóide. A expressão destes receptores é modulada pelo nível alimentar de seus ligantes específicos, e estas modulações impactam fortemente outras vias de sinalização determinando o desenvolvimento morfológico e funcional de larvas de peixes marinhos (Villeneuve, 2005).

Segundo Villeneuve et al. (2005b), altos níveis de ácidos graxos poliinsaturados, afetaram principalmente a morfogênese da coluna de larvas de robalo, quando fornecidos triglicerídeos ou fosfolipídios, respectivamente. No caso dos triglicerídeos, este efeito parece ser mediado por um aumento da regulação da expressão de RXR α (provavelmente induzida por um aumento da regulação do PPAR), quando a expressão deste gene diminui, durante o desenvolvimento larval normal. Com base

nessas observações, Villeneuve et al. (2005b) indicou que a oferta mais adequada de DHA e EPA na dieta para larvas de robalo deve ser uma relação de 2:2 de DHA / EPA, com um nível de (EPA+DHA) de 2,3%, sendo o modo mais eficiente de fornecimento de fosfolípidos.

Outros fatores de transcrição envolvidos na homeostase do colesterol são receptores X hepáticos (LXRs), que regulam o catabolismo, armazenamento, absorção e transporte do colesterol através da regulação da transcrição dos genes alvo envolvidos nestes processos. Eles pertencem à classe I, subfamília de receptores hormonais nucleares, e sua atividade é modulada pela ligação dos oxisteróis, produtos do metabolismo do colesterol (Aranda e Pascual, 2001). No fígado, a ativação de LXR induz o catabolismo do colesterol através da indução da expressão de 7 α -hidroxilase colesterol (CYP7A1), e da biossíntese de novo de ácidos graxos (através da SREBP1c), o que levou à sugestão de que LXRs são sensores do equilíbrio entre o colesterol e o metabolismo dos ácidos graxos (Peet et al., 1998; Repa et al., 2000). O fato de que os ácidos graxos insaturados podem funcionar como antagonistas de LXR, e assim criar um mecanismo de feedback, suporta ainda mais essa sugestão (Ou et al., 2001). Além disso, LXRs foram recentemente implicados na regulação negativa da expressão de genes inflamatórios (Marathe et al., 2006), e como reguladores chave de genes que regulam o metabolismo dos carboidratos (Mitro et al., 2007).

LXRs são proteínas, que possuem a capacidade de se ligar ao DNA, permitindo a trans-ativação de genes-alvo LXR. A molécula LXR consiste em 4 domínios principais, incluindo uma função de domínio de ativação N-terminal ligandina dependente (AF-1), um domínio de ligação do DNA (DBD), contendo duas regiões de indicador de zinco, um domínio de ligação ao ligante (LBD), necessários para a ligação do ligante e dimerização do receptor, e uma sequência C-terminal ligante de transativação dependente, também referida como função de ativação-2 (AF-2), que estimula a transcrição em resposta a ligação do ligante e é necessária para a ligação com co-ativadores ou correpressores e transativação (Aranda e Pascual, 2001). Nos mamíferos, da subfamília LXR consiste em LXR α e LXR β , codificados por dois genes, com a isoforma β tendo identidade aminoacídica 77% igual a isoforma α (Vaya e Schipper, 2007). Pouco se sabe sobre LXRs em peixes, o seqüenciamento completo do genoma de *Fugu rubripes* (Fugu) mostrou que continha um único gene LXR (Maglich et al., 2003), de análise e de seqüências genômicas evolutivas dos receptores nucleares que sugerem que um ortólogo LXR α pode estar presente no zebrafish (*Danio rerio*) (Bertrand et al., 2004). Posteriormente, um DNA de codificação de uma proteína com alta similaridade o LXR α de mamíferos foi identificado em zebrafish (Archer et al., 2008).

Segundo Cruz-Garcia et al. (2009), o desenvolvimento sustentável da aquicultura determina que as dietas devem conter níveis crescentes de

produtos vegetais, que são desprovidos de colesterol, mas contém fitoesteróis, que são conhecidos por ter efeitos fisiológicos nos mamíferos. E sabe-se que tais esteróis modulam LXRs, induzindo à ativação do catabolismo do colesterol e a biossíntese de ácidos graxos de novo no fígado. A análise transcritômica demonstrou que a substituição da farinha e óleo de peixe por produtos vegetais induzem genes do colesterol e o metabolismo dos ácidos graxos em salmonídeos. Surpreendentemente, a expressão de LXR foi menor no fígado de todos os tecidos examinados e no salmão, sendo que a maior expressão foi observada nos cecos pilóricos, e no fígado mostrou-se expressão intermediária. É provável que a expressão tecidual tenha sido afetada pelo estado fisiológico dos animais amostrados. Certamente, a regulação nutricional, ambiental e/ou de desenvolvimento foi evidente no salmão, onde a expressão de LXR no fígado foi maior nos peixes de água salgada que nos de água doce, e maior nos peixes alimentados com óleo de peixe em comparação aos peixes alimentados com óleo vegetal em salmão adulto. Certamente, foi demonstrado que o LXR do fígado no salmão foi regulado pelos fatores nutricionais e de desenvolvimento/ambientais. Os autores concluem mencionando que estudos funcionais centrados nos genes-alvo para LXR são necessários, como uma maior compreensão do papel do LXR na regulação do metabolismo lipídico em peixes, isto facilitará o desenvolvimento sustentável das dietas com base em derivados de plantas alternativas para a diminuição dos recursos marinhos.

As dietas e óleos vegetais também são deficientes em termos de fosfolípidios e não contêm colesterol, embora eles contenham fitoesteróis (Padley et al., 1994; Tocher et al., 2008). Por conseguinte, tem sido mostrado recentemente que a substituição de dietas com óleo de peixe por dieta com óleo vegetal em salmão do Atlântico (*Salmo salar*) resultou em aumento da regulação de genes da biossíntese de colesterol e elemento regulador do proteína ligadora do elemento regulado por esterol 2 (SREBP-2), um membro de uma família de fatores de transcrição que regulam a homeostase, incluindo o metabolismo lipídico e do colesterol (Taggart et al., 2008; Leaver et al., 2008).

Panserat et al. (2009), analisaram a transcriptoma hepática de juvenis de truta arco-íris alimentadas com uma dieta baseada em vegetais. Os autores concentraram a análise sobre a substituição total da farinha de peixe (FP) e óleo de peixe (OP) por uma dieta 100% baseada em planta (0% FP, 0% OP). Analisaram a transcriptoma hepática pós-prandial de truta arco-íris alimentadas com as duas dietas 8 h após a alimentação. Seis RNAs hepáticos totais de cada grupo alimentar foram hibridizados contra um microarray de DNAC de truta (9K). Após o tratamento dos dados MIAME respeitando o padrão (mínimo de informações sobre um protocolo de Microarray Experiment), descobriram que 176 genes hepáticos diferencialmente foram expressos entre os peixes alimentados com duas dietas: 96 e 80 foram sobre-expressos e sub-expressos, respectivamente, em truta alimentados com a dieta baseada em vegetais. A grande maioria

dos genes diferencialmente expressos foram envolvidos no metabolismo (57%) e os outros nos processos celulares (21%) e transportes (10%). Entre os genes envolvidos no metabolismo (n = 86), 37% estavam associados com o metabolismo de proteínas (proteólise, o catabolismo de aminoácidos), 21% com o metabolismo lipídico (biossíntese dos ácidos graxos, biossíntese de colesterol), 30% com o metabolismo do ácido nucléico e 8% com o metabolismo da glicose. Especificamente, encontraram em truta arco-íris alimentados com a dieta 100% vegetal uma sobre-expressão de genes envolvidos na biossíntese de lipídios (metabolismo do colesterol e dessaturação dos ácidos graxos poliinsaturados) e uma sobre-expressão de um novo ator metabólico, ou seja, glicerolquinase, que desempenha um papel fundamental na relação da glicose no metabolismo lipídico. Em geral, estes dados demonstram que um número de efeitos metabólicos intermediários ocorrem em trutas alimentadas com uma dieta totalmente baseada em vegetais. Em conclusão, embora a remoção total dos ingredientes de origem marinha não é essencial para o desenvolvimento sustentável da aquicultura (Tacon e Metian, 2008), o conhecimento sobre as potenciais implicações de tais dietas extremas é útil: porque nenhuma disfunção importante do metabolismo hepático (saúde dos peixes), não sobre-expressão de genes envolvidos no estresse hepático, segurança e o bem estar (em contraste com o que tem sido observado por Vilhelmsson et al. (2004), e nenhuma variação forte dos atores do ciclo de células hepáticas, tais como aqueles envolvidos na apoptose foram encontrados neste estudo, os dados poderiam ser interpretados como um efeito fraco de mudanças completas na inclusão ingrediente da dieta sobre o fígado.

Sistema Imune

Síntese de eicosanóides

Existe um grupo de ácidos graxos, denominados essenciais, que só podem ser obtidos pela dieta (Pompéia et al., 2000). Dentre os ácidos graxos essenciais estão aqueles da família w-3, destacando-se os ácidos linolênico (C18:3 - LNA), eicosapentaenóico (C20:5 - EPA) e o docosahexaenóico (C22:6 - DHA), que são precursores dos eicosanóides. Os eicosanóides incluem as prostaglandinas (PGs), tromboxanos (TXs), leucotrienos (LTs), lipoxinas (LXs), ácidos hidroperoxieicosatetraenóico (HPETEs) e hidroxieicosatetraenóico (HETEs) entre outros; potentes reguladores de funções celulares, podendo ser produzidos por quase todas as células do organismo, apresentando efeitos autócrino e parácrino (Marks et al., 1996).

Os eicosanóides são produzidos em quantidades muito pequenas por quase todos os tecidos, em vez de serem produzidos por um determinado tecido ou glândula especializada, como os hormônios. Eles atuam localmente, não são armazenados, e possuem uma meia-vida extremamente curta, sendo rapidamente metabolizados em compostos

inativos no seu local de síntese. Suas ações biológicas são mediadas por receptores nas membranas plasmáticas e nuclear, que variam nos diferentes tecidos (Champe et al., 2006).

Os efeitos dos ácidos graxos e dietas lipídicas sobre a função imunitária têm despertado grande interesse da comunidade científica. Os estudos nesta área foram intensificados, pela elucidação das funções dos eicosanóides na modulação das respostas inflamatória e imunitária (Goldyne e Stobo, 1981; Hwang, 1989), e pelo fato de que a via de metabolização do ácido araquidônico para produzir esses mediadores pode ser modulada por AGPIs de cadeia longa n-3, encontrados em alguns óleos de peixes marinhos (Hwang, 1989; Calder, 1996).

Conforme descrito acima, os ácidos graxos (AGs) podem regular o metabolismo e a funcionalidade de leucócitos e este efeito, é em parte, devido à alteração na transcrição gênica. EPA e DHA apresentam efeitos marcantes na função de leucócitos, afetando as respostas inflamatória e imunitária. Destacam-se os efeitos benéficos dos AGPI w-3, tais como EPA e DHA em doenças cardiovasculares, autoimunes, esclerose múltipla e certos tipos de câncer, em humanos (Chandraesekar e Fernandes, 1994; Calder, 1998).

Os lipídios interferem na atividade das células imunes através de vários mecanismos, incluindo fatores como a estabilidade física das membranas das células imunes (por exemplo, a fluidez, a peroxidação de membrana de atividades enzimáticas membrana-associadas e acesso a receptores) e sinalização celular através da produção de eicosanóides e citocinas (Waagbo, 2006). O ácido araquidônico (20:4 n-6, AA), di-homo- γ -linolênico (20:3 n-6, DHGLA) e o ácido eicosapentaenóico (20:5 n-3, EPA), liberados dos fosfolipídios da membrana celular são precursores de síntese enzimática de eicosanóides como prostaglandinas (PG), leucotrienos (LTs) e tromboxanos (TXs), cujos elementos têm um papel importante na regulação da inflamação e imunidade. Os ácidos graxos w-3 podem modular a função de leucócitos por meio de sinalização de eicosanóides e, assim, influenciar a produção de citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão (Calder et al., 2002; Calder, 2005). Há provas claras de que os eicosanóides desempenham um papel na regulação imune em peixes de uma forma semelhante ao observado em mamíferos (Rowley et al., 1995).

Seierstad et al. (2009) efetuou estudo com o objetivo de elucidar se a modulação dos lipídios de membrana após a substituição do óleo de peixe (OP) pelo óleo de colza (OC) na alimentação, influencia pró-expressão de citocinas inflamatórias e atividade de explosão respiratória. O plasma obtido a partir de estudos de alimentação reflete a composição dos ácidos graxos das dietas com uma relação de n-3/n-6 para os grupos OP, OP / OC e OC de 13,6, 6,8 e 2,1, respectivamente. Perfis de ácidos graxos de leucócitos incubados espelhados na composição do plasma apresentaram grandes mudanças de ácidos graxos. A expressão do gene de TNF- α e IL-

1 β aumentou significativamente em todos os grupos durante o período de estudo de 12 horas após a estimulação LPS. No entanto, não houve diferença significativa na expressão das citocinas entre os três grupos de lipídios. Apesar de uma mudança acentuada em relação n-3/n-6 nas membranas dos leucócitos após incubação do plasma, houve alterações menos acentuadas em ácido araquidônico (AA) e ácido eicosapentaenóico (EPA), os ativadores-chave na modulação da resposta fagocítica como precursores para a síntese de eicosanóides. Isto pode fornecer uma explicação para a falta de influência das fontes de ácidos graxos na resposta inflamatória nos leucócitos.

O ácido tetradeciltioacético (TTA; CH₃-(CH₂)₁₃-S-CH₂-COOH) e o ácido dodeciltioacético (DTA; CH₃-(CH₂)₁₁-S-CH₂-COOH) possuem um átomo de enxofre na terceira posição a partir da terminação carboxílica nos blocos de sua cadeia de carbono da β -oxidação (Berge et al., 1989). Em ratos, a inclusão, de TTA na dieta aumentou a oxidação peroxissomal de ácidos graxos mitocondriais, hepáticos e musculares (Asiedu et al., 1993; Skrede e Bremer, 1993; Asiedu et al., 1996; Berge et al., 1999) e reduziu da gordura corporal (Madsen et al., 2002). Além disso, o TTA demonstrou tanto regulação positiva quanto negativa de um número de genes que codificam os principais fatores de regulação do metabolismo lipídico (Berge et al., 2002), possivelmente através da ação de lipídios, incluindo fatores de transcrição de receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR) (Hihi et al., 2002). O TTA é um potente ativador do PPAR em mamíferos (Madsen et al., 2002). Todos os três isotipos PPAR foram identificados nos peixes (Ruyter et al., 1997; Andersen et al., 2000; Ibabe et al., 2002; Maglich et al., 2003; Leaver et al., 2005), mas não se sabe muito sobre a regulação dos genes alvo PPAR de salmonídeos. No entanto, recentemente demonstrou-se que houve uma redução na expressão dos genes da apolipoproteína hepática e aumento do gene da lipase lipoprotéica no salmão alimentados com suplementação de TTA a 5 °C (Kleveland et al., 2006).

Novos estudos têm demonstrado que os ácidos graxos thia alimentares (0,6% TTA) aumentaram os níveis de ácidos graxos poliinsaturados n-3 (PUFAs) nos tecidos e a oxidação mitocondrial hepática β no salmão a 12 °C (Moya-Falcón et al., 2004). Este nível de TTA na dieta reduziu os níveis de lipídios totais do corpo, mas também o crescimento e a sobrevivência severamente, particularmente a 5 °C (Kleveland et al., 2006), mas também a 12 °C (Moya-Falcón et al., 2004). No último estudo, o TTA foi incorporado principalmente em fosfolipídios (PL) no coração, rins e tecidos do fígado, em salmão gill, e dois produtos catabólicos de TTA (sulfóxidos de ATT) foram identificadas com níveis particularmente altos no rim. Além disso, estudos em hepatócitos de salmão cultivado mostrou que TTA exógeno (incubação de curta duração) foi constituído em quatro categorias principais fosfolipídios (Moya-Falcón et al., 2006). Além disso, estudos in vitro demonstraram que o TTA reduziu secreção de triacilglicerol de hepatócitos de salmão (Vegusdal et al., 2005).

É sabido que alguns componentes da dieta afetam o sistema imunológico dos vertebrados (Plat e Mensink, 2005), e há estudos que investigaram os efeitos do TTA em parâmetros do sistema imunológico. Tem sido relatado que o TTA tem ação antiinflamatória, afetando produção e liberação de citocinas em células mononucleares ativadas do sangue humano (PBMCs) (Aukrust et al., 2003), e células endoteliais humanas (HUVECs) (Dyrøy et al., 2005). Segundo estudo de Costabile et al. (2005)., a hipótese de que tanto PPAR α -dependentes e mecanismos independentes podem estar envolvidos.

De acordo com Gjøen et al. (2007), altos níveis de lipídios estão sendo usados em dietas de salmonídeos para promover o crescimento rápido, porém não há uma limitação da oferta de óleos de peixe tradicionais como a indústria de criação de peixes se expande. Uma melhor maneira de utilizar as fontes lipídicas poderia ser a de encontrar formas de estimular a oxidação de ácidos graxos, de modo que o salmão do Atlântico usasse mais energia para o crescimento muscular, e menos para o armazenamento no tecido adiposo perivisceral. Foi comentado previamente que a inclusão do ácido graxo thia (TTA) na dieta promove β -oxidação hepática e redução dos níveis de lipídios totais do corpo. No entanto, TTA dietéticos também tiveram alguns efeitos negativos, levando ao acúmulo de metabólitos sulfona e sulfóxido de TTA nos rins e taxas de mortalidade, particularmente em temperaturas mais baixas. Portanto, tais autores também investigaram os efeitos da TTA na função do rim em altas e baixas temperaturas, incluindo alguns parâmetros do sistema imunológico. Gjøen et al. (2007) puderam observar que a inclusão de ácidos graxos thia como TTA e DTA parece ser bem tolerada por salmão onde a temperatura do metabolismo e excreção de metabólitos de TTA foi suficiente. No entanto, pôde-se supor que estes metabólitos começam a se acumular nos rins em temperaturas mais baixas, resultando em fraco crescimento, inibição da produção de mediador inflamatório e, conseqüentemente, aumento da mortalidade. Estes resultados e de outros estudos mostram que altas doses de TTA devem ser usadas com cautela, como meio de aumentar a oxidação de AG e reduzir o armazenamento de gordura no salmão, em especial durante os períodos de baixas temperaturas da água.

TNF- α

O fator de necrose tumoral α (TNF- α) regula inúmeras funções, tais como processo inflamatório, apoptose, produção de outras citocinas como IL-1 e IL-6, e a indução de resistência periférica à insulina. A síntese de TNF- α por macrófagos pode ser induzida por diversos estímulos (físicos, biológicos e químicos). E a produção de TNF- α também é modulada por ácidos graxos. Esses, dependendo do tipo, concentração e período de exposição, têm efeito estimulatório, inibitório ou até mesmo nulo (Rocha et al., 2008).

Rocha et al. (2008) visaram elucidar o efeito dos ácidos graxos na produção dessa citocina e correlacionar esses achados com os efeitos pró- e antiinflamatórios em uma linhagem de macrófagos de camundongos (células J774). As células J774 foram mantidas em meio RPMI- 1640 contendo 10% de soro fetal bovino e foram tratadas com 50 e 100µM de ácidos palmítico, docosa-hexaenóico (DHA) e eicosapentaenóico (EPA) pelos períodos de 1, 3, 6 e 24 horas. A avaliação da expressão gênica de TNF-α foi realizada por PCR (Reação da polimerase em cadeia) em tempo real. Os ácidos palmítico e EPA modularam a expressão de TNF-α em células J774 tratados por períodos curtos (1 e 3 horas). Porém, em períodos mais longos (6 e 24 horas), não houve modulação. Portanto, observa-se que a regulação da expressão gênica do TNF-α por ácidos graxos é dependente do tempo. O DHA não modulou a expressão de TNF-α nos períodos de tratamento utilizados. Com 1 hora de tratamento, houve aumento da expressão de TNF-α nas células tratadas com ácido palmítico, sugerindo que este ácido graxo saturado apresenta efeito pró-inflamatório. Tais resultados estão de acordo com Suganami et al. (2007), e Rocha et al. (2008) também observaram aumento na produção de TNF-α em 3 horas de tratamento com EPA, sugerindo efeito pró-inflamatório desse ácido graxo. Esse resultado está de acordo com o trabalho de Skuladottir et al. (2007) e requer mais estudos para ser esclarecido.

O ácido graxo eicosapentaenóico, um ácido graxo poliinsaturado presente no óleo de peixe, tem se mostrado um atenuador de caquexia do câncer em seres humanos (Wigmore et al., 2000), provavelmente porque regula negativamente a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Endres et al., 1989; Trebble et al., 2003, Zhao et al., 2004). Embora os dados específicos sobre os efeitos dos EPA nos níveis de expressão de TNFα em truta arco-íris não existam, eicosanóides derivados de ácidos graxos n-3 têm sido utilizados para reduzir a resposta imune em várias espécies de peixes (Kiron et al., 2004; Rowley et al., 1995; Li et al., 1994). Se os ácidos graxos podem atenuar a resposta à estimulação imune crônica em truta arco-íris por regulação negativa a liberação de citocinas, tais como TNFα, então o efeito da estimulação imune crônica no músculo também pode ser atenuada.

Ácidos graxos bioativos (CLA e TTA)

O ácido linoléico conjugado (CLA) é um termo comum para um grupo de ácidos octadecadienóicos, que são isômeros conjugados posicionais e geométricos do ácido linoléico (C18:2), em que as duplas ligações são separadas por uma ligação simples carbono-carbono no lugar de um grupo metileno, dois dos quais (*cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12) possuem atividades biológicas (Pariza et al., 2001). O C18:2 (*cis*-9, *trans*-11) é considerado a forma primária de CLA presente naturalmente nos alimentos, ainda que o C18:2 (*cis*-9, *trans*-11) e o C18:2 (*trans*-10, *cis*-12) sejam os dois isômeros predominantes e presentes em níveis semelhantes no CLA sintético (Chin et al., 1992). Recentemente, aumentaram-se as evidências

de que os isômeros CLA *cis*-9, *trans*-11 e *trans*-10, *cis*-12 podem agir benéficamente em sistemas biológicos de forma diferente.

Os possíveis mecanismos de ação pelos quais o CLA é capaz de alterar a composição corporal envolvem mudanças metabólicas que propiciam, concomitantemente, a diminuição da lipogênese e a potencialização da lipólise. Dessa maneira, alguns pesquisadores têm avaliado a ação da suplementação com CLA sobre o perfil hormonal e a atividade das enzimas envolvidas no processo de oxidação e síntese de triacilgliceróis, de forma a fornecer mais subsídios para o completo esclarecimento dessas propriedades biológicas.

Santos et al. (2007) observaram redução dos ácidos araquidônico e linoléico nos filés, como resultado da suplementação de CLA na dieta de tilápia-do-nilo. A suplementação com CLA inibe a produção de ácidos graxos adipogênicos, como ácido linoléico, ácido araquidônico (AA) e seus metabólitos eicosanóides. A redução do AA e de outros ácidos graxos adipogênicos pode diminuir a esterificação dos triacilgliceróis e a conversão em fosfolipídios, que são críticos para o metabolismo celular e/ou síntese nos lipídios segundo mensageiros, como prostaglandina J2 (PGJ2), que pode regular a adipogênese. Vários estudos relatam como um CLA-mediado diminui essas longas cadeias de ácidos graxos. Assim, o CLA pode diminuir os sinais das células derivados do ácido araquidônico, como prostaglandinas e leucotrienos, que são críticos reguladores do crescimento, da diferenciação e do metabolismo da célula (Evans, 2002).

Segundo Santos et al. (2009), a utilização de CLA durante aproximadamente 20 dias antes do abate é suficiente para permitir máxima deposição desse ácido no lipídio total do filé de pacu. O fornecimento de CLA não afetou o desempenho produtivo e a composição química da carcaça e dos filés, mas alterou o perfil de ácidos graxos, com redução de n-6 no peixe inteiro e filé e do 18:3n-3 no peixe inteiro, filé e fígado. Podendo a diminuição dos ácidos graxos da série n-6 estar relacionada ao fato de que esses ácidos graxos são precursores do CLA e são os mais afetados, dando lugar ao ácido linoléico conjugado (CLA) da dieta (Chin et al., 1994). No entanto, após adaptação do metabolismo, os valores de CLA e n-6 mantiveram-se constantes.

Santos et al. (2009) também observaram aumento significativo do ácido esteárico (18:0), durante o fornecimento de dieta com 1,2% de CLA, que segundo o autor também foi encontrado por Twibell et al. (2001), Bandarra et al. (2006) e Valente et al. (2007a,b). Segundo Lee et al. (1998), alguns ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) reprimem a expressão do gene da enzima esteroil-CoA Δ -9 dessaturase (SCD) no fígado e em adipócitos maduros por meio da inibição da transcrição do gene SCD1 e da estabilidade do RNA mensageiro (RNAm) do SCD1. Essa enzima está envolvida na síntese de alguns ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e na regulação desse processo, em que insere dupla ligação entre os carbonos 9

e 10 de diversos AGS como 16:0 e o 18:0 para a formação do 16:1 (n-7) e 18:1(n-9). O CLA inibe a atividade da enzima Δ -9 dessaturase reduzindo a abundância de RNAm dessa enzima no fígado, causando acúmulo dos saturados, principalmente o 18:0, pela inibição da elongação desse ácido graxo.

No fígado de pacu, Santos et al. (2009) observaram aumento significativo de ácidos graxos n-6 e n-3 de cadeia longa em peixes alimentados com CLA, possivelmente relacionado ao aumento da atividade das enzimas dessaturases Δ -5 e Δ -6. Takahashi et al. (2003), em estudo com camundongos mantidos com dieta contendo 1% de CLA, observaram aumento da expressão dos RNAm das enzimas Δ -5 e Δ -6 dessaturase, e sugeriram que o CLA aumentou a síntese hepática de ácidos graxos, gerando os ácidos graxos de cadeia longa. Entretanto, esse aumento no fígado não resultou em aumento no peixe inteiro e no filé, ou seja, não houve deposição dos AGPI de cadeia longa, que podem ter sido utilizados na biossíntese hormonal, sendo essas as formas biológicas das famílias. No mesmo estudo foi observada redução do 16:0 no fígado dos peixes alimentados com CLA, assim como no salmão-do-atlântico "post smolts", o que, segundo Leaver et al. (2006), pode ser ocasionado pelo aumento da expressão do RNAm de elongases, de forma que ocorre redução de alguns ácidos graxos precursores, de cadeia curta.

Makol et al. (2009) suplementaram 2% de CLA na dieta de robalo e obtiveram sucesso quanto a incorporação de CLA no tecido, com o aumento de ácidos graxos n-3, n-3 HUFA e redução de ácidos graxos saturados no músculo, além da diminuição de deposição de gordura na cavidade visceral. Portanto, esses resultados sugerem que a ativação do catabolismo lipídico como visto em mamíferos, onde o CLA dietético aumenta a atividade das enzimas lipolíticas no fígado, como a carnitina palmitoiltransferase I (CPT-I), uma enzima chave na β -oxidação mitocondrial de ácidos graxos nos tecidos adiposos (Park e Pariza, 2007).

Segundo Makol et al. (2009), a redução na deposição de gordura perivisceral de robalo e o potencial aumento de β -oxidação concordam bem com a redução nos ácidos graxos monoinsaturados, principalmente ácido palmitoléico (16:1 n-7), que são conhecidos como fontes primárias para o catabolismo de gordura. Além disso, o ácido palmitoléico e oléico (18:1 n-9) são sintetizados através da esteroil-CoA dessaturase (SCD), que é uma enzima limitante para a acumulação de gordura no tecido adiposo e cuja atividade é inibida pelo CLA em mamíferos (Lin et al., 2004), e poderia estar contribuindo para a redução da gordura perivisceral no robalo. No entanto, como sugerido por outros autores, a redução da gordura perivisceral poderia ser também relacionada a uma inibição da atividade da lipoproteína lipase dos adipócitos, o início da apoptose no tecido adiposo ou a inibição do SCD, que é a enzima limitante da conversão de ácidos graxos saturados para ácidos graxos monoinsaturados (Park e Pariza, 2007). A redução da deposição de gordura na cavidade visceral, sem comprometer o

desempenho do crescimento dos peixes, sugere uma melhor utilização da energia da dieta e do valor potencial de CLA para melhorar a qualidade da produção robalo.

Makol et al. (2009) também mencionam, que a redução dos ácidos graxos monoinsaturados e saturados, e o aumento da proporção DHA / EPA encontrada no músculo dos peixes alimentados com CLA o que sugere o aumento de β -oxidação e inibição da SCD. O EPA foi observado como sendo melhor substrato para aciltransferase carnitina mitocondrial que o DHA (Madsen et al., 1998); e sua β -oxidação preferencial do DHA no músculo aumentaria a razão DHA / EPA. Além disso, a inclusão de CLA de até 1% aumentou a atividade plasmática de lisozima e foi positivamente correlacionada com a ACP, que poderá implicar em um aumento das defesas anti-bacterianas. Já a inclusão de 2% de CLA não teve o mesmo efeito, o que pode estar relacionado com a reduzida ingestão de alimentos observada neste tratamento. Estes estão de acordo com o aumento da resistência imunológica encontrada também em aves e mamíferos. Por exemplo, em frangos de corte atividade fagocítica é promovido pela inclusão de CLA na dieta (Zhang et al., 2005) e em ratos CLA reforça o sistema imune específico (Ramírez-Santana et al., 2009).

Makol et al. (2009) também observaram que no fígado dos animais que ingeriram 1% de CLA houve aumento da atividade da enzima málica, uma enzima lipogênica envolvida na produção de NADPH para a lipogênese de novo. No entanto, este aumento da atividade lipogênica não conduziu a um aumento da deposição de lipídios no fígado dos peixes alimentados com CLA, que realmente mostrou uma tendência para reduzir o seu teor de lipídios e ácidos graxos monoinsaturados e uma diminuição da vacuolização lipídica citoplasma das células hepáticas, sugerindo a mobilização de lipídios e turnover de hepatócitos quando os peixes são alimentados com maiores níveis de CLA na dieta e de acordo com a ausência de efeito do CLA encontrado em atividade de G6PD neste e em outros estudos (Valente et al., 2007b).

Outro ácido graxo bioativo, o TTA, não pode ser β -oxidado, devido à posição do enxofre na cadeia de carbono e, portanto, é metabolizado em mamíferos através de ω -hidroxilação no retículo endoplasmático seguido por oxidação peroxissomal da ω -end produzindo ácidos de cadeia curta sulfoxi dicarboxílico (Skrede et al., 1997). Nos mamíferos, o TTA aumenta, tanto no fígado e músculo, a oxidação dos ácidos graxos peroxissomal e mitocondrial, diminui lipídios plasmáticos e a massa de tecido adiposo e aumenta o transporte de ácidos graxos livres dos tecidos periféricos para o fígado (Berge et al., 2002).

Kennedy et al. (2007a) determinaram os efeitos do CLA e TTA sobre o desempenho do crescimento e metabolismo de lipídios e de ácidos graxos no bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua* L.). No fígado, a acil-CoA oxidase (atividade ACO), mas não a carnitina palmitoiltransferase-I (CPT-I),

aumentou pelo CLA, enquanto a TTA na dieta aumentou as atividades de acilCoA oxidase (ACO) e da CPT-I. Em contraste, a atividade da ACO foi reduzida em ambos, CLA e ATT, no músculo vermelho e branco, enquanto para a CPT-I geral, a atividade não foi afetada pelo CLA e TTA em qualquer tecido do músculo.

Kennedy et al. (2007a) também mostraram que a CPT-I no fígado de bacalhau não foi aumentada pelo CLA na dieta, sugerindo que a β -oxidação mitocondrial não seria aumentada. Medir esse parâmetro exigiria tecido fresco, mas, infelizmente, os ensaios utilizando isótopos radioativos não foram possíveis no local de exploração comercial. Em contraste, no fígado a ACO foi significativamente aumentada pelo CLA na dieta do bacalhau, sugerindo que o CLA na dieta pode ter um efeito maior sobre a oxidação peroxissomal ao invés da mitocondrial de ácidos graxos no fígado de bacalhau. Também foi observado o aumento da proporção de 18:0 e diminuição do 18:1 n-9 foi observado na carne e, principalmente, fígado de bacalhau alimentados com CLA sugerindo a inibição da dessaturação $\Delta 9$. Aumento de 18:0 e diminuição 18:1 n-9 foi relatado anteriormente em ácidos graxos de alevinos de salmão do Atlântico, e no fígado e carne de juvenis alimentados com CLA sugerindo que a atividade de SCD foi reduzida (Berge et al., 2004, Kennedy et al., 2005). Da mesma forma, aumentar os níveis de CLA na dieta aumentou a proporção de 18:0 e diminuiu da porcentagem de 18:1 no fígado, músculo e vísceras de juvenis de truta arco-íris (Bandarra et al., 2006), e no fígado e músculo de híbrido de robalo riscado e perca amarela (Twibell et al., 2000, 2001).

Diminuição de níveis de PUFA teciduais após a alimentação com CLA tem sido relatada em perca amarela e tilápia (Twibell et al., 2001; Yasmin et al., 2004). O CLA aumenta os níveis de ácidos graxos poliinsaturados no fígado, mas diminuiu PUFA no músculo (Twibell et al., 2000). O CLA dietético total aumentou PUFA n-3, especialmente o DHA, em alevinos de salmão (Berge et al., 2004), mas não teve efeito sobre os níveis de AGPI no fígado, e parecia ser depositado na carne em detrimento do EPA e DHA, no salmão (Kennedy et al., 2005). No estudo de Kennedy et al. (2007a) o CLA não teve efeito sobre os níveis de ácidos graxos poliinsaturados no fígado de bacalhau ou carne. Isto, não foi inesperado, já que a atividade da dessaturação/via de alongamento de AGPI é muito baixa em bacalhau (Bell et al., 2006). Em contrapartida, o TTA dietético aumentou significativamente a porcentagem de DHA, e diminuiu a proporção de EPA e total PUFA n-6 na carne do bacalhau. Isto poderia ser resultado de um aumento da conversão de EPA DHA, mas não há evidências de estudos anteriores para apoiar TTA ter um efeito na dessaturação de ácidos graxos ou alongamento (Berge et al., 2002). Portanto, ele pode ser mais provável, devido à especificidade da β -oxidação, com DHA são mais resistentes à oxidação do EPA (Tocher, 2003).

Kennedy et al. (2007b), em experimento com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss L.*), objetivaram determinar os efeitos do CLA e TTA

na performance de crescimento, metabolismo de lipídios e ácidos graxos, e expressão de genes selecionados em comercial trutas cultivadas em água do mar. A produção de ácidos graxos hexano pelos microsomas do fígado foi aumentada por CLA e TTA, e ambos os ácidos graxos funcionais aumentaram a proporção de ácidos graxos n-3 no fígado, principalmente devido ao aumento do 20:5 n-3 e 22:6 n-3. No entanto, a expressão de acil-dessaturase $\Delta 6$ foi significativamente inferior nos peixes alimentados com CLA ou TTA, enquanto a expressão de elongase de PUFA foi aumentada significativamente nos peixes alimentados com 1% de CLA. A atividade da CPT-I foi aumentada por TTA no fígado e no músculo vermelho, e a atividade da acil-CoA foi aumentada por TTA no fígado, e no CLA, no maior nível de inclusão na dieta no músculo vermelho. A expressão de CPT-I no músculo branco foi significativamente maior nos peixes alimentados com CLA e TTA.

No entanto, nem CPT-I nem ACO (enzimas-chave do mitocondrial e peroxissomal β -oxidação, respectivamente) foram aumentadas no fígado pela dieta com CLA, e a expressão da CPT-I no fígado também não foi afetada por um dos ácidos graxos bioativos. Em contraste, o TTA aumentou tanto a CPT-I quanto a ACO no fígado de truta, mas isso não se refletiu em menor teor lipídico no fígado, resultados semelhantes com os obtidos anteriormente em bacalhau (Kennedy et al., 2007a). Portanto, o mecanismo de diminuição do teor de lipídios no fígado dos peixes alimentados com CLA é claro que não parece estar relacionado à oxidação dos ácidos graxos. Essa dissociação entre os níveis de tecido adiposo e os indicadores de oxidação dos ácidos graxos também foi observada no tecido muscular, o aumento do TTA, CPT-I e ACO no músculo vermelho e CLA elevado aumento ACO no músculo vermelho. Isto talvez possa ser explicado, porém, não como o músculo vermelho constitui apenas uma pequena proporção de carne e alterações de forma metabólica em que são tão propensos a resultar em mudanças na composição da carne em geral. No músculo branco, o que constitui o grosso da carne, as atividades de CPT-I e ACO não foram afetadas pelo CLA e TTA. Considerando a ausência de efeito da atividade da expressão de CPT-I, a CPT-I aumentada no músculo branco de peixes alimentados com CLA ou TTA foi uma contradição. Um mecanismo semelhante poderá explicar a falta de associação entre a CPT-I expressão em estudos posteriores.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os efeitos dos ácidos graxos na expressão gênica de peixes são cada vez mais estudados, principalmente por conta das modificações na nutrição dos mesmos, com o intuito de obter melhor desempenho e qualidade com o menor custo, fazendo com que a substituição de nutrientes de origem animal pelos de origem vegetal seja cada vez mais utilizada. Conhecer os efeitos que tal mudança na nutrição desses animais e o que as mesmas podem provocar sobre o seu metabolismo é imprescindível, visto que tal

conhecimento é determinante para obtenção do sucesso desses novos manejos.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, M.S. 1998. Ecological role of lipids in the health and success of fish populations. In: Arts, M. T., Wainman, B.C. Lipids in freshwater ecosystems. New York : Springer-Verlag., 7: 132-160.
- Andersen, O. et al. 2000. Multiple variants of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma are expressed in the liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Gene*, 255: 411-418.
- Aranda, A. e Pascual, A. 2001. Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol. Rev.*, 81: 1269-1304.
- Archer, A. et al. 2008. Transcriptional activity and developmental expression of liver X receptor (LXR) in zebrafish. *Dev. Dyn.*, 237: 1090-1098.
- Asiedu, D.K. et al. 1996. Long-term effect of tetradecylthioacetic acid: a study on plasma lipid profile and fatty acid composition and oxidation in different rat organs. *Biochim. Biophys. Acta*, 1300: 86-96.
- Asiedu, D.K. et al. 1993. Early effects on mitochondrial and peroxisomal beta-oxidation by the hypolipidemic 3-thia-fatty acids in rat livers. *Biochim. Biophys. Acta*, 1166: 73-76.
- Aukrust, P. et al. 2003. Immunomodulating effects of 3-thia fatty acids in activated peripheral blood mononuclear cells. *Eur. J. Clin. Invest.*, 33: 426-433.
- Balmer, J.E. e Blomhoff, R. 2002. Gene expression regulation by retinoic acid. *J. Lipid Res.*, 43: 1773-1808.
- Bandarra, M. et al. 2006. Effect of dietary conjugated linoleic acid on muscle, liver and visceral lipid deposition in rainbow trout juveniles (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 254: 496-505.
- Bell, J.G. et al. 2006. Effect of dietary echium oil on growth, fatty acid composition and metabolism, gill prostaglandin production and macrophage activity in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquac. Res.*, 37: 606-617.
- Berge, G.M. et al. 2004. Conjugated linoleic acid in diets for juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*); effects on fish performance, proximate composition, fatty acid and mineral content. *Aquaculture*, 237: 365-380.
- Berge, R.K. et al. 1989. Alkylthioacetic acids (3-thia FAs) — a new group of non-betaoxidizable peroxisome-inducing fatty acid analogues: II. Dose- response studies on hepatic peroxisomal-and mitochondrial changes and long-term fatty acid metabolizing enzymes in rat. *Biochem. Pharmacol.*, 38: 3969-3979.
- Berge, R.K. et al. 2002. Metabolic effects of thia fatty acids. *Curr. Opin. Lipidol.*, 13: 295-304.
- Berge, R.K. 1999. In contrast with docosahexaenoic acid, eicosapentaenoic acid and hypolipidaemic derivatives decrease hepatic synthesis and secretion of triacylglycerol by decreased diacylglycerol

- acyltransferase activity and stimulation of fatty acid oxidation. *Biochem. J.*, 343 (Pt 1): 191-197.
- Bertrand, S. et al. 2004. Evolutionary genomics of nuclear receptors: from twenty-five ancestral genes to derived endocrine systems. *Mol. Biol. Evol.*, 21: 1923-1937.
- Bonilla, S. et al. 2000. High-fat diets affect the expression of nuclear retinoic acid receptor in rat liver. *Br. J. Nutr.*, 83: 665-671.
- Brenner, R.R. 1981. Nutritional and hormonal factors influencing desaturation of essential fatty acids. *Prog. Lipid Res.*, 20: 41-47.
- Bureau, D.P. et al. 2008. The effect of dietary lipid and long-chain n-3 PUFA levels on growth, energy utilization, carcass quality, and immune function of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. World. Aquacult. Soc.*, 39: 1-21.
- Caballero, M.J. et al. 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture*, 225: 325-340.
- Cahu, C.L. et al. 2003. Effect of dietary phospholipid level and phospholipid: neutral lipid value on the development of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed a compound diet. *Br. J. Nutr.*, 90: 21-28.
- Calder, P.C. 1996. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55: 737-774.
- Calder, P.C. 1998. N-Polyunsaturated fatty acids and mononuclear phagocyte function. In: Kremer, J. *Medicinal fatty acids in inflammation*, Switzerland, Birkhauser Verlag Basel, 1-27.
- Calder, P.C. 2005. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem. Soc. Trans.*, 33, 423-427.
- Calder, P.C. 2002. Fatty acids and lymphocyte functions. *Br. J. Nutr.*, 87 (Suppl 1): 31-48.
- Champe, P.C. et al. 2006. *Bioquímica Ilustrada*. 3ª ed. Ed. Artmed. Porto Alegre, RS, 544p.
- Chandraesekar, B. e Fernandes, G. 1994. Decreased proinflammatory cytokines and increased antioxidant enzyme gene expression by w -3 lipids in murine lupus nephritis. *Biochemical and Biophysical Research Communications Critical Reviews in Immunology Transactions of the New York Academy of Sciences v. 200*, p. 893-898.
- Chien, D. et al. 2000. Malonyl-CoA content and fatty acid oxidation in rat muscle and liver in vivo. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 279: 259-265.
- Chin, S.F. et al. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5: 185-197.
- Chin, S.F. et al. 1994. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improves feed efficiency. *The Journal of Nutrition*, 124: 2344-2349.
- Cinti, D.L. et al. 1992. The fatty acid elongation system of mammalian endoplasmic reticulum. *Prog. Lipid Res.*, 31: 1 -51.

- Clarke, S.D. et al. 1997. Fatty acid regulation of gene expression. Its role in fuel partitioning and insulin resistance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 827: 178–187.
- Cook, H.W. 1991. Fatty acid desaturation and chain elongation in eucaryotes. In: Vance, D. e Vance, 1991. J. (Eds.), *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Elsevier, Amsterdamy New York, 141–169.
- Costabile, M. et al. 2005. The immunomodulatory effects of novel beta-oxa, beta-thia, and gamma-thia polyunsaturated fatty acids on human T lymphocyte proliferation, cytokine production, and activation of protein kinase C and MAPKs. *J. Immunol.*, 174: 233–243.
- Cruz-Garcia, L. et al. 2009. Molecular cloning, tissue expression and regulation of liver X Receptor (LXR) transcription factors of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 153: 81–88.
- Diaz, J.P. et al. 1997. First events in lipid absorption during post-embryonic development of the anterior intestine in gilt-head sea bream. *J. Fish Biol.*, 51: 180-192.
- Dyrøy, E. et al. 2005. Antiinflammatory effects of tetradecylthioacetic acid involve both peroxisome proliferator-activated receptor alpha-dependent and -independent pathways. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 25: 1364-1369.
- Endres, S. et al. 1989. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N. Engl. J. Med.*, 320: 265-271.
- Evans, M.E. et al. 2002. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 508-516.
- Forman, B.M. et al. 1997. Hypolipidemic drugs, polyunsaturated fatty acids, and eicosanoids are ligands for peroxisome proliferator-activated receptors alpha and delta. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94: 4312-4317.
- Gisbert, E. et al. 2005. Dietary phospholipids are more efficient than neutral lipids for long chain polyunsaturated fatty acid supply in European sea bass *Dicentrarchus labrax* larval development. *Lipids*, 40: 609–618.
- Gjøen, T. et al. 2007. Effects of dietary thia fatty acids on lipid composition, morphology and macrophage function of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) kidney. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 148: 103–111.
- Haga, Y. et al. 2003. A retinoic acid receptor-selective agonist causes jaw deformity in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 221: 381-392.
- Haliloglu, H.I. et al. 2003. Comparisons of fatty acid composition in some tissues of rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) living in seawater and freshwater. *Food Chemistry*, 86 :55-59.

- Hastings, N. et al. 2004. Molecular cloning and functional characterization of fatty acyl desaturase and elongase cDNAs involved in the production of eicosapentaenoic and docosahexanoic acids from α -linolenic acid in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Mar. Biotechnol. 6.
- Henderson, R.J. e Tocher, D.R. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. Prog. Lipid Res., 26: 281-347.
- Hihi, A.K. et al. 2002. PPARs: transcriptional effectors of fatty acids and their derivatives. Cell. Mol. Life Sci., 59: 790-798.
- Hwang, D. 1989. Essential fatty acids and the immune response. FASEB Journal, 3: 2052-2061.
- Ibabe, A. et al. 2002. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors in zebrafish (*Danio rerio*). Histochem. Cell Biol., 118: 231-239.
- Kennedy, S.R. et al. 2007a. Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and tetradecylthioacetic acid (TTA) on growth, lipid composition and key enzymes of fatty acid oxidation in liver and muscle of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Aquaculture, 264: 372-382.
- Kennedy, S.R. et al. 2007b. Influence of conjugated linoleic acid (CLA) or tetradecylthioacetic acid (TTA) on growth, lipid composition, fatty acid metabolism and lipid gene expression of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* L.). Aquaculture, 272: 489-501.
- Kennedy, S.R. et al. 2005. Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid and fatty acid composition in liver and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Comp. Biochem. Physiol. Part B, 168-178.
- Kerner, J. e Hoppel, C. 2000. Fatty acid import into mitochondria. Biochim. Biophys. Acta., 1486: 1-17.
- Kiron, V. et al. 2004. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. Aquaculture, 234: 361-379.
- Kleveland, E.J. et al. 2006. Effects of 3-thia fatty acids on expression of some lipid related genes in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol., 145: 239-248.
- Kliwer, S.A. et al. 1997. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors α and γ . Proc. Natl. Acad. Sci., 94: 4318-4323.
- Kolodziej, M.P. e Zammit, V.A. 1990. Sensitivity of inhibition of rat liver mitochondrial outer-membrane carnitine palmitoyltransferase by malonyl-CoA to chemical- and temperature-induced changes in membrane fluidity. Biochem. J., 272: 421-425.
- Leaver, M.J. et al. 2005. Three peroxisome proliferator-activated receptor isoforms from each of two species of marine fish. Endocrinology, 146: 3150-3162.
- Leaver, M.J. et al. 2008. Functional genomics reveals increased cholesterol and highly unsaturated fatty acid biosynthesis after dietary substitution of fish oil with vegetable oils in Atlantic salmon (*Salmo salar*). BMC Genomics, 9: 299.

- Leaver, M.J. et al. 2006. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on lipid composition, metabolism and gene expression in Atlantic salmon (*Salmo salar*) tissues. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 145: 258-267.
- Lee, K.N. et al. 1998. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 248: 817-821.
- Li, M.H. et al. 1994. Dietary menhaden oil reduced resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 128: 335-344.
- Lin, X. et al. 2004. Trans10, cis12-18:2 is a more potent inhibitor of de novo fatty acid synthesis and desaturation than cis9, trans11-18:2 in the mammary gland of lactating mice. *J. Nutr.*, 134: 1362-1368.
- Madsen, L. et al. 1998. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids are differently metabolized in rat liver during mitochondria and peroxisome proliferation. *J. Lipid Res.*, 39: 583-593.
- Madsen, L. et al. 2002. Tetradecylthioacetic acid prevents high fat diet induced adiposity and insulin resistance. *J. Lipid Res.*, 43: 742-750.
- Maglich, J.M. et al. 2003. The first completed genome sequence from a teleost fish (*Fugu rubripes*) adds significant diversity to the nuclear receptor superfamily. *Nucleic Acids Res.*, 31: 4051-4058.
- Makol, A. et al. 2009. Effect of conjugated linoleic acid on dietary lipids utilization, liver morphology and selected immune parameters in sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 154: 179-187.
- Marathe, C. et al. 2006. The Arginase II gene is an anti-inflammatory target of LXR in macrophages. *J. Biol. Chem.*, 281: 32197-32206.
- Marks, D.B. et al. 1996. *Basic medical biochemistry*, Baltimore: Williams, Wilkins: 545-556.
- McGarry, J.D. e BROWN, N.F. 2000. Reconstitution of purified, active and malonyl CoA sensitive rat liver carnitine palmitoyltransferase I: relationship between membrane environment and malonyl-CoA sensitivity. *Biochem. J.*, 349: 179-187.
- McGarry, J.D. et al. 1983. Observations on the affinity for carnitine, and malonyl-CoA sensitivity, of carnitine palmitoyltransferase I in animal and human tissues. Demonstration of the presence of malonyl-CoA in non-hepatic tissues of the rat. *Biochem. J.*, 214: 21-28.
- Mitro, N. et al. 2007. The nuclear receptor LXR is a glucose sensor. *Nature*, 445: 219-223.
- Montero, D. et al. 2003. Vegetable lipids source for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): effects on fish health. *Aquaculture*, 225: 353-370.
- Morais, S. et al. 2004. Dietary triacylglycerol source and level affects performance and lipase expression in larval seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Lipids*, 39: 449-458.
- Morash, A.J. 2009. Effects of dietary fatty acid composition on the regulation of carnitine palmitoyltransferase (CPT) I in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 152: 85-93.

- Morash, A.J. et al. 2008. Intertissue regulation of carnitine palmitoyltransferase I (CPTI): Mitochondrial membrane properties and gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biochim. Biophys. Acta.*, 1778: 1382-1389.
- Moreira, A.B. et al. 2001. Fatty acids profile and cholesterol contents of Three Brazilian *Brycon* freshwater fishes. *Journal Food Composition and Analysis*, 14: 565-574.
- Mourente, G. 2005. Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and h-oxidation of [1-14C]18:3n₃ (LNA) and [1-14C]20:5n₃ (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, 248: 173-186.
- Moya-Falcón, C. et al. 2004. Effects of 3-thia fatty acids on feed intake, growth, tissue fatty acid composition, betaoxidation and Na⁺,K⁺-ATPase activity in Atlantic salmon. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.*, 139: 657-668.
- Moya-Falcón, C. et al. 2006. Phospholipid molecular species, beta-oxidation, desaturation and elongation of fatty acids in Atlantic salmon hepatocytes: effects of temperature and 3-thia fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Biochem. Mol. Biol.*, 145: 68-80.
- Murray, R.K. et al. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26^a ed., 2003, 703p.
- Murthy, M.S. e PANDE, S.V. 1987. Malonyl-CoA binding site and the overt carnitine palmitoyltransferase activity reside on the opposite sides of the outer mitochondrial membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 84: 378-382.
- Olsen, R.E. et al. 1990. The conversion of linoleic acid and linoleic acid to longer chain polyunsaturated fatty acids by Tilapia (*Oreochromis nilotica*) in vivo. *Fish Physiol. Biochem.*, 8: 261-270.
- Olsen, R.E. et al. 1999. Lipid digestibility and ultrastructural changes in the enterocytes of Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) fed linseed oil and soybean lecithin. *Fish Physiol. Biochem.*, 21: 35-44.
- Ou, J. et al. 2001. Unsaturated fatty acids inhibit transcription of the sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) gene by antagonizing liganddependent activation of the LXR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 6027-6032.
- Padley, F.B. et al. 1994. Occurrence and characteristics of oils and fats. In: Gunstone, F.D., Harwood, J.L., Padley, F.B. (Eds.), *The Lipid Handbook*. Chapman Hall, London, 47-223.
- Panserat, S. et al. 2009. Differential gene expression after total replacement of dietary fish meal and fish oil by plant products in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Aquaculture*, 294: 123-131.
- Pariza, M.W. et al. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 40: 283-298.
- Park, Y. e Pariza, M.W. 2007. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Res. Int.* 40: 311-323.

- Peet, D.J. et al. 1998. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR α . *Cell*, 93: 693-704.
- Plat, J. e Mensink, R.P. 2005. Food components and immune function. *Curr. Opin. Lipidol.*, 16: 31-37.
- Pompéia, C. et al. 2000. Effect of fatty acids on leukocyte function. *Braz. Jour. Med. Biol.Res.*, 33: 1-14.
- Power, G.W. et al. 1994. The effect of dietary lipid manipulation on hepatic mitochondrial phospholipid fatty acid composition and carnitine palmitoyltransferase I activity. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 34: 671-684.
- Price, P.T. et al. 2000. Omega-3 polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Curr. Opin. Lipidol.*, 11: 3-7.
- Ramírez-Santana, C. et al. 2009. Long-term feeding of cis-9, trans-11 isomer of conjugated linoleic acid reinforces the specific immune response in rats. *J. Nutr.*, 139: 76-81.
- Repa, J.J. et al. 2000. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science*, 289: 1524-1529, 2000.
- Rocha, M.C. et al. 2008. Efeito dos ácidos graxos sobre a expressão gênica de TNF- α em Macrófagos. 16º Simpósio Internacional de Iniciação Científica. Piracicaba-SP.
- Rowley, A.F. et al. 1995. Eicosanoids and their role in immune modulation in fish—a brief overview. *Fish Shellfish Immunol.*, 5: 549-567.
- Ruyter, B. et al. 1997. Peroxisome proliferator activated receptors in Atlantic salmon (*Salmo salar*): effects on PPAR transcription and acyl-CoA oxidase activity in hepatocytes by peroxisome proliferators and fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta*, 1348: 331-338.
- Santos, L.D. et al. 2007. Ácido linoléico conjugado (CLA) em dietas para tilápia-do-nilo: desempenho produtivo, composição química e perfil de ácidos graxos. *R. Bras. Zootec.*, 36 (5): 1481-1488 (supl.)
- Santos, L.D. et al. 2009. Ácido linoléico conjugado em dietas para pacu: tempo de deposição, desempenho e perfil de ácidos graxos. *R. Bras. Zootec.*, 38(6): 980-988.
- Sargent, J.G.M. et al. 1999. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture, Amsterdam*, 177: 191-199.
- Sargent, J.R. et al. 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *J. Appl. Ichthyol.*, 11: 183-198.
- Sargent, J.R. et al. The lipids. 2002. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, vol. III. Academic Press, New York,: 181-257.
- Seiliez, S. et al. 2003. Cloning and nutritional regulation of a D6-desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Comp. Biochem. Physiol., Part B*, 135: 449-460.
- Skrede, S. et al. 1997. Thia fatty acids, metabolism and metabolic effects. *Biochim. Biophys. Acta*, 1344: 115-131.
- Skrede, S. e Bremer, J. 1993. Acylcarnitine formation and fatty acid oxidation in hepatocytes from rats treated with tetradecylthioacetic acid (a 3-thia fatty acid). *Biochim. Biophys. Acta L, Lipids Lipid Metab.*, 1167: 189-196.
- Skuladottir, I.H. et al. 2007. *Lipids.*, 42(8): 699-706.

- Spiegelman, B.M. e Flier, J.S. 1996. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell*, 87: 377-389.
- Suganami, T. et al. 2007. *Arterioscler Tromb Vasc Biol.*, 27: 84-91.
- Suzuki, T. et al. 2000a. Experimental induction of jaw, gill and pectoral fin malformations in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, larvae. *Aquaculture*, 185: 175-187, 2000a.
- Suzuki, T. et al. 2000b. Identification of cDNAs encoding two subtypes of vitamin D receptor in flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 270: 40-45.
- Tacon, A.G.J. e Metian, M. 2008. Global overview of the fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trend and future prospects. *Aquaculture*, 285: 146-158.
- Taggart, J.B. et al. 2008. A description of the origins, design and performance of the TRAIT/SGP Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) cDNA microarray. *J. Fish Biol.*, 72: 2071-2094.
- Takahashi, Y. et al. 2003. Activity and mRNA levels of enzymes involved in hepatic fatty acid synthesis and oxidation in mice fed conjugated linoleic acid. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1631: 265-273.
- Thompson, P.D. et al. 2001. Distinct retinoid receptor activation function-2 residues mediate transactivation in homodimeric and vitamin D receptor heterodimeric contexts. *J. Mol. Endocrinol.*, 27: 211-227.
- Tocher, D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.*, 11: 107-184.
- Tocher, D.R. et al. 2003. Effects of vegetable oil diets on Atlantic salmon hepatocyte desaturase activities and liver fatty acid compositions. *Lipids*, 38: 723-732.
- Tocher, D.R. et al. 2008. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. *Aquaculture*, 280: 21-34.
- Trebble, T. et al. 2003. Inhibition of tumour necrosis factor-alpha and interleukin 6 production by mononuclear cells following dietary fish-oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation. *Br. J. Nutr.*, 90: 405-412.
- Twibell, R.G. et al. 2000. Effects of dietary conjugated linoleic acids on hepatic and muscle lipids in hybrid striped bass. *Lipids*, 35: 155-161.
- Twibell, R.G. et al. 2001. Dietary conjugated linoleic acids and lipid source alter fatty acid composition of juvenile yellow perch, *Perca flavescens*. *Journal of Nutrition*, 131: 2322-2328.
- Valente, L.M.P. et al. 2007a. Conjugated linoleic acid in diets for large size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, chemical composition and sensory attributes. *British Journal of Nutrition*, 97: 289-297.
- Valente, L.M.P. et al. 2007b. Influence of conjugated linoleic acid on growth, lipid composition and hepatic lipogenesis in juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 267: 225-235.
- Vaya, J. e Schipper, H.M. 2007. Oxysterols, cholesterol homeostasis, and Alzheimer disease. *J. Neurochem.*, 102: 1727-1737.

- Vegusdal, A. et al. 2005. Effect of 18:1n-9, 20:5n-3, and 22:6n-3 on lipid accumulation and secretion by Atlantic salmon hepatocytes. *Lipids*, 40: 477-486.
- Vilhelmsson, O.T. et al. 2004. Dietary plant protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout. *Br. J. Nutr.*, 92: 71-80.
- Villeneuve, L. 2005. Influence nutritionnelle de la vitamine A et de la nature des lipides sur la morphogenèse de la larve de bar (*Dicentrarchus labrax*): implication de la voie des rétinoïdes. PhD thesis, February 9th 2005, University of Rennes 1, France, 243 pp.
- Villeneuve, L. et al. 2005a. Dietary levels of all-trans retinol affect retinoid nuclear receptor expression and skeletal development in European sea bass larvae. *Br. J. Nutr.*, 93: 1-12.
- Villeneuve, L. et al. 2005b. Effect of nature of dietary lipids on European sea bass morphogenesis: implication of retinoid receptors. *Br. J. Nutr.*, 94: 877-884.
- Waagbo, R. 2006. Feeding and disease resistance in fish. In: Mosenthin, J., Zentec, J., Zebrowska (Eds.), *Biology of Growing Animal*. Elsevier Limited, 387-415.
- Ward, O.P. 1995. Microbial production of long-chain PUFAs. *Biotechnology Inform*, 6(6): 683-687.
- Wigmore, S.J. et al. 2000. Effect of oral eicosapentaenoic acid on weight loss in patients with pancreatic cancer. *Nutr. Cancer*, 36: 177-184.
- Yasmin, A. et al. 2004. Effect of conjugated linoleic and docosahexaenoic acids on growth of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish. Sci.*, 70: 473-481.
- Zambonino Infante, J.L. 1997. Partial substitution of native fish meal protein by di- and tripeptides in diet improves sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae development. *J. Nutr.*, 127: 608-614.
- Zhang, H. et al. 2005. Effects of conjugated linoleic acids on growth performance, serum lysozyme activity, lymphocyte proliferation, and antibody production in broiler chicks. *Arch. Anim. Nutr.*, 59: 293-301.
- Zhao, Y. et al. 2004. Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF-alpha expression by preventing NK-kappaB activation. *J. Am. Coll. Nutr.*, 23: 71-78.
- Zheng, X. et al. 2004. Effects of diets containing vegetable oil on expression genes involved in highly unsaturated fatty acid biosynthesis in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 236: 467-483.

REDVET: 2013, Vol. 14 Nº 3

Recibido 11.08.2012 / Ref. prov. MAR1202_RED VET / Aceptado 20.01.2013

Ref. def. 031306_RED VET / Publicado: 01.03.2013

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030313.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030313/031306.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.

Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET®-
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>