



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Gliceroneogênese e atividade da fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK) no hepatopâncreas do caranguejo <i>Neohelice granulata</i> submetido a diferentes dietas e ao jejum
<b>Autor</b>	Jordana Tres dos Santos
<b>Orientador</b>	MARCIA TRAPP

### **Introdução/ Objetivos:**

A gliceroneogênese é a formação de glicerol a partir de precursores, tais como lactato, aminoácidos ou piruvato, sendo considerada uma via abreviada da gliconeogênese. A PEPCK é uma enzima essencial para a via gliceroneogênica. Em *Neohelice granulata*, foi demonstrado que a composição da dieta administrada previamente aos animais altera a resposta metabólica ao jejum em diferentes tecidos estudados. Além disso, foi demonstrada a via gliconeogênica e a presença de PEPCK no hepatopâncreas de *N. granulata*. O objetivo deste trabalho foi analisar a influência das dietas rica em proteína ou em carboidrato e do jejum de cinco semanas sobre a formação de glicerol e a atividade da PEPCK, no hepatopâncreas de *N. granulata*, no inverno e verão.

### **Métodos:**

Caranguejos machos da espécie *N. granulata* no estágio de intermuda (50 animais) foram coletados na Lagoa de Tramandaí, RS. No laboratório, os animais foram mantidos em aquários a 20 ‰, 25°C e ciclo claro/escuro natural. Os animais foram alimentados *ad libitum*, por 15 dias, um grupo com dieta rica em carboidrato (RC) e outro com dieta rica em proteína (RP). Após este período, animais RC e RP foram colocados em gaiolas individuais e submetidos ao jejum por 5 semanas (grupos RCJ e RPJ, respectivamente). Os animais foram crioadestesiados por 10 minutos. Amostras (200 a 300mg de hepatopâncreas) foram pesadas, colocadas em tubos de 2ml com 500µl de solução fisiológica de caranguejo (SFC) [374mM de NaCl; 10 mM de KCl; 8,8mM de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 10mM MgCl<sub>2</sub>; 10mM de HEPES; 0,1mM de fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) e 25mM de Cl<sub>2</sub>Ca (2H<sub>2</sub>O)], 1 mM (0,2µCi) de ácido pirúvico [2-C<sup>14</sup>] (Amersham, 6,5mCi/mmol), mais 5 mM de piruvato e aeradas com carbogênio. A incubação foi realizada por 1 hora a 25°C com agitação constante em banho metabólico tipo *Dubnoff*. Após, as amostras foram separadas do meio de incubação, lavadas com SFC para retirada do excesso de radioatividade, secas em papel de filtro e os lipídios totais extraídos segundo o método de Folch (J. Biol. Chem. 226: 497-509. 1957). A formação de <sup>14</sup>C-glicerol foi realizada segundo método previamente descrito por Botion e cols., 1995 (Horm. Met. Res. 27, 310-313, 1995). A radioatividade foi quantificada em contador beta e expressa como mmol de <sup>14</sup>C-piruvato incorporado em glicerol. g<sup>-1</sup>de tecido. h<sup>-1</sup> de incubação. A atividade da PEPCK foi avaliada pelo método descrito por Oliveira e da Silva, 1997 (Comp. Biochem. Physiol. A 118, 1429-1435, 1997) e resultado expresso como µmol H<sup>14</sup>CO<sub>3</sub><sup>-</sup> incorporado em oxaloacetato mg<sup>-1</sup>protein min<sup>-1</sup>. Para a análise estatística foi utilizado teste de Levene, ANOVA de duas vias e Bonferroni (p<0.05). Para análise da atividade da PEPCK, os dados foram convertidos para raiz <sup>2</sup>. Os resultados estão expressos como média ± EPM.

**Resultados e Discussão:** A concentração de <sup>14</sup>C-glicerol foi maior (P<0.05) no verão (RP=26±3,4; RPJ= 37±6,5; RC=20±2,7; RCJ = 19±2,6) que no inverno (RP=0,6±0,2; RPJ= 0,6±0,1; RC=1,1±0,3; RCJ = 1,4±0,4) nas dietas e no jejum. No verão, o jejum de 5 semanas aumentou (P<0,05) a formação de <sup>14</sup>C-glicerol nos caranguejos previamente alimentados com a dieta RP. Da mesma forma, a atividade da PEPCK foi maior (p<0.05) no verão (RP=16±1,2; RPJ= 20±2,4; RC=20±1,7; RCJ = 5,5±0,8) em relação ao inverno (RP=9±0,7; RPJ= 6,6±1; RC=11±1,9; RCJ = 12±1).

**Conclusão:** A capacidade gliceroneogênica no hepatopâncreas do caranguejo *N. granulata* diminui marcadamente no inverno. A dieta não alterou a via gliceroneogênica, contudo, no verão, o jejum de 5 semanas estimulou a capacidade de síntese de glicerol a partir de <sup>14</sup>C-piruvato.

**Apoio:** PROPESQ e CNPq.