

EXPRESSÃO GÊNICA DO SGLT1 NO JEJUNO DE LEITÕES DESMAMADOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO PALATABILIZANTES

VINICIUS R.C. PAULA¹, MARCOS L.P. TSE¹, ANA S.A.M.T. MOURA¹, PATRÍCIA V.A. ALVARENGA¹,
SILVIA L. FERREIRA¹, MAYRA A.D. SALEH¹, YASMIM S. VIANA¹, FILIPE G. TELLES¹, LUIZ L.
COUTINHO², DIRLEI A. BERTO¹

¹ Departamento de Produção Animal, FMVZ - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil. ²
Departamento de Zootecnia, ESALQ - Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil.
Contato: vinciusrcp@gmail.com

Resumo: Foram utilizados 32 leitões mestiços de linhagem comercial, com 26 dias de idade e peso vivo de 7,27±0,7kg alojados em baias em um delineamento de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e oito repetições com o objetivo de avaliar a substituição do açúcar por palatabilizantes na dieta de leitões recém-desmamados sobre a expressão de SGLT1 no jejuno dos animais no 14º dia de experimento. Os tratamentos foram: DB: Dieta basal sem palatabilizantes e açúcar; DA: Dieta basal com inclusão de 5% de açúcar; DS: Dieta basal com inclusão de 0,035% de sacarina sódica e DSN: Dieta basal com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. Não houve diferença ($P>0,05$) dos tratamentos na expressão do gene SGLT1 no jejuno. Assim, a inclusão de sacarina sódica, sacarina sódica associada ao neotame em substituição ao açúcar na dieta de leitões recém-desmamados não altera a expressão do SGLT1 no jejuno.

Palavras Chave: Açúcar; adoçante; expressão gênica; neotame; sacarina

GENE EXPRESSION OF SGLT1 IN JEJUNUM OF WEANED PIGLETS FED DIETS WITH SWEETENERS

Abstract: Thirty-two crossbred commercial-line piglets, 26-d old and 7.27±0.7kg of body weight were housed in stalls in a randomized block design with four treatments and eight replicates to evaluate the substitution of sugar by sweeteners in the diet of weaned piglets on the expression of SGLT1 in the jejunum at 14th day trial. The treatments were: DB: Basal diet; DA: Basal diet with 5% of sugar inclusion; DS: Basal diet with 0.035% of sodium saccharin inclusion, and DSN: Basal diet with 0.035% sodium saccharin and neotame sweetener based inclusion. There was no difference ($P>0.05$) between treatments on SGLT1 gene expression in the jejunum. Thus, the inclusion of sodium saccharin and sodium saccharin associated with neotame in substitution of sugar in the diet of weaned piglets do not alter the SGLT1 jejunum expression.

Keywords: Gene expression; neotame; saccharin; sugar, sweeteners

Introdução: Os suínos absorvem carboidratos no intestino apenas na forma de monossacarídeos, como a glicose. A passagem das moléculas de glicose para dentro dos enterócitos é feita a partir do co-transportador de glicose 1, sódio dependente (SGLT1) (WRIGHT et al., 2007). O SGLT1 é a principal proteína transportadora de carboidratos dietéticos do lúmen intestinal de suínos para o interior dos enterócitos e sua regulação é essencial para prover glicose ao organismo, trazendo implicações nutricionais e clínicas (SHIRAZI-BEECHEY et al., 2011). A regulação da expressão do SGLT1 pode sofrer modulação pelos carboidratos presentes no lúmen intestinal, como o açúcar, e estudos mostram que alguns palatabilizantes, como a sacarina sódica e neoesperidina, também podem modular tal expressão (MORAN et al., 2010). Assim, esse estudo objetivou avaliar a inclusão de diferentes palatabilizantes em substituição ao açúcar nas dietas de leitões desmamados sobre a expressão do gene SGLT1.

Material e Métodos: Foram utilizados 32 leitões mestiços, com 26 dias de idade e peso vivo de 7,27±0,7kg. Os animais foram alojados em baias de creche em um delineamento de blocos ao acaso, com quatro tratamentos e oito repetições. Os tratamentos avaliados foram: DB: Dieta basal sem palatabilizantes e açúcar; DA: Dieta basal com inclusão de 5% de açúcar; DS: Dieta basal com inclusão de 0,035% de sacarina sódica e DSN: Dieta basal com inclusão de 0,035% de palatabilizante a base de sacarina sódica e neotame. As dietas foram formuladas de acordo com Rostagno et al. (2011), e foram fornecidas à vontade. No 14º dia experimental, os animais foram eutanasiados por exsanguinação após eletronarcole. Coletaram-se amostras de aproximadamente 5mm da porção média do jejuno em criotubos contendo RNA later. Posteriormente, as amostras foram submetidas a extração do RNA total com TRIzol®, tratamento com DNase e síntese de cDNA. Amplificou-se o gene SGLT1 e o gene referência (ACTB) pela técnica de RT-qPCR utilizando-se os primers desenhados por Moran et al. (2010) (Tabela 1). Por fim, foram feitas análises de quantificação dos genes por RT-qPCR utilizando-se o LightCycler® 480 System II (Roche). Os resultados foram analisados utilizando os valores de CT das amostras, com a correção da eficiência dos primers. A quantidade relativa de expressão de mRNA do SGLT1 normalizada para a ACTB, foi obtida pelo software Rest-MCS®, versão 2 (2006). As diferenças da expressão de cada tratamento em relação ao controle (DB) foram comparadas por teste de randomização ao nível de 5% de significância (PFAFFL et al., 2002).

Resultado e Discussão: Não houve diferença ($P>0,05$) dos tratamentos na expressão do gene SGLT1 (Figura 1). O açúcar e outros compostos doces ativam células que possuem receptores de sabores doce no epitélio da língua e do intestino delgado (DYER et al., 2005). Tais receptores das células epiteliais intestinais retransmitem informações sobre flutuações na concentração de açúcar no lúmen, levando a alterações na expressão do SGLT1 (MORAN et al., 2010; SHIRAZI-BEECHEY et al., 2011). Avaliando a inclusão de sacarina sódica e neoesperidina na dieta de leitões, Moran et al. (2010) constataram que os animais que consumiram tais palatabilizantes, apresentaram maior expressão de SGLT1 do que os animais que não consumiram algum

palatável, implicando que palatáveis, assim como açúcar, são eficazes em aumentar a capacidade do intestino em absorver carboidratos da dieta. Entretanto, nesse estudo a expressão de SGLT1 no jejuno de leitões alimentados com a combinação de sacarina sódica e o palatável mais potente já descoberto, o neotame, que é cerca de 7.000 a 13.000 vezes mais doce que o açúcar (AGUILAR, 2007) foi similar as demais dietas. Isso pode ter ocorrido devido as dietas experimentais terem sido complexas no presente estudo, com ingredientes de alta digestibilidade e palatabilidade, o que pode ter contribuído para ausência de diferenças dos tratamentos.

Tabela 1. Identificação dos primers beta actina (ACTB) e co-transportador de glicose 1, sódio dependente (SGLT1) do gene referência e gene alvo utilizados na RT-qPCR¹

Gene	Número de Acesso (NCBI)	Primers	Sequência (5' → 3')
ACTB ²	DQ452569	Direto	CGAGGCCAGAGCAAGAG
		Reverso	TCCATGTCGTCAGTTGGT
SGLT1 ²	M34044	Direto	AAAGGAGAGGTCTGGGATGGTAA
		Reverso	ATTTCCTAGTGGCCTGAGATTG

¹ Teste de eficiência de amplificação. ² Primers desenhados por Moran et al. (2010).

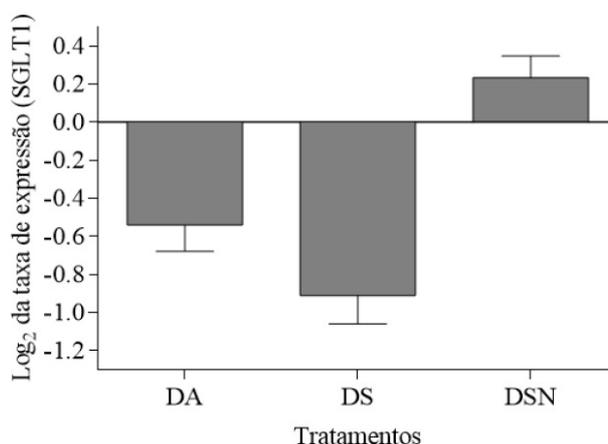


Figura 1. Expressão relativa de mRNA do gene co-transportador 1 de glicose sódio dependente (SGLT1) no jejuno de leitões aos 40 dias de idade em resposta as dietas com adição de açúcar (DA), de sacarina sódica (DS) ou de palatável a base de sacarina sódica e neotame (DSN), comparadas com a dieta basal sem palatável (P>0.05).

Conclusão: A inclusão de sacarina sódica, sacarina sódica associada ao neotame em substituição ao açúcar na dieta de leitões recém-desmamados não altera a expressão do SGLT1 no jejuno.

Referências Bibliográficas: AGUILAR, F. Neotame as a sweetener and flavour enhancer. The European Food Safety Authority Journal. v.581, p.1-43, 2007. DYER, J.; SALMON, K.S.; ZIBRIK, L. et al. Expression of sweet taste receptors of the T1R family in the intestinal tract and enteroendocrine cells. Biochemical Society Transactions. v.33, p.302-305, 2005. MORAN, A. W.; AL-RAMMAHI, M. A.; ARORA, D. K. et al. Expression of Na⁺/glucose co-transporter 1 (SGLT1) is enhanced by supplementation of the diet of weaning piglets with artificial sweeteners. British Journal of Nutrition. v.104, p.637-646, 2010. PFAFFL, M. W.; HORGAN, G. W. e DEMPFLER, L. Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Research. v.30, p.1-10, 2002. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos – Composição de alimentos e exigências nutricionais. Imprensa Viçosa/UFV, Viçosa, 2011. 252p. SHIRAZI-BEECHÉY, S. P.; MORAN, A. W.; BRAVO, D. et al. Intestinal glucose sensing and regulation of glucose absorption: Implications for swine nutrition. Journal of Animal Science. v.89, p.1854-1862, 2011. WRIGHT, E. M.; HIRAYAMA, B. A.; LOO, D. F. Active sugar transport in health and disease. Journal of Internal Medicine. v.261, p.32-43, 2007.