

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

***ESTEATOSE HEPÁTICA EM RATOS: EFEITOS DE DIETA
COM DIFERENTES NÍVEIS DE SUBSTITUIÇÃO LIPÍDICA
POR DIEPTANOÍNA E TRIEPTANOÍNA***

MARIA ADRIANA FIRMINO DA SILVA

MACEIÓ-2007

MARIA ADRIANA FIRMINO DA SILVA

***ESTEATOSE HEPÁTICA EM RATOS: EFEITOS DE DIETA
COM DIFERENTES NÍVEIS DE SUBSTITUIÇÃO LIPÍDICA
POR DIEPTANOÍNA E TRIEPTANOÍNA***

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientadora: **Prof.^a Dra. Terezinha da Rocha Ataíde**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientadora: **Prof.^a Dra. Suzana de Lima Oliveira**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-2007

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Michele dos Santos Silva Rodrigues

- S586e Silva, Maria Adriana Firmino da
Esteatose hepática em ratos: efeitos de dieta com diferentes níveis de substituição lipídica por dieptanoína e trieptanoína / Maria Adriana Firmino da Silva.
– Maceió, 2007.
77 f.
- Orientadora: Terezinha da Rocha Ataíde.
Co-Orientadora: Suzana de Lima Oliveira.
Dissertação (mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.
Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió, 2007.
- Inclui bibliografia.
1. Fígado – Doenças. 2. Insulina. 3. Dietoterapia. I. Título.

CDU: 613.2.035



MESTRADO EM NUTRIÇÃO
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas



Campus A. C. Simões
BR 104 Km 14 Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/ fax: 81 3214-1160


PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO

**"Esteatose hepática em ratos: efeitos de dieta com diferentes
níveis de substituição lipídica por dieptanoína e trieptanoína"**

por

Maria Adriana Firmino da Silva

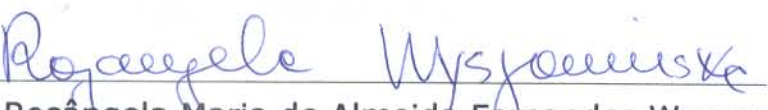
A Banca Examinadora, reunida aos 20 dias do mês de dezembro do
ano de 2007, considera a candidata **APROVADA**.



Profa. Dra. Terezinha da Rocha Ataíde
Faculdade de Nutrição/ UFAL



Profa. Dra. Celina Maria Costa Lacet
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas



Profa. Dr. Rosângela Maria de Almeida Fernandes Wyszomirska
Faculdade de Medicina/ UFAL
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas

Dedicado a Deus pelo dom da vida, aos meus pais Irene e Cícero por tudo que me ensinam; à minha irmãzinha futura pediatra Amanda, ao meu irmão Robson e ao meu esposo Everton Barreto.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof.^a Dra. Terezinha Ataíde, pelo apoio e incentivo, amizade, orientação e principalmente pela motivação pela pesquisa científica.

Aos meus “eternos mestres” Prof.^a Lucí Tojal e Seara, quem primeiro me deu oportunidade de iniciar a pesquisa científica; ao Prof. José de Souza Leão, por todos os ensinamentos e motivação profissional; à Prof.^a Suzana de Lima Oliveira, também pela co-orientação, à Prof.^a Maria de Lourdes Assis, pessoas que fizeram à diferença na minha formação acadêmica e profissional.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant’Anna pelo apoio com o Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia/UFAL

Ao Prof. Dr. Cyro Rego Cabral Jr. pelas análises estatísticas e por sua grande contribuição com as pesquisas do nosso grupo.

À Fernanda Galdino e Mércia Cruz pelo apoio no desenvolvimento das análises e companheirismo e ajuda na coleta de dados.

À Prof.^a Lúcia Rebouças do Instituto de Química e Biotecnologia/UFAL, e aos estagiários do seu Laboratório, Adilson e Fred por sempre estarem prontos para ajudar.

Às minhas companheiras de trabalho, em especial Taciana Guedes, amiga que sempre esteve ao meu lado, Monique David e Fabiana Moura pelo apoio, amizade e carinho.

Aos meus mestrandoamigos, em especial ao Francisco Freire (in memoriam) que me fez refletir que às vezes não percebemos ou demonstramos o quanto especial são nossos amigos.

A todos que sempre serviram como motivação e contribuíram para a realização deste trabalho

***“Entrega teu caminho ao Senhor,
Confia n’Ele, e o mais,
Ele fará”
SI 37-5***

RESUMO

A esteatose hepática é caracterizada pelo acúmulo de triacilgliceróis no citoplasma dos hepatócitos a um nível que atinge 5 a 40% do peso do fígado. Sua prevalência tem aumentado em todo o mundo devido a forte relação com o *diabetes mellitus* tipo 2 e a obesidade, doenças que se constituem epidemias globais. Apesar de ter sido considerada por muito tempo como uma entidade benigna, sabe-se que a combinação sinérgica com outros fatores, como o estresse oxidativo, pode desencadear reações inflamatórias em cascata, levando à fibrogênese, cirrose e ao carcinoma hepatocelular. Sua etiologia, apesar de não estar totalmente elucidada, mostra forte correlação com a resistência à insulina, sendo, atualmente, considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica. Entretanto, pode ser desencadeada por outros fatores, como nutrição parenteral total prolongada, cirurgia bariátrica, desnutrição calórico-protéica e o uso de drogas. Embora a prevalência verdadeira seja desconhecida, atinge adultos e crianças e está emergindo como a condição crônica do fígado mais comum no mundo ocidental. Apesar de ainda não existir tratamento farmacológico eficaz, todos os pacientes são encorajados a reduzir a ingestão de gorduras e praticar exercícios físicos regulares, com o objetivo de aumentar o gasto energético diário. Estratégias de intervenção nutricional e controle dos fatores de risco metabólico associados devem ser avaliadas. Visando contribuir com a discussão do problema, esta dissertação apresenta dois artigos: uma revisão da literatura com as principais estratégias da terapêutica dietética no tratamento da esteatose, tratando de oferta energética e aporte de macro e micronutrientes que exercem efeitos na prevenção, tratamento e/ou retardo da progressão da doença; o

segundo artigo refere-se a um estudo experimental com ratos *Wistar* recém desmamados, que receberam dieta com substituição do óleo de soja por um óleo experimental rico em trieptanoína, um triacilglicerol do ácido heptanóico (7:0), que vem sendo utilizado em desordens do metabolismo oxidativo mitocondrial. Os animais que receberam dietas AIN-93 com 0, 30 e 50% de substituição do óleo de soja pelo óleo experimental desenvolveram esteatose hepática. A análise histológica revelou metade do número de casos graves de esteatose hepática nos animais com 50% de substituição em relação àqueles submetidos a 0% de substituição. Outras variáveis evidenciaram potencial efeito protetor do óleo experimental contra a esteatose, como peso absoluto e relativo do fígado. Tal efeito, associado às evidências clínicas de sucesso do uso da trieptanoína em algumas desordens mitocondriais, desperta o interesse em investigações futuras de sua aplicação terapêutica em outras desordens.

Palavras-chave: Esteatose hepática; dieptanoína; trieptanoína; resistência à insulina, TCM.

ABSTRACT

Hepatic steatosis is characterised by accumulation of triacylglycerols in the cytoplasm of hepatocytes at a level that reaches 5 to 40% of the weight of the liver. Its prevalence has increased worldwide, having a strong relationship with *diabetes mellitus type 2* and obesity, diseases that constitute a global epidemic. Despite having been considered for a considerable time as a benign entity, it is known that a synergic combination with other factors, such as oxidative stress, can trigger a cascade of inflammatory reactions, leading to fibrogenesis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Its etiology, despite not being totally elucidated, shows a strong correlation with insulin resistance, and is actually considered a hepatic manifestation of metabolic syndrome. However, it can be triggered by other factors; such as prolonged total parenteral nutrition, bariatric surgery, protein-calory malnutrition and the use of drugs. The actual prevalence is unknown but it affects adults and children, and is emerging as the most common chronic condition of the liver in the western world. Though an effective pharmacological treatment does not exist, all patients are encouraged to reduce their ingestion of fat and to practise regular physical exercise, with the objective of increasing their daily energy expenditure. Strategies of nutritional intervention and control of associated metabolic risk factors need to be evaluated. Aiming at contributing to the discussion of the problem, this dissertation presents two articles: a literature review of the main strategies of dietetic therapy in the treatment of steatosis, dealing with energy intake and the intake of macro- and micronutrients that exert effects on the prevention, treatment and/or retard the progression of the disease; the second article refers to an experimental study of weaned Wistar rats that received a diet with substitution of soy oil with an experimental oil rich in

triheptanoin, a triacylglycerol of heptanoic acid (7:0), that was being used in disorders of mitochondrial oxidative metabolism. The animals that received AIN-93 diets with 0, 30 and 50% of substitution of soy oil with experimental oil developed hepatic steatosis. The histological analysis revealed half the number of severe cases of hepatic steatosis in the animals with 50% substitution in relation to those with 0% substitution. Other variables demonstrated a potential protector effect of the experimental oil against hepatic steatosis as absolute and relative liver weight. Such an effect, associated with the clinical evidence of the success of triheptanoin with several mitochondrial disorders, awakes interest in the future of its application for other disorders.

Key words: hepatic steatosis, diheptanoin, triheptanoin, insulin resistance, MCT.

LISTA DE FIGURAS

Página

1º artigo: artigo de revisão

Esteatose hepática: avanços no tratamento nutricional

- Figura 1 Mecanismo básico para o acúmulo hepático de triacilgliceróis na resistência à insulina..... 26

2º artigo: artigo de resultados

Efeito hepatoprotetor do consumo crônico de dieptanoína e trieptanoína contra a esteatose em ratos

- Figura 1 Cortes histológicos do tecido hepático corados pelo método HE. Esteatose grau 0 - ausência (**A**), grau 1 - leve (**B**), grau 2 – levemente moderado (**C**), grau 3 - moderado (**D**), grau 4 - grave (**E**), e grau 5 – grave com presença de pseudocistos (seta) (**F**), observada nos animais dos grupos Controle, TAGC₇₀, TAGC₇₃₀, e TAGC₇₅₀..... 54
- Figura 2 Análises de regressão linear simples e coeficientes de determinação (R^2) para as variáveis graus de esteatose hepática (GEH) (**A**); peso final (peso) (**B**); peso absoluto do fígado (PAF) (**C**); lipídios hepáticos (LH) (**D**); peso relativo do fígado (PRF) (**E**); e glicemia (**F**)..... 59

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1	Composição das dietas TAGC ₇ 0, TAGC ₇ 30 e TAGC ₇ 50 baseadas nas dietas AIN-93 G (G) para o crescimento e AIN-93 M (M) para a idade adulta dos animais.....	52
Tabela 2	Graus de esteatose hepática (GEH), peso corporal final (PCF), percentual de lipídios hepáticos (%LH), peso absoluto (PAF) e relativo (PRF) do fígado dos animais dos grupos Controle, TAGC ₇ 0, TAGC ₇ 30 eTAGC ₇ 50	56
Tabela 3	Análises das variáveis bioquímicas dos animais dos grupos Controle, TAGC ₇ 0, TAGC ₇ 30 eTAGC ₇ 50.....	57
Tabela 4	Médias estimadas para os grupos TAGC ₇ 0, TAGC ₇ 30, TAGC ₇ 50 pela equação de regressão linear univariada para grau de esteatose hepática (GEH), peso corporal, peso absoluto (PAF) e relativo (PRF) do fígado, percentual de lipídios hepáticos (LH) e glicemia.....	60

Lista de abreviaturas

AG - Ácidos graxos

AGCL – Ácido(s) graxo(s) de cadeia longa

AGCM – Ácido(s) graxo(s) de cadeia média

AGL - Ácidos graxos livres

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

CTP – Carnitina palmitoil transferase

DFGNA – Doença do fígado gorduroso não alcoólica

EHNA – Esteato-hepatite não alcoólica

EROS – Espécies reativas de oxigênio

GGT – Gama glutamiltransferase

GHE – Graus de esteatose hepática

HDL-c – *High density lipoprotein Cholesterol*

HOMA – Homeostasis model assement

IG – Índice glicêmico

IL6 – Interleucina 6

IL8 - Interleucina 8

IMC – Índice de massa corporal

LDL-c – *Low density lipoprotein Cholesterol*

LH – Lipídios hepáticos

MDA - Malondialdeído

PAF – Peso absoluto do fígado

PCF – Peso corporal final

PRF – Peso absoluto do fígado

SM – Síndrome metabólica

TAG - Triacilgliceróis

TAGC₇₀ – Animais que receberam dieta com 0% de óleo experimental

TAGC₇₃₀ - Animais que receberam dieta com 30% de óleo experimental

TAGC₇₅₀ - Animais que receberam dieta com 50% de óleo experimental

TCL – Triacilgliceróis de cadeia longa

TCM - Triacilgliceróis de cadeia média

TNF α – Fator de necrose tumoral alfa

VLDL – *Very low density lipoprotein Cholesterol*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 COLETÂNEA DE ARTIGOS.....	19
1º artigo: artigo de revisão	
Esteatose hepática: avanços no tratamento nutricional.....	20
2º artigo: artigo de resultados	
Efeito hepatoprotetor do consumo crônico de dieptanoína e trieptanoína contra a esteatose em ratos.....	43
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76