

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA SUBCRÔNICA DE DIETA**  
**CETOGENICA À BASE DE TRIENANTINA EM RATOS**  
**JOVENS**

**ANA LUIZA DE MELO LUCENA**

**MACEIÓ-AL**  
**2007**

**ANA LUIZA DE MELO LUCENA**

**AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA SUBCRÔNICA DE DIETA  
CETOGENICA À BASE DE TRIENANTINA EM RATOS  
JOVENS**

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

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Suzana Lima de Oliveira**

**Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Adriana Ximenes**

**MACEIÓ-AL  
2007**

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale**

- L935a Lucena, Ana Luiza de Melo.  
Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens / Ana Luiza de Melo Lucena. – Maceió, 2007.  
74 f : il. tabs., graf.
- Orientadora: Suzana Lima de Oliveira.  
Co-Orientadora: Adriana Ximenes.  
Dissertação (mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.  
Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió, 2007.
- Inclui bibliografia.
1. Dieta cetogênica. 2. Triacilglicerol de cadeia média. 3. Trienantina – Toxicologia. I. Título.

CDU: 612.39



## 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

**"Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base  
de trienantina em ratos jovens"**

por

**Ana Luiza de Melo Lucena**

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

Prof. Dra. Suzana de Oliveira Lima  
Faculdade de Nutrição/ Universidade Federal de Alagoas- UFAL

Prof. Dr. Euclides Maurício Trindade Filho  
Departamento de Ciências Fisiológicas/ Universidade Estadual de Ciências  
da Saúde - UNCISAL

Prof. Dra. Ana Rosa de Almeida Alves  
Instituto de Ciências Biológicas da Saúde/ Universidade Federal de Alagoas-  
UFAL

*Dedicado ao meu esposo Sérgio Ramos e minha  
princesinha Ana Sofia.*

## Agradecimentos

A Deus.

Aos animais sem os quais não existiria esta e milhares de pesquisas em prol do conhecimento e busca de tratamentos mais eficientes e eficazes para a humanidade.

A prof.<sup>a</sup> Suzana de Oliveira Lima, pela excelente orientação, na qual pretendo espelhar-me para ser uma profissional e uma pessoa melhor.

A prof.<sup>a</sup> Adriana Ximenes pela co-orientação.

Ao Departamento e Coordenação da Faculdade de Nutrição pelo trabalho desempenhado a fim de proporcionar uma melhor comodidade e tranquilidade durante o decorrer do mestrado.

A FAPEAL pelo suporte financeiro.

A prof.<sup>a</sup> Terezinha Ataíde por todos os momentos de ensinamento, paciência e descontração durante esta breve e longa caminhada.

Ao prof. Cyro Rego Cabral Júnior e prof.<sup>a</sup> Maria do Carmo Lins Vasconcelos Balwani pela importante contribuição na elaboração desta pesquisa.

Às companheiras do Biotério Setorial da Faculdade de Nutrição: Marcela Rabello, Taísa Porto, Clara Rodrigues e Carindja Fernandes, pelo auxílio, apoio e companheirismo, sem os quais eu não alcançaria o final deste trabalho com tranquilidade e segurança.

As amigas Sybelle Araújo e Regina Coeli, pela amizade indispensável no meu desempenho nesta pesquisa.

Aos meus pais, Maria Aparecida e Jose Lucena, por tudo: amor, amizade, torcida, confiança e segurança.

A minha vida: Ana Sofia e Sérgio Ramos, pela paciência, carinho e amor.

Aos amigos que acompanharam esta caminhada sempre acreditando e torcendo por mim.

*"O conhecimento é como um jardim: se não for cultivado, não pode ser colhido."*

Provérbio africano.

## RESUMO GERAL

A dieta cetogênica clássica, rica em triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), é caracterizada por uma alta concentração de lipídeos e, ao mesmo tempo, por uma baixa concentração de carboidratos e proteínas para promover cetonemia/cetonúria, propriedade utilizada no tratamento de várias desordens que afetam o metabolismo e a função cerebral, a exemplo da epilepsia resistente ao uso de medicamentos. Os triacilgliceróis de cadeia média (TCM) são considerados um substrato alternativo aos TCL na elaboração desta dieta, por promoverem um aumento mais rápido nos níveis dos corpos cetônicos sanguíneos. A trienantina é um triacilglicerol de cadeia média do ácido graxo enântico (7:0), utilizada com sucesso em crianças portadoras de síndromes metabólicas herdadas, havendo poucos estudos sobre seus efeitos toxicológicos. A presente dissertação teve como objetivo avaliar a toxicidade do consumo subcrônico da dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens, sendo desenvolvida na forma de dois artigos. No primeiro, denominado *Substituição de TCL por TCM na terapia nutricional: uma ênfase no tratamento cetogênico*, apresenta-se uma revisão sobre a dieta cetogênica, confrontando-se dados sobre os efeitos dos TCL e dos TCM, em experimentos animais e ensaios clínicos. A mais rápida cetonemia promovida pelos TCM permite utilizar uma menor quantidade de lipídios e maior de proteínas e de carboidratos, aumentando a palatabilidade da dieta. O efeito da substituição de TCL por TCM sobre parâmetros fisiológicos, como o perfil lipídico sérico, é controverso, necessitando-se de pesquisas adicionais para entendimento da repercussão dessa classe de lipídios sobre a saúde humana. O segundo artigo, intitulado *Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens*, trata do estudo experimental realizado em ratos *Wistar*, em que foram estabelecidos 3 grupos ( $n=10$ ), denominados, segundo a dieta recebida, em Controle (dieta padrão AIN-93G), CetoTAGC<sub>7</sub> (cetogênico à base de trienantina; AIN-93G modificada para conter 4% de óleo de soja, 25,79% de trienantina e 40% de margarina) e CetoTAGsoja (cetogênico à base de soja; AIN-93G modificada para conter 29,79% de óleo de soja e 40% de margarina). A proporção lipídeos:carboidratos+proteína das dietas cetogênicas foi de 3,5:1 (dieta controle, 1:11,8) e o período experimental totalizou 6 semanas. Triacilgliceróis, colesterol total, HDLc, VLDLc e LDLc, além de provas de função e lesão hepática e renal, foram medidos nas amostras de soro obtidas e fragmentos de fígado, estômago, rim e intestino delgado foram coletados para a análise histológica. Verificou-se que o valor energético da cota de ração ingerida pelos três grupos, no período experimental, não foi diferente, embora os animais submetidos às dietas cetogênicas tenham ingerido uma quantidade de ração semelhante entre si, mas inferior ( $P<0,005$ ) aos do grupo controle. As dietas cetogênicas promoveram ganho de peso



semelhante entre si e apenas os animais do grupo CetoTAGC<sub>7</sub> exibiram ganho de peso inferior ( $P=0,004$ ) em relação aos do grupo controle, entre a 2<sup>a</sup> e a 5<sup>a</sup> semana de experimento. Ao final do estudo, todos os grupos apresentaram pesos equivalentes. Não houve diferenças significativas entre os três grupos quanto ao perfil lipídico e glicose séricos e aos marcadores de função e lesão hepática e renal. A análise histológica dos fragmentos de intestino delgado, estômago e rim não evidenciou qualquer alteração morfológica importante e a presença de infiltração lipídica nos hepatócitos foi detectada de maneira semelhante para os três grupos. A dieta cetogênica à base de trienantina não promoveu efeitos tóxicos, nas condições do presente estudo, indicando a possibilidade deste TCM ser administrado em pacientes portadores de desordens neurológicas e defeitos metabólicos, inclusive, em concentrações cetogênicas.

**Palavras-chave:** dieta cetogênica, triacilglicerol de cadeia média, trienantina, avaliação toxicológica

## ABSTRACT

The classic ketogenic diet, rich in long chain triacylglycerols (LCT), is characterised by a high concentration of lipids and a low concentration of carbohydrates and proteins, promoting ketonemia and ketonuria, a property used in the treatment of disorders that affect cerebral metabolism and function, for example epilepsy resistant to medication. Medium chain triacylglycerols (MCT) are considered alternative substrates to LCT in the production of this diet, to promote a more rapid increase in the levels of the body's blood ketones. Trienantin, a medium chain triacylglycerol from enantiomeric fatty acid (7:0), has been used with success with children suffering hereditary metabolic syndromes, but has had few studies about its toxicological effects. The objective of this dissertation was to evaluate the toxicity of a subchronic consumption of a ketogenic diet with a trienantin base on young rats, and is submitted in the form of two articles. The first, under the name of: *Substitution of LCT with MCT in nutritional therapy: an emphasis on ketogenic therapy* presents a revision of the ketogenic diet, comparing the data of LCT and MCT in animal and clinical studies. The more rapid ketonemia promoted by MCT allows a lower quantity of lipids and a greater proportion of proteins and carbohydrates, enhancing the palatability of the diet. The effect of replacing LCT with MCT on physiological parameters, such as serum lipid profile, remains controversial and requires additional studies to comprehend the repercussions of this class of lipids on human health. The second article entitled: *Toxicological evaluation of a subchronic ketogenic diet based upon trienantin in young rats* deals with an experimental study of male *Wistar* rats in which 3 groups (n=10), named according to their received diet: Control (diet pattern AIN-93) KetoTAGC<sub>7</sub> (ketogenic based upon AIN-93G: modified to contain 4% soy oil, 25.79% trienantin and 40% margarine) and Keto TAGsoy (ketogenic based upon soya: AIN-93G modified to contain 29.79% soya oil and 40% margarine). The proportion of lipid:carbohydrate+protein in the ketogenic diets was 3.5:1 (control diet, 1:11.8) and the experimental duration was 6 weeks. Triacylglycerols, total cholesterol, HDLc, VLDLc and LDLc, in addition tests for hepatic and renal function and injury, were performed from serum obtained, and samples of liver, stomach, kidney and small intestine were collected for histological analysis. It was verified that the energy value of the portions of rations ingested did not differ amongst the three groups during the experimental period, however the animals submitted to the ketogenic diets had ingested a similar quantity of rations within the group, but less than (p=0.005) the control group. The ketogenic diet promoted similar weight gain amongst the group and only the animals in group KetoTAGC<sub>7</sub> exhibited weight gain less than that of the control group (p=0.004) between the second and fifth weeks of the experiment. At the end of the study, all groups presented equivalent weights. There were no significant

differences between the three groups as to the lipid profile, serum glucose and of the markers for hepatic function and injury. Histological analysis of samples from the small intestine, stomach and kidney did not show any significant morphological alteration and the presence of lipid infiltration within hepatocytes was detected in the same manner amongst the three groups. A ketogenic diet with a trienantin base did not promote toxic effects, under the conditions of this study, indicating the possibility that MCT could be administered to patients suffering neurological and metabolic defects, as part of ketogenic diet.

**Key words:** ketogenic diet, medium chain triacylglycerols, trienantin, toxicological evaluation.

## LISTA DE TABELAS

		Página
Artigo de Resultados: <i>Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens.</i>		
Tabela 1	Composição das dietas Controle, CetoTAGC <sub>7</sub> e CetoTAGSoja.....	49
Tabela 2	Valores médios de ingestão total e eficiência alimentar nos grupos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC <sub>7</sub> e CetoTAGSoja, por 6 semanas.....	54
Tabela 3	Marcadores bioquímicos séricos dos ratos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC <sub>7</sub> e CetoTAGSoja, por 6 semanas.....	55

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<i>Artigo de Resultados: Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens.</i>	
Figura 1	Classificação da infiltração lipídica no parênquima hepático: graus leve, levemente moderado, moderado e grave..... 51
Figura 2	Evolução ponderal dos ratos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC <sub>7</sub> e CetoTAGSoja, por 6 semanas..... 53
Figura 3	Infiltração lipídica observada nos animais submetidos às dietas Controle, CetoTAGC <sub>7</sub> e CetoTAGSoja, por 6 semanas..... 56

## LISTA DE ABREVIATURAS

**TCL:** Triacilglicerol de cadeia longa

**TCM:** Triacilglicerol de cadeia média

**GABA:** Ácido  $\gamma$ -aminobutírico

**PTZ:** Pentalenotetrazona

**CAC:** Ciclo dos Ácidos Cítricos

**CetoTAGC<sub>7</sub>:** Grupo de dieta cetogênica à base de trienantina

**CetoTAGSoja:** Grupo de dieta cetogênica à base de óleo de soja

**AST:** Aspartato aminotransferase

**ALT:** Alanina aminotransferase

**FA:** Fosfatase alcalina

**$\gamma$ -GT:** Gama-glutamil transferase

**HDLc:** *High density lipoprotein cholesterol*

**VLDLc:** *Very low density lipoprotein cholesterol*

**LDLc:** *Low density lipoprotein cholesterol*

**HE:** Hematoxilina eosina

**PPAR $\gamma$ <sup>2</sup>:** *Peroxisome-proliferator-activated receptor  $\gamma$ 2*

**CEA:** Coeficiente de Eficiência Alimentar

**FAPEAL:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas

**ICBS:** Instituto de Ciências Biológica e da Saúde

**UFAL:** Universidade Federal de Alagoas

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>2 ARTIGOS.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 ARTIGO DE REVISÃO: Substituição de TCL por TCM na terapia nutricional: uma ênfase no tratamento cetogênico.....</b>	<b>18</b>
Resumo.....	19
Abstract.....	20
Introdução.....	21
Dieta Cetogênica.....	22
Dieta Cetogênica: TCL <i>versus</i> TCM.....	28
Trienantina: um TCM promissor na terapia nutricional.....	34
Conclusões.....	35
Referências bibliográficas.....	36
<b>2.2 ARTIGO DE RESULTADOS: Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens.....</b>	<b>42</b>
Resumo.....	43
Abstract.....	44
Introdução.....	45
Materiais e Métodos.....	47

Resultados.....	52
Discussão.....	56
Agradecimentos.....	63
Referências bibliográficas.....	64
<b>3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>69</b>
<b>4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>72</b>