

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.^a Dr.^a Suzana Lima de Oliveira

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Ximenes

**MACEIÓ-AL
2007**

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

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

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.^a Suzana de Oliveira Lima, pela excelente orientação, na qual pretendo espelhar-me para ser uma profissional e uma pessoa melhor.

A prof.^a 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.^a 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.^a 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), CetoTAGC₇ (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 CetoTAGC₇ exibiram ganho de peso inferior ($P=0,004$) em relação aos do grupo controle, entre a 2^a e a 5^a 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) KetoTAGC₇ (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 KetoTAGC₇ 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 ₇ e CetoTAGSoja.....	49
Tabela 2	Valores médios de ingestão total e eficiência alimentar nos grupos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC ₇ e CetoTAGSoja, por 6 semanas.....	54
Tabela 3	Marcadores bioquímicos séricos dos ratos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC ₇ e CetoTAGSoja, por 6 semanas.....	55

LISTA DE FIGURAS

	Página
<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 ₇ e CetoTAGSoja, por 6 semanas..... 53
Figura 3	Infiltração lipídica observada nos animais submetidos às dietas Controle, CetoTAGC ₇ e CetoTAGSoja, por 6 semanas..... 56

LISTA DE ABREVIATURAS

TCL: Triacilglicerol de cadeia longa

TCM: Triacilglicerol de cadeia média

GABA: Ácido γ -aminobutírico

PTZ: Pentalenotetrazona

CAC: Ciclo dos Ácidos Cítricos

CetoTAGC₇: 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

γ -GT: Gama-glutamil transferase

HDLc: *High density lipoprotein cholesterol*

VLDLc: *Very low density lipoprotein cholesterol*

LDLc: *Low density lipoprotein cholesterol*

HE: Hematoxilina eosina

PPAR γ ²: *Peroxisome-proliferator-activated receptor γ 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

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2 ARTIGOS.....	17
2.1 ARTIGO DE REVISÃO: Substituição de TCL por TCM na terapia nutricional: uma ênfase no tratamento cetogênico.....	18
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
2.2 ARTIGO DE RESULTADOS: Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens.....	42
Resumo.....	43
Abstract.....	44
Introdução.....	45
Materiais e Métodos.....	47

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

1. INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO GERAL

A dieta cetogênica clássica, rica em triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), foi introduzida por Wilder¹ em 1921, sendo caracterizada por uma alta concentração de lipídeos e, ao mesmo tempo, por uma baixa concentração de carboidratos e proteínas, tendo que exceder uma proporção de 1,5:1 (lipídeos:carboidratos+proteínas), para promover cetonemia e cetonúria². Esta dieta vem sendo utilizada no tratamento de várias desordens que afetam o metabolismo e a função cerebral, como por exemplo, em pacientes portadores com alterações nos transportadores de glicose e de epilepsia³.

A substituição dos TCL pelos triacilgliceróis de cadeia média (TCM) vem ganhando destaque no meio científico no que se refere à busca de uma maior efetividade da dieta no controle das convulsões não responsivas a medicamentos e a procedimentos cirúrgicos⁴. A proposição dessa classe de substâncias lipídicas como um substrato energético alternativo para tratar tais condições fundamenta-se em seu efeito na elevação dos corpos cetônicos, considerada como um dos mecanismos de ação da dieta cetogênica clássica; os TCM, por apresentarem digestão e absorção mais rápidas que os TCL, em virtude de suas características químicas, promovem um aumento mais rápido da cetonemia, podendo consistir uma ferramenta terapêutica interessante^{5,6,7,8}.

A trienantina, um triacilglicerol de cadeia média do ácido graxo enântico (heptanóico; 7:0), vem sendo administrada com sucesso em crianças portadoras de síndromes metabólicas congênitas^{9,10}. Em ratos, após 9 meses de avaliação, sua utilização produziu coeficientes de digestibilidade e de eficiência alimentar satisfatórios, não sendo constatados sinais de toxicidade¹¹. Entretanto, mesmo considerando que os resultados obtidos até o presente apontem para implicações

favoráveis de sua utilização, verifica-se que os efeitos terapêuticos desse lipídio não se encontram totalmente elucidados.

A presente dissertação, composta de dois artigos, visa esclarecer as repercussões metabólicas da trienantina em proporções de uma dieta cetogênica, para que sua aplicação, considerando seus efeitos promissores já relatados, possa ser ampliada e consistir uma alternativa terapêutica eficaz e segura em outras situações clínicas.

O primeiro artigo, denominado *Substituição de TCL por TCM na terapia nutricional: uma ênfase no tratamento cetogênico*, apresenta uma revisão sobre a dieta cetogênica, relatando sua aplicação terapêutica em pacientes portadores de inúmeras patologias como, por exemplo, em casos de epilepsia, mais comumente, e câncer. Expõe-se, ainda, uma análise comparativa, nesse contexto, dos efeitos dos TCL e dos TCM, através de experimentos animais e ensaios clínicos.

O segundo artigo, intitulado *Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens*, trata de um estudo experimental, realizado em ratos *Wistar*, em que foram testadas, pelo período de seis semanas, duas dietas cetogênicas, uma à base de óleo de soja, nos moldes da dieta clássica, e outra à base de trienantina, como tratamento alternativo. O objetivo da pesquisa consistiu em investigar a repercussão metabólica do consumo subcrônico da trienantina em concentrações cetogênicas.

Ao final, considera-se a possibilidade de ampliação do potencial terapêutico da trienantina, face à ausência de toxicidade demonstrada, em proporções cetogênicas, nas condições do presente estudo.

2.1 ARTIGO DE REVISÃO

Lucena ALM, Oliveira SL, Ataíde TR. Substituição de TCL por TCM na terapia nutricional: uma ênfase no tratamento cetogênico.

RESUMO

A dieta cetogênica clássica, constituída de triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), vem sendo utilizada como tratamento alternativo, desde a década de 20, em pacientes portadores de epilepsia, sendo de especial importância, na atualidade, no controle de convulsões resistentes ao uso de medicamentos. Sua aplicação está sendo ampliada, incluindo o tratamento de diversas desordens metabólicas, a exemplo do câncer cerebral e de defeitos nos transportadores de glicose sanguínea. Os triacilgliceróis de cadeia média (TCM) têm sua administração bem estabelecida no controle de diversas enfermidades e sua utilização em dietas cetogênicas, como fonte alternativa aos TCL, parece promissora, face às características metabólicas dessa classe de lipídeos. A mais rápida cetonemia promovida permite utilizar uma menor quantidade de lipídeos 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 lipídeos sobre a saúde humana. Como perspectiva, o estudo dos efeitos metabólicos de novos compostos, como a trienantina, triacilglicerol do ácido graxo enântico, pode trazer contribuição adicional aos benefícios terapêuticos da dieta cetogênica.

Palavras-chave: dieta cetogênica, substituição, TCL, TCM, trienantina

ABSTRACT

The classic ketogenic diet, consisting of long chain triacylglycerols (LCT) has been used as an alternative treatment since the 1920s, for patients suffering epilepsy, being particularly important in the control of convulsions resistant to medication. Its application is becoming extended to the treatment of diverse metabolic disorders, the example of cerebral cancer and defects of blood glucose transport. The administration of medium chain triacylglycerols is well established in the control of diverse diseases and its utilisation in ketogenic diets, as an alternative source to LCT, appears promising in the face of the metabolic characteristics of this class of lipids. The more rapid promotion of ketonemia allows the usage of lower quantities of lipids and more of proteins and carbohydrates, enhancing the palatability of the diet. The effect of the substitution of LCT with MCT on physiological parameters, such as serum lipid profile, is controversial, necessitating additional studies to comprehend the repercussions of this class of lipids on human health. In this perspective, the study of the metabolic effects of new compounds, such as trienantin, a triacylglycerol from enantiomeric fatty acid, may deliver an additional contribution to the benefits of a ketogenic diet.

Key words: ketogenic diet, substitution, LCT, MCT, trienantin.

INTRODUÇÃO

A manipulação dos lipídeos dietéticos constitui-se, particularmente nos tempos atuais, uma das ferramentas de destacada importância na promoção da saúde e qualidade de vida da humanidade. Diversas enfermidades têm seu desenvolvimento determinado ou, pelo menos, influenciado pela forma como esses nutrientes são ofertados na alimentação. Os diferentes ácidos graxos constituintes dos lipídeos presentes nos alimentos, por exemplo, podem seguir vias metabólicas distintas, dependendo do comprimento e da presença de duplas ligações em sua cadeia¹. Estas diferenças metabólicas têm despertado interesse crescente no meio científico, dada a possibilidade de tratar, através da manipulação quanti- e/ou qualitativa dos ácidos graxos dietéticos, desordens de naturezas distintas, tais como defeitos no transporte de glicose, abetalipoproteinemia, mitocondriopatias, alterações na oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, defeitos da piruvato carboxilase, estresse cirúrgico, má nutrição, câncer e epilepsia^{2,3,4}.

Dentre as diferentes formas de manipulação dos lipídeos dietéticos, a dieta cetogênica, caracterizada por elevada concentração de lipídeos, para promoção da cetogênese, vem recebendo destaque, nos últimos anos, por sua aplicação no tratamento de pacientes portadores de epilepsia resistente ao uso de medicamentos, trazendo benefícios no controle de surtos convulsivos, especialmente em crianças. Adicionalmente, outras aplicações têm sido propostas para esse procedimento terapêutico, ampliando seus benefícios. O perfil de ácidos graxos constituintes dessa dieta, notadamente na forma de TCL ou TCM, tem sido, igualmente, tema de destaque na discussão científica, embora muitos de seus efeitos ainda não estejam esclarecidos.

A presente revisão, portanto, teve como objetivo investigar os efeitos da substituição de TCL por TCM, na terapia nutricional, com destaque para a sua aplicação em dietas cetogênicas.

A DIETA CETOGÊNICA

O ato de jejuar, como tratamento para surtos convulsivos, é um procedimento utilizado desde o século V a.C., mas o interesse por esta forma de terapia intensificou-se, particularmente, no começo do século XX, quando médicos relataram uma diminuição da frequência de convulsões após um período de jejum^{5,6}.

Em meados da década de 20 do século passado, médicos da Universidade John Hopkins observaram que o efeito antiepiléptico do jejum resultava da cetonemia -presença de corpos cetônicos na circulação sanguínea- e que seria possível manter esta condição, sem prolongar o jejum nos pacientes, limitando a absorção de carboidratos e proteínas, forçando, dessa maneira, o organismo a utilizar os corpos cetônicos como principal fonte de energia^{5,6,7}.

A dieta cetogênica clássica, rica em triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), foi introduzida por Wilder em 1921, sendo caracterizada por uma alta concentração de lipídeos e, ao mesmo tempo, por uma baixa concentração de carboidratos e proteínas, tendo que exceder uma proporção de 1,5:1 (lipídeos:carboidratos+proteínas), para promover cetonemia e cetonúria. Na prática clínica, especialmente em crianças portadoras de epilepsia, esse tratamento dietético consiste em uma das mais eficientes terapias para o controle de convulsões resistentes ao tratamento medicamentoso ou cirúrgico, sendo a proporção de 4:1 a mais utilizada nesses casos; utiliza-se também a proporção de 3:1, porém em uma frequência bem menor^{7,8,9,10}.

Seo *et al.*¹¹ confirmaram a eficácia da dieta cetogênica na proporção de 4:1, quando observaram uma melhora do quadro clínico de 55% em crianças portadoras de epilepsia, submetidas àquele tratamento; já naquelas alimentadas com uma dieta de proporção de 3:1, a melhora foi significativamente menor, de 33,5 %. Além da diminuição na frequência das convulsões, foi verificada uma redução no uso de medicamentos, refletindo em uma substancial melhora do quadro clínico, visto que a maioria dos efeitos colaterais são provenientes do uso excessivo das drogas anti-epilépticas^{12,13}.

Apesar de mais de dois terços das crianças que se mantêm com este tratamento dietético apresentarem uma melhora de mais de 50% no quadro das convulsões e sua proteção não ser limitada a nenhum tipo específico de convulsão, o mecanismo de ação e os parâmetros do tratamento, ainda não estão claros e bem definidos^{7,8,10,12}. Considera-se a hipótese de que a elevação dos corpos cetônicos produzida pela dieta cause uma mudança fundamental no metabolismo do glutamato. O provável mecanismo envolveria a diminuição da transaminação desse aminoácido para aspartato, por não haver oxalacetato suficiente para essa reação, em virtude do aumento da produção de acetil gerado pela elevada concentração de lipídeos da dieta. Assim, mais glutamato estaria disponível para a formação do ácido γ -aminobutírico (GABA), neurotransmissor inibitório responsável pela diminuição das convulsões¹⁴.

Quanto maior a cetonemia proporcionada pela dieta cetogênica, avaliada pelos níveis de β -hidroxibutirato (β -HB) -principal corpo cetônico circulante na corrente sanguínea no jejum prolongado e, conseqüentemente, em indivíduos submetidos à dieta com altas concentrações lipídicas- maior será a resistência a convulsões, como observado por Bough *et al.*⁸, quando submeteu animais a dietas

com diferentes concentrações de lipídeos. Harney *et al.*¹⁵ constataram que a latência para as convulsões era maior no grupo que recebeu uma dieta cetogênica, quando comparada a dos grupos não-cetogênicos, e que ao administrar um bloqueador da β -oxidação dos ácidos graxos houve uma diminuição desta latência com um mais rápido início de convulsão em animais.

Por outro lado, Bough *et al.*⁷ verificaram uma maior resistência a convulsões em animais alimentados com uma dieta cetogênica, mesmo com níveis de corpos cetônicos sanguíneos semelhantes àqueles apresentados pelos animais alimentados com dieta não-cetogênica. Este resultado indica que outros fatores, além da cetogênese induzida, parecem ser responsáveis pela melhora do quadro clínico nas crianças portadoras de epilepsia. Existem alguns estudos ressaltando a possibilidade de efeitos como mudanças no metabolismo energético, na regulação direta dos canais iônicos, na composição lipídica das membranas celulares, no nível da água e no pH cerebral estarem envolvidos no mecanismo de ação da dieta cetogênica^{5,16,17,18}.

Um parâmetro, em especial, de grande influência na resistência às convulsões decorrentes da dieta cetogênica seria a idade em que é iniciada a dieta. Em ratos que receberam dieta cetogênica, com restrição calórica, desde os 22, 28, 37, 50, 63 ou 126 dias de nascidos, foi detectada uma resistência decrescente à Pentalenotetrazona (PTZ) -substância utilizada para induzir convulsões- conforme o aumento da idade de introdução da dieta. Desse modo, quanto maior a idade dos animais em que se introduz o tratamento dietético, menor seria a eficácia da dieta cetogênica no controle das convulsões⁷.

Observações clínicas em crianças portadoras de epilepsia confirmam a importância da idade de introdução da dieta cetogênica. Em um estudo realizado em

150 crianças, observou-se que aquelas mais jovens obtiveram uma redução significativa nas crises convulsivas¹². Em outra experiência, incluindo crianças, adolescentes e adultos jovens, verificou-se que a dieta cetogênica foi igualmente eficaz e bem tolerada em todas as faixas etárias, não representando a idade de introdução da dieta um empecilho para os resultados clínicos positivos obtidos; entretanto, o maior índice de indivíduos livres das convulsões encontrava-se na faixa etária dos 2 aos 8 anos de idade¹³. A maior facilidade de transporte dos corpos cetônicos através da barreira hematoencefálica e o aumento na expressão das enzimas necessárias para formação dos corpos cetônicos, nos cérebros de crianças mais jovens, são algumas alterações fisiológicas associadas a esse efeito¹⁷.

O tempo de tratamento consiste em outro fator de importância para a eficácia da dieta cetogênica. Nesse sentido, verifica-se que as crianças que apresentaram uma melhora significativa das crises epiléticas foram as que permaneceram sob o tratamento por mais tempo, ou seja, a adesão à dieta está diretamente relacionada a sua eficácia. Por outro lado, dificuldades como resistência da criança e da própria família às características físicas da dieta e a sua difícil fase de introdução, onde a criança deve ficar por pelo menos 24 a 48 horas em jejum, representam um desafio no estabelecimento de um tratamento dietético dessa natureza. Mesmo assim, o que se tem observado é que os obstáculos enfrentados passam despercebidos frente à melhora do quadro clínico das crianças^{9,19,20}. Adicionalmente, propõem-se modificações que visam reduzir as dificuldades de introdução da dieta. Kim *et al.*²¹, por exemplo, verificaram que a fase de jejum no início da implantação da dieta é desnecessária; pacientes submetidos ou não ao jejum inicial de 24 a 48 horas apresentaram redução similar das freqüências das convulsões.

Além da sua utilização em pacientes portadores de epilepsia, como destacado anteriormente, a dieta cetogênica vem sendo considerada como forma de tratamento em outras condições patológicas, como hipoglicemia hiperinsulinêmica, cetose hipoglicêmica e deficiência do transportador de glicose tipo I. Em todos esses casos, a dieta apresenta um efeito neuroprotetor contra a privação de substrato, visto que os corpos cetônicos podem ultrapassar a barreira hematoencefálica, sendo utilizados como fonte de energia cerebral^{22,23}.

O efeito neuroprotetor da dieta cetogênica encontra aplicação, ainda, no tratamento alternativo de pacientes portadores de câncer cerebral, uma vez que as células nervosas, em contraste com as células do tumor, têm a flexibilidade de utilizarem tanto a glicose quanto os corpos cetônicos como fonte de energia. Logo, ao se administrar a dieta cetogênica, ocorre uma restrição do substrato energético para as células cancerígenas, evitando-se, assim, a sua proliferação^{24,25}.

Particularmente, em casos de morte neuronal induzida por hipoglicemia, Yamada *et al.*²² verificaram que os animais que receberam a dieta cetogênica (proporção de 6:1), com restrição calórica, apresentaram uma menor morte neuronal cortical por mm², além de terem sido menos sintomáticos durante o episódio de hipoglicemia, permanecendo erguidos, caminhando e preservando os reflexos protetores, quando suspensos pela cauda ou pelo pescoço, diferentemente do que ocorreu com o grupo que recebeu a dieta controle, em que a morte neuronal foi significativamente maior e todos os animais se apresentaram bastante sintomáticos. Os autores observaram, ainda, que os animais que receberam a dieta cetogênica tiveram um menor peso, quando comparados ao grupo que não se submeteu a esse tratamento dietético; sendo assim, não se deve descartar a possibilidade de que a redução da ingestão calórica e do ganho de peso, dentre outros fatores

independentes da cetose sanguínea, possam, também, ter algum efeito neuroprotetor.

A elevação de corpos cetônicos sanguíneos pode, ainda, ser benéfica no tratamento de patologias associadas à resistência à insulina. Em quantidades semelhantes às encontradas no jejum, os corpos cetônicos sanguíneos parecem compensar a ausência dos efeitos da insulina, pois preservam a concentração intracelular de glicose, por consistirem em substrato metabólico alternativo, além de elevarem os níveis mitocondriais de grupamentos acetila; ou seja, os corpos cetônicos têm os mesmos efeitos da insulina na glicemia, embora resultantes de vias metabólicas distintas²⁶. Conseqüentemente, poderiam ser esperados efeitos benéficos em desordens associadas à síndrome metabólica, como, por exemplo, no acúmulo de gordura hepatocelular, decorrente de uma maior resistência à insulina^{26,27}.

A natureza dos lipídeos ofertados na dieta parece constituir um fator de potencial importância na determinação dos efeitos do tratamento cetogênico. Alternativamente aos triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), que, por sua predominância na composição de alimentos, estiveram tradicionalmente presentes neste tipo de dieta, os triacilgliceróis de cadeia média (TCM) vêm ganhando destaque nesse panorama. Seu metabolismo, distinto dos TCL, tem sido associado à diminuição dos níveis das LDLc, colesterol e triacilgliceróis^{28,29,30} e aumento do HDLc²⁸, à diminuição dos estoques de gordura e a melhor tolerabilidade à glicose. Entretanto, poucos estudos têm comparado estes dois compostos lipídicos em dietas de proporções cetogênicas, embora seus efeitos, individualmente, tenham sido estudados e ressaltados em alguns contextos experimentais⁹.

DIETA CETOGÊNICA: TCL *versus* TCM

Os ácidos graxos podem ser classificados de acordo com o comprimento de sua cadeia, sendo assim denominados: ácidos graxos de cadeia curta (C4-6), ácidos graxos de cadeia média (C8-10), ácidos graxos de cadeia longa (C12-18) e ácidos graxos de cadeia muito longa (C20-24)³¹.

O comprimento da cadeia dos ácidos graxos confere diferenças importantes no que concerne a sua absorção e ao seu metabolismo; os ácidos graxos de cadeia curta e média são rapidamente hidrolisados dos triacilgliceróis, por intermédio das lípases lingual e gástrica, sendo absorvidos pelas células intestinais, enquanto os ácidos graxos de cadeia longa e muito longa precisam da ação adicional da lipase pancreática e da ação emulsificante da bile, para passar através das membranas celulares intestinais. Adicionalmente, os ácidos graxos de cadeia curta e média difundem-se pela circulação portal para chegarem ao fígado, diferente dos ácidos graxos de cadeia longa e muito longa, que são re-esterificados, transformando-se novamente em triacilgliceróis, os quais são empacotados nos quilomicrons e liberados na linfa para chegarem ao fígado. Depois que chegam ao fígado, os ácidos graxos de cadeia curta e média sofrem β -oxidação, formando acetil coenzima A, acreditando-se que o seu destino seja o ciclo dos ácidos cítricos (CAC); os ácidos graxos de cadeia longa, por sua vez, são misturados ao *pool* dos ácidos graxos hepáticos, elevando as lipoproteínas de baixa densidade³².

Na alimentação, os lipídeos são ofertados predominantemente na forma de triacilgliceróis, especialmente constituídos de ácidos graxos de cadeia longa. Entretanto, face as suas características metabólicas particulares, os TCM vêm sendo utilizados em várias condições clínicas, na forma de preparados comerciais; pacientes portadores de várias enfermidades têm se beneficiado com o uso de tais

substâncias, a exemplo de pacientes portadores de câncer, de fibrose cística e daqueles que sofreram ressecção intestinal^{29,33}.

Em crianças portadoras de epilepsia, especialmente, a substituição dos TCL pelos TCM tornou-se uma terapia alternativa, no contexto da dieta cetogênica clássica. Tal substituição decorre do fato de que as dietas ricas em TCM, ao contrário do que ocorre com as dietas ricas em TCL, promovem uma maior e mais rápida elevação dos corpos cetônicos, potencializando o possível efeito protetor da dieta sobre as convulsões^{7,8,33}, resultado que tem se confirmado tanto em experimentos animais como em estudos clínicos, com um efeito que se estende durante horas após a alimentação^{33,34}.

Uma razão adicional para considerar os TCM como fonte lipídica alternativa, no tratamento cetogênico, baseia-se nos vários relatos de limitações e efeitos colaterais provocados pela dieta clássica, como, por exemplo, a sua baixa tolerabilidade. Magrath *et al.*⁹ verificaram maior adesão à dieta no grupo de crianças que recebeu a dieta cetogênica à base de TCM, permanecendo estas crianças por mais tempo sob o tratamento dietético, por sua melhor palatabilidade.

Além dos fatores acima mencionados, que colocam em discussão a dieta cetogênica clássica, encontra-se, ainda, a reduzida absorção de carboidratos e proteínas, promovida pelo baixo teor desses macronutrientes em sua composição (<10% do valor energético da dieta), necessário para garantir a elevada concentração de lipídeos e o conseqüente aumento da cetonemia. Na dieta cetogênica rica em TCM, há uma maior oferta de carboidratos e proteínas (29,0 a 40,0% do valor energético da dieta), o que a torna ligeiramente mais flexível e fácil de preparar; por produzirem uma maior elevação dos corpos cetônicos sanguíneos, em quantidades equivalentes aos TCL, sua concentração na dieta pode ser reduzida

e a dos demais macronutrientes aumentada, sem prejudicar o provável mecanismo responsável pela supressão das convulsões: a cetonemia^{35,36,37}.

Com relação ao efeito da dieta cetogênica sobre o crescimento das crianças portadoras de epilepsia, Liu *et al.*²⁸ observaram que ambas dietas, a clássica e a rica em TCM, proporcionaram um crescimento linear. No entanto, em estudos experimentais em ratos e em ensaios em seres humanos, um ganho de peso mais lento e pesos menores foram verificados nos grupos alimentados com a dieta rica em TCM^{22,21,33}. Diante disso, não obstante as vantagens amplamente descritas anteriormente, a substituição dos TCL pelos TCM, em algumas situações clínicas, pode não ser a melhor opção, merecendo sua utilização bastante ponderação e cuidado, especialmente quando o público alvo for constituído por crianças.

O menor ganho de peso produzido pela utilização dos TCM deve-se, em parte, ao seu maior efeito termogênico; sua rápida metabolização pelo organismo reflete-se em uma igualmente rápida elevação dos corpos cetônicos e em um quociente respiratório significativamente menor do que o do grupo que recebeu uma dieta rica em TCL. Tem-se, desse modo, uma oxidação dos ácidos graxos mais acentuada que a dos carboidratos, ocorrendo maior gasto energético, com um conseqüente menor ganho de peso^{33,29,37}. Adicionalmente, Ganning *et al.*³⁹, ao administrarem uma substância capaz de aumentar o número dos peroxissomos, observaram que os TCM são substratos preferenciais da β -oxidação peroxissomal, o que resultou em um metabolismo mais acentuado dos TCM e, por conseguinte, em um maior desprendimento de calor.

A repercussão do consumo de TCM na saciedade pode constituir outro mecanismo de promoção da redução de peso, por estes constituintes lipídicos. Alguns estudos têm demonstrado que indivíduos alimentados com dieta rica em

TCM apresentam uma menor ingestão durante as refeições; adicionalmente, as concentrações sanguíneas de ácidos graxos e de corpos cetônicos se encontravam significativamente elevadas nesses indivíduos, além dos níveis de glicose sanguíneos estarem significativamente diminuídos e o pico de insulina retardado^{34,38}. A insulina pode atravessar a barreira hematoencefálica nas proximidades do terceiro ventrículo e sua administração intraventricular pode reduzir a ingestão de alimentos. Logo, uma dieta rica em TCM tem um alto poder de propiciar saciedade por intermédio da ação central específica da insulina^{40,41}.

Os sinais referentes à fome só são ativados quando a oxidação dos lipídeos e dos carboidratos não são suficientes para cobrir as necessidades energéticas das células. Sendo assim, indivíduos que recebem uma alimentação rica em lipídeos dispõem de maior suprimento energético, o que promove maior reserva intracelular. Como os TCM sofrem oxidação mais rápida que os TCL, conseqüentemente, oferecem energia às células de forma mais acelerada e por um maior intervalo de tempo, resultando em diminuição da ingestão de alimentos durante a refeição^{38,42,43}.

A capacidade dos TCM em promover um menor ganho de peso, frente aos TCL, faz com que os primeiros sejam considerados no tratamento da obesidade^{29,32,33,34,44}. Lavau & Hashim⁴⁴, já em 1978, considerando que a elevação de corpos cetônicos promovia uma captação aumentada de glicose pelo tecido adiposo para a síntese de lipídeos, mas que a administração de uma dieta rica em TCM promovia redução das reservas lipídicas, indicaram um efeito direto dos TCM sobre o tecido adiposo, supondo-se que não seriam totalmente metabolizados pelo fígado, após a sua entrada pela circulação portal. Mais tarde, Han *et al.*³⁰, estudando os processos celulares específicos envolvidos no fenômeno, observaram que o grupo alimentado com uma dieta rica em TCM apresentou uma baixa atividade da

lipase lipoprotéica, que é responsável pelo recrutamento dos lipídeos sanguíneos para o tecido adiposo, havendo, também, uma supressão do RNAm do PPAR γ ², elemento responsável pela regulação do metabolismo e diferenciação dos adipócitos.

Contrariamente, em outro contexto, Geelen *et al.*⁴⁵ verificaram que, em hepatócitos isolados de ratos, a adição de ácidos graxos de cadeia média levou à ativação da enzima acetil-CoA carboxilase, principal reguladora da síntese de ácidos graxos, coincidindo com níveis elevados de malonil-CoA e com uma maior síntese de lipídeos. Nesse sentido, Lavau & Hashim⁴⁴ observaram *in vitro*, similarmente, uma maior atividade das enzimas lipogênicas hepáticas no grupo de animais que recebeu a dieta rica em TCM, quando comparado ao grupo alimentado com a dieta rica em TCL. Os resultados distintos referentes à lipogênese encontrados em tecido adiposo e fígado parecem indicar um efeito específico para o tecido.

A análise do perfil lipídico sérico é outra importante ferramenta de monitoramento do tratamento cetogênico, especialmente considerando o impacto que elevadas concentrações de lipídeos dietéticos podem representar para a saúde do indivíduo, notadamente para o sistema cardiovascular. Poucos são os dados relativos a esse controle, mas em uma pesquisa realizada com crianças, a dieta cetogênica clássica proporcionou uma significativa elevação dos níveis de LDL e da razão colesterol total/ HDL, o que pode sugerir um aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, especialmente ao considerar o período prolongado de aplicação do tratamento. No grupo de crianças sob a dieta cetogênica rica em TCM, por outro lado, verificou-se uma diminuição significativa da razão colesterol total/ HDL²⁸.

As informações relativas ao efeito da utilização de TCM em parâmetros fisiológicos específicos, mesmo que em panorama distinto do tratamento cetogênico, pode contribuir para a discussão da repercussão potencial desse composto, quando ofertado em elevadas concentrações. Particularmente no que diz respeito ao perfil lipídico sanguíneo, as informações são controversas. Alguns estudos envolvendo suplementação lipídica, com óleos à base de TCL ou TCM, indicaram níveis inalterados de triacilglicerídeos plasmáticos no grupo submetido à dieta rica em TCM, em comparação ao grupo alimentado com a dieta rica em TCL^{29,34,46}, enquanto outros apontaram elevação desse parâmetro^{31,46}. Nestes casos, observou-se, adicionalmente, a ausência de associação entre o perfil de ácidos graxos presentes nos TCM oferecidos e o perfil dos triacilgliceróis plasmáticos obtido, sugerindo-se que a metabolização dos ácidos graxos de cadeia média promoveu a incorporação dos TCL nas lipoproteínas plasmáticas. Hill *et al.*⁴⁷ detectaram, ainda, níveis mais elevados de colesterol plasmático no grupo sob tratamento com TCM.

Os resultados conflitantes, apresentados anteriormente, podem refletir a interferência de diferentes variáveis nos protocolos de pesquisa estabelecidos. Pode-se destacar, por exemplo, a natureza peculiar do quadro patológico que motivou o tratamento com uma fonte lipídica alternativa como os TCM, o que pode significar uma repercussão diferente sobre o próprio metabolismo lipídico. O período de acompanhamento dos pacientes, a fase de introdução da dieta e tipos de TCL e TCM selecionados podem representar outras fontes de variação nos estudos realizados. Sendo assim, estudos adicionais são necessários para avaliar, com maior precisão, a interferência destas dietas sobre o perfil lipídico.

A substituição parcial de TCL por TCM pode ser apropriada no tratamento de enfermidades, como o câncer, considerando que algumas células malignas só

utilizam glicose como substrato energético, não reconhecendo os corpos cetônicos como fonte de energia. Assim, é bastante provável que as dietas ricas em TCM venham a proporcionar benefícios mais imediatos a estes pacientes, pois, a elevação mais rápida dos corpos cetônicos faz com que as células cancerosas fiquem desprovidas de glicose, limitando seu crescimento e diferenciação^{24,25}.

Em outros casos, no entanto, como na colestase, a substituição dos TCL por uma pequena quantidade de TCM, com o objetivo de fornecer uma fonte de energia mais rápida para as crianças com grau elevado de estresse metabólico, não parece ser uma terapia alternativa adequada; as crianças que fizeram uso de emulsificação lipídica, assim preparada, apresentaram uma menor concentração do ácido docosaenoico, ácido graxo essencial para o desenvolvimento cognitivo e visual, nos fosfolídeos da HDL, quando comparadas àquelas que receberam emulsificação constituída apenas de TCL⁴⁸.

Frente ao crescente interesse nas possibilidades de aplicação terapêutica no tratamento de inúmeras patologias, alguns estudos vêm ampliando as pesquisas em relação aos efeitos dos TCM. Um exemplo recente reside nos TCM de cadeia ímpar, que apresentam uma característica bastante promissora: sua capacidade anaplerótica, que pode constituir um fator definidor no tratamento de algumas desordens herdadas.

TRIENTINA: UM TCM PROMISSOR NA TERAPIA NUTRICIONAL

Triacilglicerol de cadeia média do ácido graxo enântico (heptanoico; 7:0), a trientina tem como produto da sua β -oxidação parcial o β -cetopentanoil-CoA, o qual é clivado pela tiolase, liberando uma molécula de acetila e outra de propionila, que por sua vez, pode entrar no Ciclo do Ácido Cítrico sobre a forma de succinil-

CoA⁴⁹. Essa característica incomum tem despertado o interesse da comunidade científica para sua aplicação no tratamento de desordens metabólicas.

Sua aplicação clínica tem sido especialmente evidenciada em pacientes com problemas na oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, causando uma rápida recuperação com desaparecimento da fraqueza muscular e melhora da cardiopatia, que são típicos desse distúrbio metabólico⁵⁰. A trienantina teve sua aplicação testada, ainda, no tratamento da deficiência da piruvato carboxilase⁵¹.

A avaliação toxicológica em ratos, em único estudo realizado no gênero, por nosso grupo de pesquisa, demonstrou que, após nove meses de consumo, a trienantina produziu coeficientes de digestibilidade e de eficiência alimentar satisfatórios, não sendo, ainda, constatados sinais de hepatotoxicidade ou alteração da integridade morfológica do intestino delgado e dos rins⁵².

No presente, encontra-se em curso, em outro estudo realizado pelo grupo, a avaliação toxicológica desse TCM em proporções de uma dieta cetogênica.

CONCLUSÕES

A elaboração de dietas cetogênicas à base de TCM para tratamento de portadores de epilepsia parece ser promissora uma vez que suas características metabólicas podem refletir em uma melhor eficácia na diminuição das convulsões, além de possibilitar uma maior adesão ao tratamento, por torná-las mais flexíveis no que se refere à composição de carboidratos e proteínas. Por outro lado, o impacto de dietas baseadas nessa classe de triacilgliceróis em parâmetros como peso e composição de membrana celular em ácidos graxos essenciais, de cadeia longa, merecem especial cuidado, particularmente quando os pacientes em tratamento forem crianças. Sua influência sobre o perfil lipídico sanguíneo, ainda controversa,

merece pesquisas adicionais. Finalmente, o surgimento de novos compostos de efeitos promissores no tratamento de desordens metabólicas, como a trienantina, pode trazer contribuição adicional aos efeitos benéficos da dieta cetogênica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vaz JS, Deboni F, Azevedo MJ, Gross JL, Zelmanovitz T, Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. *Rer Nutr* 2006; 19(4): 489-500.
2. Trau KA, Driedger A, Ingle DL, Nakhasi D, Review of toxicologic properties of medium-chain triglycerides. *Food Chem Toxicol* 2000; 38: 79-98.
3. Kossoff E, More fat and fewer seizures: dietary therapies for epilepsy. *Lancet Neurol* 2004; (3): 415–420.
4. Taha AY, Ryan MAA, Stephen CC, Despite transient ketosis, the classic high-fat ketogenic diet induces marked changes in fatty acid metabolism in rats. *Metabolism Clinical and Experiment* 2005; (54): 1137-1132.
5. Lefevre F, Aronson N, Ketogenic Diet for the Treatment of Refractory Epilepsy in Children: A Systematic Review of Efficacy. *Pediatrics* 2000; (4):105-46.
6. Henderson CB, Filloux FM, Alder SC, Lyon JL, Caplin DA, Efficacy of the Ketogenic Diet as a Treatment Option for Epilepsy: Meta-analysis. *Journal of Child Neurol*. 2006;21(3):193-198.
7. Bough KJ, Valiyil R, Han FT, Eagles DA, Seizure resistance is dependent upon age and caloric restriction in rats fed a ketogenic diet. *Elsevier Science* 1999; 35: 21-28.
8. Bough KJ, Yao SG, Eagles DA, Higher ketogenic diet ratios confer protection from seizures without neurotoxicity. *Epilepsy Research*, 2000 (38): 15–25.
9. Magrath G, Macdonald A, Whitehouse W, Dietary practices and use of the ketogenic diet in the UK 2000; (9):128-130.

10. Stainman RS, Turner Z, Rubenstein JE, Kossoff EH, Decreased relative efficacy of the ketogenic diet for children with surgically approachable epilepsy. *Seizure*; 2007;(7): 615-619.
11. Seo HJ, Lee MY, Lee SJ, Kang CH, Kim DH, Efficacy and tolerability of the ketogenic diet according to lipid:nonlipid ratios-comparison of 3:1 with 4:1 diet. *Epilepsia*. 2005; 48(4): 801-5.
12. Freeman JM, Vining EPG, Pillas DJ, Pyzik PL, Casey JC, Kelly MT, The efficacy of the ketogenic diet-1998: a prospective evaluation of intervention in 150 children. *Pediatrics* 1998; 102:1358-1363.
13. Coppola G, Veggiotti P, Cusmai R, Bertoli S, Cardinali S, Dionisi-Vici C, Elia M, Lispi ML, Sarnelli C, Tagliabue A, Toraldo C, Pascotto A, The ketogenic diet in children, adolescents and young adult with refractory epilepsy: an Italian multicentric experience. *Epilepsy Research* 2002; (48):221–227.
14. Yudkoff M, Daikhin Y, Nissim I, Lazarow A, Nissim I, Ketogenic diet, brain glutamate metabolism and seizure control. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2004;70(3):277-85.
15. Harney JP, Madara j, Madara J, l'Anson H, Effects of acute inhibition of fatty acid oxidation on latency to seizure and concentrations of β -hydroxybutyrate in plasma of rats maintained on calorie restriction and/ or the Ketogenic diet. *Elsevier Science* 2002; 49: 239-246.
16. Janigro D, Blood-brain barrier, ion homeostatis and epilepsy: possible implications towards the understanding of ketogenic diet mechanisms. *Epilepsia Res* 1999; 18: 188-191.
17. Nehlig A, Age-dependent pathways of brain energy metabolism: the suckling rat, a natural model of the ketogenic diet. *Elsevier Science* 1999; 37: 211-221.

18. Schwartzkroin PA, Mechanisms underlying the anti- epileptic efficacy of ketogenic diet. *Epilepsy Res* 1999; 37: 171-180.
19. Tomé A, Amorim TSP, Mendonça DRB, Dieta cetogênica no tratamento das epilepsias graves da infância: percepção das mães. *Ver. Nutr.* 2003; 16(2): 1415-5273.
20. Nonino-Borges¹ CB, Bustamante VCT, Rabito EI, Inuzuka LM, Sakamoto AC, Marchini JS, Dieta cetogênica no tratamento de epilepsias farmacoresistentes. *Ver de Nutrição* 2004; 17 (4): 515-521.
21. Kim DW, Kang CK, Park JC, Kim HD, Benefits of the Nonfasting Ketogenic Diet Compared With the Initial Fasting Ketogenic Diet. *Pediatrics* 2004; 114:1627-1630.
22. Yamada AK, Rensing N, Thio LL, Ketogenic diet reduces hypoglycemia-induced neuronal death in Young rats. *Neuroscience letter* 2005; 385(3):210-214.
23. Cheng CM, Kelly B, Wang J, Sthauss D, Eagles DA, Bondy CA, A Ketogenic diet increases brain insulin-like growth factor receptor and glucose transporter gene expression. *Endocrinology* 2003; 144(6):2676-2682.
24. Nebeling LC, Lerner E, Implementing a ketogenic diet base don medium-chain triglyceride oil in pediatric patients with cancer. *J Am Diet Assoc.* 1995; 95: 693:697.
25. Zhou W, Mukheriee P, Michael AK, Markis WT, Mantis J, Seyfried TN, The calorically restricted ketogenic diet, an effective alternative therapy for malignant brain cancer. *Nutrition and metabolism* 2007; 4:1743-1775.
26. Veech RL, The therapeutic implications of ketone bodies: the effects of ketone bodies in pathological conditions: ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2004; 70(3):309-19.

27. Angelico F, Ben MD, Conti R, Francioso S, Feole K, Fiorello S, Cavallo G, Zalunardo B, Lirussi F, Alessandri C, Violi F, Insulin Resistance, the metabolic syndrome, and nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 1578-1582.
28. Liu YC, Williams S, Basualdo-Hammond B, Stephens D, Curtis R, A prospective study: Growth and nutritional status of children treated with the ketogenic diet. *J Am Diet Assoc* 2003; (103):707-712.
29. Toda T, Oku H, Effect of medium-chain fatty acids on cholesterolemia and atherosclerosis in Japanese's quails. *Nutrition Research* 1995; 15(1): 99-113.
30. Han J, Hamilton JA, Kirkland JL, Coerkey BE, Guo W, Medium-chain oil reduces fat mass and down regulates expression of adipogenic genes in rats. *Obesity Research* 2003; 11(6): 734-744.
31. Papamandjaris AA, MacDougall DE, Jones PJH, Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: obesity treatment implications. *Life sciences* 1998; 62 (14): 1203-1215.
32. Cater BN, Heller HJ, Denke MA, Comparison of effects of medium-chain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:41-5.
33. Guy DC, JR Tuley RJ, Effect of diet high in carbohydrate, soy oil, medium-chain triglycerides or tripelargonin on blood and liver lipid and glucose intermediates in meal-eating rats. *J. Nutr* 1981; 111: 1437-1445.
34. Krotkiewskki M, Value of VLCD supplementation with medium chain triglycerides. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25: 1393-1400.

35. Signore JM, Ketogenic diet containing medium chain triglycerides. *J Am Diet Assoc.* 1973; 10:536-540.
36. Huttenlocher PR, Ketonemia and seizures: metabolic and anticonvulsant effects of two ketogenic diet in childhood epilepsy. *Pediatr Res.* 1976; 10: 536-540.
37. Trauner DA. Medium chain triglyceride diet in intractable seizure disorders. *Neurology.* 1985; 35:237-238.
38. Wymelbeke VV, Sylvestre-Louis J, Fantino M, Substrate oxidation and control of food intake in men after a fat-substitute meal compares with meals supplemented with an isonergetic load of carbohydrate. Long-chain triacylglycerols, or medium-chain triacylglycerols. *American Society for Clinical Nutrition* 2001; (74): 620-30.
39. Ganning AE, Olsson MJ, Paterson E, Dallner G, *Pharmacol toxicol* 1989; 65:265-268.
40. Ikeda H, West DB, Pustek JJ, Figlewicz DP, Greenwood MR, Porte D Jr, Woods SC, Intraventricular insulin reduces food intake and body weight of lean but not obese Zucker rats. *Appetite* 1986; 7(4): 381-6.
41. Strubbe JH, Steffens AB, Rapid insulin release after ingestion of a meal in the unanesthetized rat. *Am J Physiol* 1975; 229:1019-22.
42. Friedman MI, Stricker EM, The physiological psychology of hunger: a physiological perspective. *Psychol Rev* 1976; 83: 409-31.
43. Even P, Nicolaidis S, Spontaneous and 2-DG induced metabolic changes and feeling: the ischymetric hypothesis. *Brain Res Bull* 1985; 15:429-35.
44. Lavau MM, Hasmim SA, Effect of medium-chain triglyceride on lipogenesis and body fat in the rat. *J.Nutr.* 1978; 108: 613-620.
45. Greelen JHM, Medium-chain fatty acids as short-term regulators of hepatic lipogenesis. *Biochem J* 1994; 302: 141-146.

46. Nosaka N, Hideaki M, Suzuki Y, Haruna H, Ohara A, Kasai M, Tsuji H, Aoyama T, Okazaki M, Igarashi O, Kondo K, Effects of margarine containing medium-chain triacylglycerols on body fat reduction in humans. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2003; (10): 239-0832.
47. Hill JO, Peters JC, Swift LL, Yang D, Sharp T, Abumrad N, Greene HL, Changes in blood lipids during six days overfeeding with medium or long chain triglycerides. *J Lipid Res* 1990; 31: 4016.
48. Socha P, Koletzko B, Demmelmair H, Jankowska I, Stajniak A, Makaruk-Bednarska M, Socha J, Short-term effects of parenteral nutrition of cholestatic infants with lipid emulsions based on medium-chain and long-chain triacylglycerols. *Elsevier Inc.* 2007; 23: 121-126.
49. Roe CR, Mochel F, Anaplerotic diet therapy in inherited metabolic disease: therapeutic potential. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29:332-340.
50. Roe CR, Sweetman L, Roe DS, David F and Brunengraber H, Treatment of cardiomyopathy and rhabdomyolysis in long-chain fat oxidation disorders using an anaplerotic odd-chain triglyceride. *J Clin Invest.* 2002; 110(2):259-69.
51. Mochel F, Pascale DGT, Henri B, Kiman RP, Robier D, Chales R, Roe J, Saudubray M. Pyruvate carboxylase deficiency: clinical and biochemical response to anaplerotic diet therapy. *Molecular Genetics and Metabolism* 2004; 84: 305-302
52. Ataíde TR, Síntese química da dienantina e da trienantina e avaliação toxicológica do consumo crônico em ratos. Tese de Doutorado; 2004, Maceió, Alagoas.

2.2 ARTIGO DE RESULTADOS

Lucena ALM, Lima SO, Ataíde TR, Silva AX, Oliveira MR, Souza TMP, Mendonça CR, Lima CMF, Cabral Jr CR, Balwani MCLV. *Avaliação toxicológica subcrônica de dieta cetogênica à base de trienantina em ratos jovens.*

RESUMO

Para avaliar a toxicidade subcrônica da dieta cetogênica à base de trienantina, ratos machos *Wistar* jovens foram divididos em 3 grupos, recebendo as dietas Controle, Cetogênica à base de trienantina ou Cetogênica à base de soja, por 6 semanas. O perfil lipídico e as provas de função e lesão hepática e renal foram determinados no soro e fragmentos de fígado, estômago, rim e intestino delgado foram coletados para a análise histológica. Os animais do grupo de dieta Cetogênica à base de trienantina exibiram ganho de peso inferior em relação aos do grupo controle, entre a segunda e quinta semanas de experimento. Ao final do estudo, todos os grupos apresentaram pesos equivalentes. Não houve diferenças significativas entre os três grupos quanto aos marcadores bioquímicos. Detectou-se infiltração lipídica nos hepatócitos de maneira semelhante para os três grupos. A dieta cetogênica à base de trienantina não promoveu efeitos tóxicos, nas condições do presente estudo.

Palavras-chave: dieta cetogênica, trienantina, TCM, avaliação toxicológica

ABSTRACT

To evaluate the subchronic toxicity of a ketogenic diet with a trienantin base, male *Wistar* rats were allocated into three groups and received either a Control diet, or a Ketogenic diet with a base of trienantin, or Ketogenic diet with a base of soya oil, for 6 weeks. The lipid profile and the proofs of hepatic and renal function and injury were determined from serum and samples of liver, stomach, kidney and small intestine were collected for histological analysis. The animals from the group given the ketogenic diet with trienantin base exhibited a lower weight gain in relation to the control group between the second and fifth week of the experiment. At the end of the study, both groups exhibited equivalent weights. There were no significant differences between the biochemical markers of three groups. Lipid infiltration of the hepatocytes was detected in a similar manner amongst the three groups. The ketogenic diet with a trienantin base did not promote toxic effects under the conditions of this study.

Key words: ketogenic diet, trienantin, MCT, toxicological evaluation.

INTRODUÇÃO

A dieta cetogênica vem sendo utilizada como tratamento em várias desordens que afetam o metabolismo e a função cerebral, como, por exemplo, defeitos no transporte de glicose e mitocondriopatias¹. Particularmente nos casos de epilepsia, seu emprego tem contribuído para minimizar as convulsões associadas à enfermidade, em pacientes resistentes ao uso de medicamentos². A eficácia dessa manipulação dietética, em casos dessa natureza, tem sido bem estabelecida, pois mais de dois terços das crianças, que se mantêm sob esse tratamento, exibem mais de cinquenta por cento de melhora das convulsões³.

Essa dieta é caracterizada por uma alta concentração de lipídeos e, ao mesmo tempo, por uma baixa concentração de carboidratos e proteínas, tendo que exceder uma proporção de 1,5:1 (lipídeos:carboidratos+proteínas), para promover cetonemia e cetonúria. Em pacientes epiléticos e em animais experimentais têm-se utilizado proporções que podem variar de 3:1 a 9:1³. Os triacilgliceróis de cadeia longa (TCL) são os mais utilizados para elaboração das dietas cetogênicas; entretanto, os triacilgliceróis de cadeia média (TCM) vêm sendo considerados como fonte lipídica para o tratamento dietético daqueles pacientes, uma vez que, em virtude de suas características químicas, são digeridos, absorvidos e oxidados com mais facilidade, sendo removidos mais rapidamente da circulação, quando comparados com os TCL^{4,5,6,7}. Além disso, quando metabolizados no fígado, levam à formação de corpos cetônicos de forma mais acelerada, não sofrendo influência de fatores hormonais ou nutricionais⁸. Tornam-se, desse modo, uma fonte lipídica potencialmente interessante para portadores de epilepsia.

Adicionalmente, estudos experimentais e a própria prática clínica indicam que o emprego terapêutico dos TCL pode levar a várias complicações, relatando-se, em

algumas pesquisas, efeitos colaterais adversos, como hipercolesterolemias^{5,9,10,11,12}. Tais complicações podem representar limitações na administração da dieta cetogênica, no tratamento dos portadores de epilepsia. Por outro lado, os possíveis efeitos adversos dos TCM, nesse contexto, são menos explorados.

A repercussão do uso de TCM, em concentrações não cetogênicas, através de sua aplicação no tratamento de algumas desordens, como em estados de hipercatabolismo (por exemplo, câncer e insuficiências renal e hepática) e nas disfunções do tubo gastrointestinal⁸, parece estar mais clara. Relatos de alguns estudos incluem diminuição do tecido gorduroso e de algumas circunferências corpóreas⁶ e níveis sanguíneos alterados de triacilgliceróis, havendo indicações controversas de diminuição¹³ e aumento^{14,15} desse parâmetro. Outro efeito mencionado consiste no aumento da saciedade; nesse caso, a sua capacidade de poupar a glicose sangüínea, provavelmente evita que níveis baixos deste nutriente ativem o centro da fome, levando, conseqüentemente, à diminuição na ingestão intestinal dos nutrientes encontrados na dieta ofertada¹³.

O uso da trienantina, um triacilglicerol de cadeia média do ácido graxo enântico (heptanóico; 7:0), foi relatado no tratamento da deficiência da piruvato carboxilase¹⁶ e, ainda, em pacientes com alterações na oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, causando sua rápida recuperação, com desaparecimento da fraqueza muscular e melhora da cardiopatia, que são características desse distúrbio metabólico¹⁷. Por outro lado, uma avaliação toxicológica em ratos, em único estudo realizado no gênero, por nosso grupo de pesquisa, demonstrou que, após nove meses de consumo, a trienantina produziu coeficientes de digestibilidade lipídica e de eficiência alimentar satisfatórios, não sendo, ainda, constatados sinais de hepatotoxicidade, nem alterações das morfologias intestinal e renal¹⁸. Verifica-se,

portanto, que, mesmo um número escasso de estudos, parece indicar implicações favoráveis do uso terapêutico da trienantina. Desse modo, fazem-se necessárias pesquisas adicionais que esclareçam a repercussão metabólica desse triacilglicerol de cadeia média, para que sua aplicação, inclusive nas proporções de uma dieta cetogênica, venha a representar uma alternativa terapêutica eficaz e segura e para que seus efeitos promissores, já relatados, possam ser ampliados para outras situações clínicas. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade do consumo subcrônico de uma dieta cetogênica à base de trienantina em ratos machos *Wistar*.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Ratos machos *Wistar* (n=30), recém-desmamados, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas (BIOCEN/UFAL), foram pesados e acondicionados individualmente, em gaiolas metabólicas, no Biotério Setorial da Faculdade de Nutrição da UFAL (20-24°C; ciclo claro/escuro de 12 horas). As dietas foram fornecidas *ad libitum*, durante sete semanas, considerando o período inicial de adaptação de uma semana. A quantidade de dieta consumida e o ganho ponderal dos animais foram registrados semanalmente.

O uso de animais nesse experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFAL, vinculado ao Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (CNS/MS/Brasil), baseado em normas internacionais (Declaração Universal dos Direitos do Animal, UNESCO, 15/10/1978) e nacionais (Lei 6.638 de 08/05/1979).

Tratamentos dietéticos

Os animais foram divididos em três diferentes grupos, de modo a garantir a distribuição homogênea de peso no início do período experimental, e denominados, de acordo com a dieta oferecida, como se segue: **Controle** (AIN-93G¹⁹; 7% de lipídeos), **CetoTAGC₇** (dieta cetogênica à base de trienantina; 67,5% de lipídeos) e **CetoTAGSoja** (dieta cetogênica à base de óleo de soja; 67,5% de lipídeos). A dieta controle apresentou uma proporção de lipídeos:carboidratos+proteína de 1:11,8, enquanto as duas dietas cetogênicas, de 3,5:1. A CetoTAGsoja foi constituída por 40% de margarina e 29,79% de óleo de soja e a CetoTAGC₇, por 4% de óleo de soja, 40% de margarina e 25,79% de trienantina (Tabela 1). A margarina foi utilizada nas dietas cetogênicas com a finalidade de melhorar a consistência e garantir a homogeneidade das formulações.

Os ingredientes utilizados para elaboração das dietas foram fornecidos pela Rhoster (São Paulo, Brasil), com exceção da margarina, do óleo de soja e do amido de milho, adquiridos no comércio local, e a trienantina, fornecida por *stéarinerie Dubois* (Boulogne-Billancourt, França).

Eficiência alimentar

A qualidade global das dietas ofertadas e sua repercussão no crescimento dos animais, denominada como eficiência alimentar, foi calculada, para o período experimental, por intermédio da seguinte fórmula:

$$\text{Coeficiência de eficiência alimentar} = \text{ganho de peso(g) no período} / \text{ingestão total (g)} \times 100$$

Tabela 1. Composição das dietas Controle, CetoTAGC₇ e CetoTAGSoja

Constituintes (g/kg)	Controle (AIN-93G)*	Dietas Cetogênicas	
		CetoTAGC ₇	CetoTAGSoja
Amido de milho	495,9	0	0
Amido de milho dextrinizado	132,0	0	0
Caseína	200	200	200
Celulose	50	50	50
Mix mineral AIN-93 G	35	35	35
Mix vitamina AIN-93	10	10	10
L-cisteína	3	3	3
L-metionina	1,6	1,6	1,6
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5
l-Butilhidroquinona (mg/kg)	14	139,58	139,58
Óleo de soja	70	40	297,9
Trienantina	0	257,9	0
Margarina	0	400	400

*Reeves et al.¹⁹

Análises bioquímicas

Ao final do período experimental, após jejum de 12 horas, os ratos receberam uma injeção intraperitoneal de solução anestésica de uretana+cloralose (1000 mg/kg+40 mg/kg). O sangue coletado via plexo vascular retro-orbital, com auxílio de tubo capilar para micro-hematócrito, foi centrifugado (3500 x g, 20 min) para a obtenção do soro, que foi encaminhado a um laboratório de análises clínicas da rede local. Foram determinados os seguintes parâmetros bioquímicos: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (γ -GT), albumina, proteínas totais, uréia, creatinina, ácido úrico, triacilgliceróis, colesterol total, HDLc (*high density lipoprotein cholesterol*), VLDLc (*very low density lipoprotein cholesterol*), LDLc (*low density lipoprotein*

cholesterol) e glicose. As determinações de VLDLc e de LDLc foram estimadas pela fórmula de Friedewald *et al.*²⁰ (VLDLc = triacilgliceróis ÷ 5; LDLc = colesterol total – HDLc – triacilgliceróis/5).

Análises histológicas do fígado, rins e intestino delgado

Após a retirada do sangue, os animais foram sacrificados por meio de deslocamento cervical; em seguida, procedeu-se à dissecação do intestino delgado, do estômago, do fígado e do rim (adotou-se, como referência, o rim esquerdo). Depois de fixados em formol a 10%, os órgãos foram clivados, adotando-se cortes longitudinais para o rim e transversais para o fígado, estômago e para os terços médios do duodeno e do jejuno; as alterações macroscópicas dos órgãos, quando presentes, foram igualmente consideradas para análise histológica. Os fragmentos obtidos foram processados, incluídos em parafina e corados pelo método hematoxilina-eosina (HE), para a elaboração das lâminas histológicas.

A esteatose hepática, quando presente, foi classificada, de acordo com o padrão de distribuição das infiltrações lipídicas no parênquima hepático, em: leve, levemente moderada, moderada e grave, segundo classificação adotada em trabalho anterior do grupo¹⁸ (Figura 1).

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados, após verificação dos pressupostos para análise paramétrica, através de análise de variância (ANOVA) e teste F de Snedecor. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey. Para significância e associação entre as freqüências das variáveis categóricas com distribuição binomial (dicotômicas) e ou codificadas de 1 até *i*-ésimo grau de estadiamento, usou-se o teste do Qui-quadrado de Pearson (χ^2). Como nível de significância, adotou-se até 5 % de

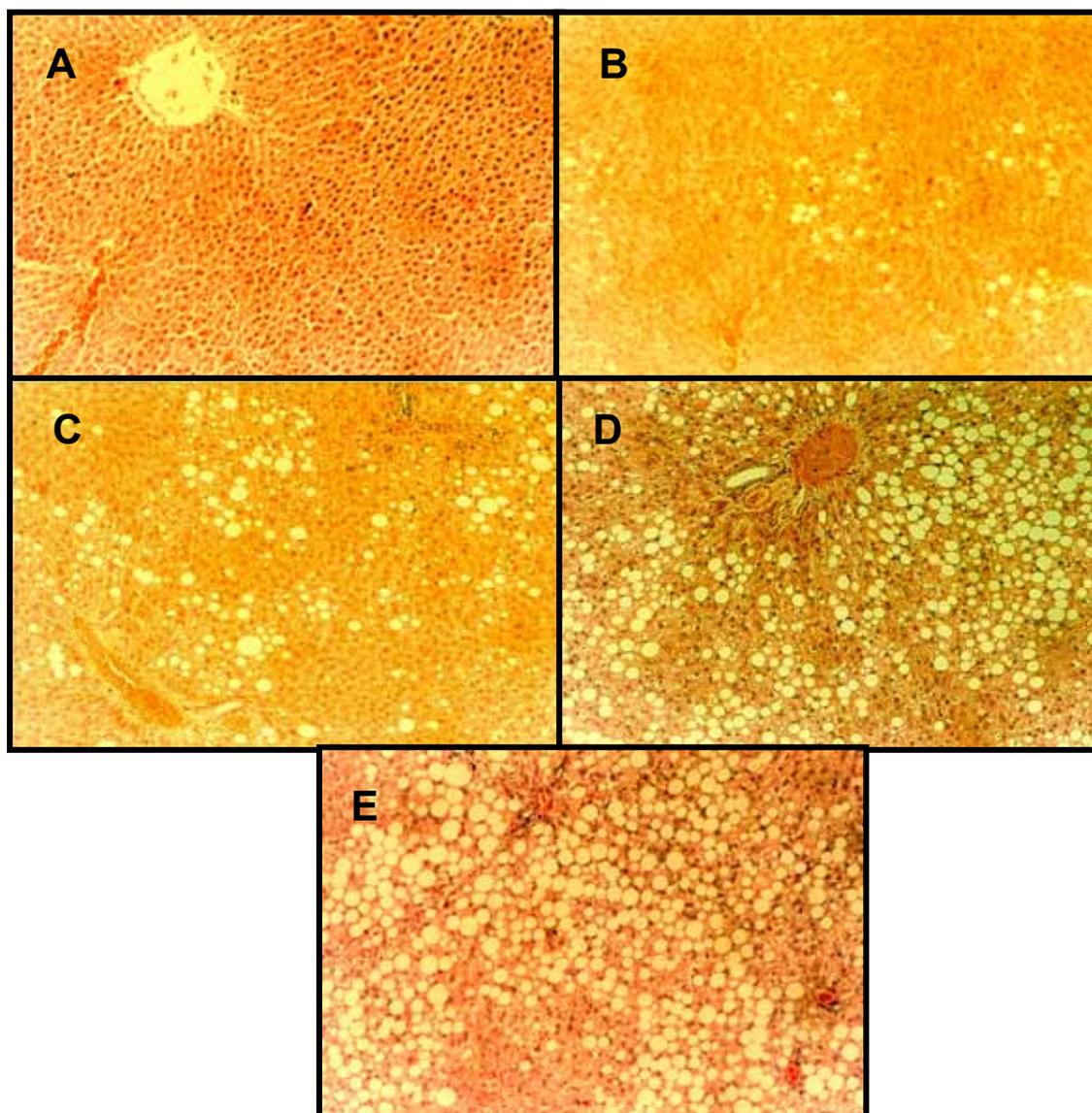


Figura 1 Classificação da infiltração lipídica no parênquima hepático: **A:** Grau 0, ausência de esteatose; **B:** Grau I, leve; **C:** Grau II, levemente moderada; **D:** Grau III, moderado; **E:** Grau IV, grave.

erro experimental. Utilizou-se o pacote estatístico SPSS Versão 15.0.

RESULTADOS

Peso e ingestão alimentar

Avaliando-se a variação de peso em todo o período experimental, verifica-se que os grupos que receberam as dietas cetogênicas (CetoTAGC₇, 92,00±32,37 g/kg; CetoTAGSoja, 109,31±30,2 g/kg) não apresentaram diferença significativa ($P \geq 0,05$) para ganho de peso; apenas o grupo CetoTAGC₇ diferiu daquele alimentado com a dieta controle (124,33±16,72 g/kg) ($P < 0,05$).

A evolução ponderal dos animais, durante o período experimental, pode ser observada na Figura 2. Verifica-se que o grupo CetoTAGC₇ apresentou peso inferior ao grupo Controle a partir da segunda semana do experimento, diferença que se manteve até a quinta semana; na sexta semana, os pesos de ambos os grupos foram equivalentes. Por outro lado, os animais do grupo CetoTAGSoja exibiram valores semelhantes ao grupo Controle em todo o período estudado, apresentando uma tendência de menor peso em relação ao grupo padrão apenas na terceira semana do experimento ($P = 0,064$).

Comparando-se os dois grupos cetogênicos, observa-se que não houve diferença significativa entre os valores de peso, no curso de todo o período experimental; no entanto, observou-se uma tendência ($P = 0,057$), apenas na quinta semana, dos animais do grupo CetoTAGC₇ apresentarem um menor peso.

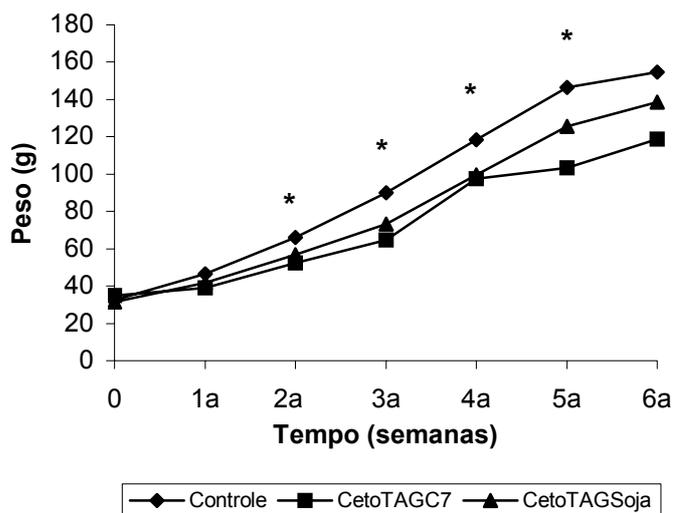


Figura 2 Evolução ponderal dos ratos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC₇ e CetoTAGSoja. O asterisco indica diferença significativa entre os grupos Controle e CetoTAGC₇, a cada semana de período experimental, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os dados relativos à ingestão e à eficiência alimentar podem ser observados na Tabela 2. Considerando-se a ingestão alimentar no período experimental, percebe-se que os grupos cetogênicos consumiram quantidade de ração equivalente entre si e menor do que o grupo controle (P<0,01); entretanto, o valor energético da cota total de ração ingerida foi similar entre todos os grupos. No que diz respeito aos resultados referentes à eficiência alimentar, mesmo que apenas a dieta cetogênica com trienantina tenha promovido redução de peso, em relação à dieta padrão, com consumo equivalente de energia, os dois grupos cetogênicos apresentaram valores similares entre si e inferiores ao grupo controle.

Tabela 2. Valores médios de ingestão total e eficiência alimentar nos grupos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC₇ e CetoTAGSoja, por 6 semanas

Variáveis	Controle	CetoTAGC ₇	CetoTAGSoja
Ingestão total (g)	428,7±74,4 ^a	223,8± 61,2 ^b	261,5±59,9 ^b
CEA	3,2±0,7 ^a	2,6±0,3 ^b	2,5±0,4 ^b
Consumo energético(kcal)	1492,6±259,1 ^a	1527,8±416,8 ^a	1788,8±356,3 ^a

CEA= coeficiente de eficiência alimentar

Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey, (P<0,01).

Análises bioquímicas

Os valores referentes ao perfil lipídico sérico e à glicemia são apresentados na Tabela 3. Observa-se que não houve diferença significativa no que diz respeito a esses parâmetros entre os grupos de animais estudados. Resultado semelhante foi verificado para os marcadores da função e da lesão hepática e renal, não se detectando, através dos indicadores selecionados, alterações funcionais nem comprometimento da integridade tecidual promovidos pelas dietas cetogênicas estudadas (Tabela 3).

Análises histológicas

A única alteração encontrada nas avaliações de todos os tecidos coletados dos animais dos três grupos estudados foi a presença de infiltrações lipídicas nos hepatócitos. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos com relação à presença e à severidade da esteatose observada (Figura 3).

Tabela 3. Marcadores bioquímicos séricos nos ratos submetidos às dietas Controle, CetoTAGC₇ e CetoTAGSoja, por 6 semanas

Marcadores Bioquímicos*	Controle	CetoTAGC₇	CetoTAGSoja
Triacilgliceróis	77,5±26,67 ^a	105,2±42,2 ^a	110,3±42,5 ^a
Colesterol	74,7±20,45 ^a	97,5±47,8 ^a	63,0±21,8 ^a
VLDLc**	15,5±5,33 ^a	20,1±8,5 ^a	22,1±8,5 ^a
LDLc**	31,4±15,08 ^a	47,1±39,9 ^a	20,9±11,7 ^a
HDLc**	34,5±14,07 ^a	35,4±8,3 ^a	30,7±12,1 ^a
LDLc/HDLc	1,1±0,71 ^a	1,9±0,9 ^a	0,7±0,0 ^a
Glicose	136,0±14,38 ^a	167,4±56,5 ^a	167,4± 21,5 ^a
FA**	198±4,32 ^a	232,2±99,31	212,7±104,5 ^a
AST**	270±247,1 ^a	303,6±189,1 ^a	275,1±108,3 ^a
ALT**	108,8±34,0 ^a	132,7±76,4 ^a	115,1±30,2 ^a
γ-GT**	2,7±0,5 ^a	4,2±1,5 ^a	3,8±3,2 ^a
Proteínas totais	5,0±0,2 ^a	4,8±0,2 ^a	4,8±0,3 ^a
Albumina	1,2±0,1 ^a	1,1±0,15 ^a	1,2±0,1 ^a
Creatinina	0,4±0,10 ^a	0,6±0,04 ^a	0,4±0,2 ^a
Uréia	28,1±7,4 ^a	42,2±18,3 ^a	39,9±10,9 ^a
Ácido úrico	2,1±7,4 ^a	1,9± 0,7 ^a	1,8±0,7 ^a

* Média ± desvio-padrão.

** VLDLc= very low density lipoprotein cholesterol, LDLc= low density lipoprotein cholesterol, HDLc=high density lipoprotein cholesterol, FA= fosfatase alcalina, AST= aspartato aminotransferase, ALT= alanina aminotransferase, γ-GT= gama-glutamil transferase.

Letras semelhantes na mesma linha indicam que não houve diferenças significativas, pelo teste de Tukey (P> 0,05).

O caso de maior severidade detectado no presente estudo foi classificado como moderado (Grau III), observado no grupo CetoTAGC₇. Por outro lado, neste grupo só foram verificados dois casos de infiltração lipídica, ao contrário dos grupos Controle e CetoTAGSoja, em que foram observados cinco casos em cada grupo.

Os cortes renais, intestinais e gástricos apresentaram-se bastante conservados, com arquitetura morfológica preservada, em todos os grupos estudados.

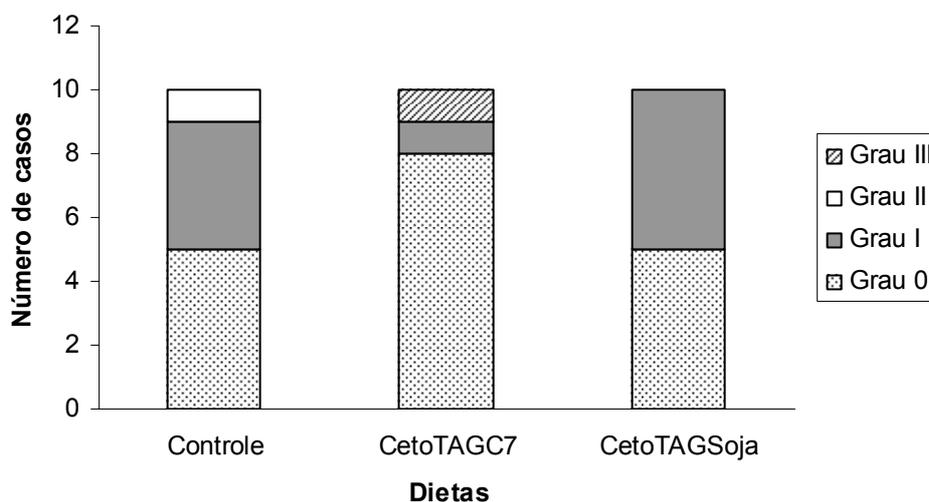


Figura 3. Infiltração lipídica observada nos animais submetidos às dietas Controle, CetoTAGC₇ e CetoTAGSoja, por seis semanas. Não houve diferença significativa entre os três grupos pelo teste χ^2 ($P \geq 0,05\%$).

DISCUSSÃO

A capacidade dos roedores em adaptar sua ingestão alimentar a restrições dietéticas que lhe são impostas é um fenômeno reconhecido²¹. No presente caso, as diferentes repercussões produzidas pelos dois tipos de regime cetogênico, à base de TCL ou TCM, na evolução ponderal dos animais, quando comparados ao grupo Controle, parece indicar um ritmo e/ou mecanismo diferenciados de compensação ao desafio de consumir quantidade restrita de carboidratos e elevada de lipídeos, em proporções muito distintas do padrão fisiológico. A utilização de TCM, mais

especificamente trienantina, nas condições do presente estudo, embora não tenha produzido menores valores de ganho de peso que o emprego de TCL, resultou em ganho de peso inferior ao grupo padrão, diferença que se estabeleceu a partir da segunda semana de exposição à dieta e se manteve pela maior parte do período estudado. A dieta cetogênica à base de óleo de soja, reproduzindo a dieta clássica, por outro lado, exerceu influência equivalente às duas outras dietas estabelecidas, promovendo uma curva de crescimento intermediária entre os outros dois grupos de animais.

Embora em contexto diverso da dieta cetogênica, Krotkiewski²², investigando o efeito de suplementação com TCM, detectou semelhante adaptação em estudo clínico com mulheres adultas, em que a redução de peso observada, nas duas primeiras semanas de tratamento, em indivíduos submetidos a uma dieta enriquecida com TCM, em relação ao grupo controle, desapareceu, registrando-se pesos equivalentes para os dois grupos, nas duas últimas semanas de estudo.

O fato de vários pacientes fazerem uso da dieta cetogênica clássica para tratar não só a epilepsia refratária a medicamentos, como também desordens metabólicas, a exemplo da deficiência de piruvato desidrogenase e fosfofrutoquinase^{23,24,25}, motiva a realização de pesquisas experimentais, com o objetivo de otimização desse tratamento dietético, testando, por exemplo, a substituição do substrato energético, de TCL por TCM^{5,26,27}. No entanto, estudos que monitoram as alterações de peso de animais, resultantes da utilização de diferentes fontes lipídicas, em contexto cetogênico, são escassos. Por outro lado, em proporções não cetogênicas, Lavau & Hasmim²⁸ observaram um menor ganho de peso nos animais, quando ofertaram uma dieta constituída de TCM (55% das Kcal ofertadas), em vez de TCL, após dois meses de tratamento. Han *et al.*²⁹

encontraram resultados semelhantes, decorrentes da substituição de TCL por TCM, por um período menor de tempo, após um mês de tratamento.

Ainda que se considerem apenas os dados relativos à influência da dieta cetogênica à base de TCL no peso, verificam-se resultados controversos. Como no presente caso, Zhou *et al.*³⁰ não observaram diferenças entre os animais alimentados com uma dieta cetogênica clássica (4:1) e aqueles alimentados com uma dieta padrão, após oito dias de tratamento. De maneira diversa, outros relatos indicaram redução de peso, com apenas quatro³¹ e sete dias³² de tratamento cetogênico (6:1). De qualquer modo, mesmo que no presente estudo não se tenha detectado efeito da dieta à base de TCL no peso dos animais, verificou-se redução de peso com a substituição por trienantina, em comparação ao grupo padrão.

A substituição da fonte lipídica convencional, em proporção não cetogênica, também foi testada em humanos. Nosaka *et al.*⁶ observaram valores de peso inferiores nos indivíduos que receberam uma dieta contendo 5g de TCM (em substituição de TCL), por um período de doze semanas, quando em comparação ao grupo alimentado com uma dieta contendo apenas TCL. No entanto, encontram-se relatos divergentes em tratamentos estabelecidos por períodos de tempo variáveis. Asakura *et al.*³³ não detectaram diferença de peso entre dois grupos de indivíduos, tratados por 12 meses, com dieta constituída de TCM ou à base de óleo de milho, tal como Hill *et al.*³⁴, em indivíduos alimentados com uma dieta contendo 40% da energia provenientes de TCM, por um período de seis dias, em relação ao grupo padrão.

A repercussão da dieta cetogênica no ganho de peso representa tema de particular preocupação no tratamento de crianças, grupo alvo freqüente dessa terapia. Vining *et al.*³⁵, em um estudo realizado com pacientes de zero a dez anos de

idade, verificaram que houve um comprometimento do ganho de peso nos três primeiros meses de ingestão da dieta cetogênica clássica, embora eles tenham mantido um crescimento dentro dos padrões da normalidade, ao final do tratamento. Liu *et al.*⁶ observaram que tanto dietas à base de TCL como de TCM proporcionaram uma diminuição no peso das crianças, de um a dezesseis anos, após quatro meses de tratamento. Nebeling *et al.*⁹, em seu relato clínico sobre a dieta cetogênica e a sua aplicabilidade em crianças portadoras de câncer cerebral, já relatavam a importância de uma maior oferta energética, ao se ministrar a dieta cetogênica, com o fim de evitar um déficit de peso capaz de comprometer o desenvolvimento normal das crianças submetidas ao tratamento. Por outro lado, Krotkiewski²² caracterizou a perda de peso em mulheres submetidas a uma dieta enriquecida com TCM como decorrente de uma maior metabolização do tecido adiposo, o que poderia indicar um comprometimento de menor gravidade, se o mesmo padrão for observado em crianças.

A utilização dos ácidos graxos de cadeia média como tratamento dietético na redução da gordura corpórea é relatada em algumas publicações^{35,36,37}. Alguns mecanismos fisiológicos que justificassem tal alteração metabólica foram propostos por pesquisadores da área. Lavau & Hasmim²⁸, em 1978, já consideravam a possibilidade de um efeito direto dos TCM sobre o tecido adiposo. Posteriormente, Han *et al.*²⁹ sugeriram que os ácidos graxos de cadeia média podem exercer uma regulação a longo prazo no metabolismo dos ácidos graxos nos adipócitos, considerando os resultados encontrados em animais alimentados com TCM, destacadamente a atividade reduzida da lipase lipoprotéica, enzima responsável pela incorporação dos lipídeos sanguíneos pelo tecido adiposo, e a supressão do RNAm do PPAR γ ², responsável pela regulação do metabolismo e diferenciação dos

adipócitos. Bach *et al.*³⁸ e Guo *et al.*⁷ fizeram menção, ainda, à intensa oxidação de ácidos graxos de cadeia média pelo fígado, reduzindo, assim, a quantidade de substratos disponíveis para a formação de triacilgliceróis pelo tecido adiposo. Um mecanismo adicional foi sugerido por Wymelbeke *et al.*¹³, que estabeleceram uma relação entre pico retardado de insulina e glicose sanguíneas e uma menor ingestão alimentar em voluntários que fizeram uso de uma refeição acrescida de TCM.

As repercussões metabólicas da dieta cetogênica à base de TCM são um parâmetro importante para se avaliar sua toxicidade. Entretanto, a literatura compreende um número limitado de investigações dessa natureza. Por outro lado, estudos sobre o efeito dessas substâncias lipídicas, em contextos diferentes do estabelecido no presente, podem contribuir de maneira significativa para a discussão das implicações do uso terapêutico de TCM.

O perfil lipídico sangüíneo, influenciado pela ingestão de lipídeos dietéticos, é um importante marcador biológico associado ao desenvolvimento de doenças cardíacas e da aterosclerose, patologias que vêm apresentando altos índices de crescimento nos últimos anos^{39,40}. Em conformidade com o presente resultado, embora em proporções não cetogênicas, alguns estudos, administrando ácidos graxos de cadeia média a animais de experimentação, observaram um perfil lipídico considerado normal, quando comparado a um grupo controle^{30,12,41}.

Experiências clínicas, por outro lado, indicam um panorama controverso. Enquanto alguns estudos detectaram níveis normais de triacilgliceróis e lipoproteínas séricas^{22,41,42}, decorrentes do uso de TCM, outros constataram uma elevação dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis, de colesterol, de LDLc e de VLDLc^{15,41,43} ou uma diminuição nos níveis de VLDL e HDL⁶. Parte dessa divergência pode ser explicada pelos diferentes protocolos de administração de TCM

utilizados. Ainda assim, mecanismos contraditórios são associados ao efeito do uso de TCM no perfil lipídico, considerando tanto a diminuição do *pool* hepático de ácidos graxos pela rápida degradação sofrida pelos ácidos graxos de cadeia média, com desprendimento de energia^{35,44}, como a síntese *de novo* e/ ou alongação e dessaturação dos lipídeos hepáticos, promovida pela formação excessiva de grupamentos acetila, liberados a partir da β -oxidação dos ácidos graxos de cadeia média^{34,43}.

No que se diz respeito à repercussão da terapia com TCM na glicemia, refere-se um mecanismo de competição entre a glicose e os ácidos graxos, resultando em uma possível diminuição da captação da mesma pelos tecidos, aumentando, conseqüentemente, seu nível no sangue^{45,46}. Contrariamente, os grupos submetidos ao tratamento cetogênico, no presente caso, não apresentaram valores de glicemia distintos do grupo controle. Cheng *et al.*³², por sua vez, observaram níveis reduzidos de glicose sanguínea nos ratos alimentados com uma dieta cetogênica clássica (6:1), em um período menor de tempo (sete dias), tendo como referência o grupo controle. Em humanos, níveis normais^{6,13,42} e elevados de glicose¹⁵ já foram documentados.

A presença de cálculo renal é freqüentemente relatada em sujeitos que fazem uso de dieta cetogênica^{47,48,49}. Embora a causa dessa alteração ainda não esteja esclarecida, sugere-se que seja provocada pela desidratação, muito freqüente, decorrente da fase de implantação desse tratamento dietético⁵⁰. No contexto do presente estudo, os animais que receberam as dietas CetoTAGC₇ e CetoTAGSoja não apresentaram quaisquer alterações nos marcadores da função e lesão renal, inclusive, nos níveis séricos de ácido úrico, um dos principais marcadores sanguíneos de cálculo renal⁵¹.

No que se refere aos marcadores de função e lesão hepáticas, os resultados do presente estudo confirmam os dados encontrados em um estudo prévio de nosso grupo, em que houve uma substituição parcial dos TCL de uma dieta padrão por trienantina¹⁸, sem qualquer alteração nestes parâmetros. Já Kono *et al.*⁵² observaram um efeito hepatoprotetor dos TCM no grupo dos animais alimentados com 5g/kg de ácidos graxos de cadeia média que apresentaram uma menor taxa de mortalidade ao serem infectados com uma bactéria gram-negativa. Em humanos, não foram observados efeitos adversos sobre a função hepática, após a administração de concentrações entre 5 a 50 gramas de TCM^{6,26,42}.

Nas análises histológicas dos tecidos coletados, a única alteração observada no presente caso foi uma infiltração lipídica, que se distribuiu de forma homogênea nos ratos dos três grupos estudados, ou seja, a ingestão elevada de lipídeos não foi determinante no resultado encontrado. Han *et al.*²⁹ encontraram resultado semelhante, quando verificaram que animais alimentados com uma dieta elaborada com TCM, durante dois meses, não apresentaram diferenças significativas, no que se refere à infiltração lipídica, quando comparados ao grupo alimentado com uma dieta à base de TCL. Entretanto, relatos anteriores indicam a possibilidade dos TCM exercerem efeitos lipogênicos nos hepatócitos^{28,54}.

A presença difusa de esteatose nos grupos de animais investigados no presente não decorreu da influência de variáveis não-controladas. Em experiência anterior do grupo, em que se detectou semelhante fenômeno, o estabelecimento de um grupo adicional, alimentado com dieta de formulação distinta (comercial) àquela da dieta de base utilizada naquele experimento (AIN-93), que não apresentou esteatose, comprovou esse fato. Na verdade, a composição da dieta pode promover a ocorrência de esteatose hepática, princípio utilizado na determinação de modelos

experimentais de esteatose e esteato-hepatite^{55,56}. Nesse sentido, casos de esteatose hepática associados ao uso da dieta de referência AIN-93 têm sido relatados (dados não publicados). Por essa razão, a influência da dieta não pode ser descartada no presente estudo.

Diante dos resultados encontrados, conclui-se que a dieta cetogênica à base do TCM trienantina pode se constituir, potencialmente, uma ferramenta terapêutica a ser considerada no tratamento de pacientes portadores de síndromes metabólicas e de epilepsia refratária. A ausência de efeito tóxico em proporções cetogênicas pode, adicionalmente, servir como parâmetro de referência na avaliação de segurança de sua aplicação no tratamento de outras desordens. No que diz respeito à repercussão desse tratamento sobre o crescimento, a redução detectada, nas condições do presente, sugere atenção quando da aplicação terapêutica em crianças. Para fins de redução de peso, por outro lado, o efeito temporário verificado nas condições da presente investigação, provavelmente, não justificaria a implantação de um regime de proporções de macro-nutrientes tão distinto do padrão fisiológico.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL) pela concessão da bolsa de Mestrado à Ana Luiza de Melo Lucena e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa concedida à Taísa Martins Porto de Souza.

Ao prof. Dr. Petrúcio Públio Pereira Barbosa, do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas (ICBS/UFAL), pela valiosa orientação na condução do experimento animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Taha AY, Ryan MAA, Stephen CC, Despite transient ketosis, the classic high-fat ketogenic diet induces marked changes in fatty acid metabolism in rats. *Metabolism Clinical and Experimental* 2005; (54): 1137-1132.
2. Kossoff EH, More fat and fewer seizures: dietary therapies for epilepsy. *Lancet Neurol* 2004; (3): 415–420.
3. Bough KJ, Yao SG, Eagles DA, Higher ketogenic diet ratios confer protection from seizures without neurotoxicity. *Epilepsy Research*, 2000 (38): 15–25.
4. Calabrese C, Myer S, Munson S, Tunet P, Birdsall TC, A cross-over study of effect of single oral feeding of medium-chain triglyceride oil vs. Canola oil on post-ingestion plasma triglyceride levels in healthy men. *Alternative Medicine Review* 1999; (4): 23-28.
5. Liu YC, Williams S, Basualdo-Hammond B, Stephens D, Curtis R, A prospective study: Growth and nutritional status of children treated with the ketogenic diet. *J Am Diet Assoc* 2003; (103):707-712.
6. Nosaka N, Hideaki M, Suzuki Y, Haruna H, Ohara A, Kasai M, Tsuji H, Aoyama T, Okazaki M, Igarashi O, Kondo K, Effects of margarine containing medium-chain triacylglycerols on body fat reduction in humans. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2003; (10): 239-0832.
7. Guo W, Xie W, Han J, Modulation of adipocyte lipogenesis by octanoate: involvement of reactive oxygen species. *Nutrition & metabolism* 2006; 3: 30.
8. Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procópio J, Entendendo as gorduras - Os ácidos graxos. Ed Manole. São Paulo, 2002
9. Nebeling LC, Lerner E, Implementing a ketogenic diet based on medium-chain triglyceride oil in pediatric patient with cancer. *J Am Diet Assoc* 1995; (95): 693-697.
10. Vining EPG, Clinical efficacy of the ketogenic diet. *Epilepsy Research* 1999; (37): 181–190.
11. Coppola G, Veggiotti P, Cusmai R, Bertoli S, Cardinali S, Dionisi-Vici C, Elia M, Lispi ML, Sarnelli C, Tagliabue A, Toraldo C, Pascotto A, The ketogenic diet in children, adolescents and young adult with refractory epilepsy: an Italian multicentric experience. *Epilepsy Research* 2002; (48):221–227.

12. Yeom KH, Schonewillw JTH, Everts H, Zoet JM, Beynen AC, Impact of dietary soybean oil versus medium-chain triglycerides on plasma fatty acids in goats. Elsevier Science B. V 2003; 48:201-208
13. Wymelbeke VV, Sylvestre-Louis J, Fantino M, Substrate oxidation and control of food intake in men after a fat-substitute meal compares with meals supplemented with an isonergetic load of carbohydrate. Long-chain triacylglycerols, or medium-chain triacylglycerols. American Society for Clinical Nutrition 2001; (74): 620-30.
14. Bourque C, St-Onge MP, Papamandjaris AA, Cohn JS, Consumption of an oil composed of medium chain triacylglycerols, phytosterols, and N-3 fatty acids improves cardiovascular risk profile in overweight women. Metabolism 2003; 52(6):771-7.
15. Tholstrup T, Ehnholm C, Jouhainen M, Petersen M, Hoy CE, Lund P, Sandstrom B, Effects of medium-chain and oleic acid on blood lipids lipoproteins, glucose, insulin, and lipid transfer protein activities. American Society for Clinical Nutrition 2003; 79:564-9.
16. Mochel F, Pascale DGT, Henri B, Kiman RP, Robier D, Chales R, Roe J, Saudubray M. Pyruvate carboxylase deficiency: clinical and biochemical response to anaplerotic diet therapy. Molecular Genetics and Metabolism 2004; 84: 305-302
17. Roe CR, Sweetman L, Roe DS, David F and Brunengraber H, Treatment of cardiomyopathy and rhabdomyolysis in long-chain fat oxidation disorders using an anaplerotic odd-chain triglyceride. J Clin Invest. 2002; 110(2):259-69.
18. Ataíde TR, Síntese química da dienantina e da trienantina e avaliação toxicológica do consumo crônico em ratos. Tese de Doutorado; 2004, Maceió, Alagoas.
19. Reeves GP, Symposium: Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research. J Nutri 1997; 127: 838-841
20. Friedewald WTRL, Levy, Fredrickson, Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18:499-502.
21. Wurtman RJ, Behavioral effects of nutrients. Lancet; 1983; 1:1145-1147
22. Krotkiewski M, Value of VLCD supplementation with medium chain triglycerides. Int J Obes Relat Metab Disord 2001; 25: 1393-1400.

23. Swoboda KJ, Specht L, Jones HR, Shapiro F, DiMauro S, Korson M, Infantile phosphofructokinase deficiency with arthrogryposis: clinical benefit of a ketogenic diet. *J Pediatr* 1998; 131:32–34.
24. Weber TA, Antognetti MR, Stacpoole PW, Caveats when considering Ketogenic diets for the treatment of pyruvate dehydrogenase complex deficiency. *J Pediatr* 2001; 138:390–395.
25. Fuehrlein BS, Rutenberg MS, Silver JN, Warren MW, Theriaque DW, Duncan GE, Stacpoole PW Brantly ML, Differential metabolic effects of saturated versus polyunsaturated fats in ketogenic diets. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2004; 89(4); 1641-1645.
26. Thavendiranathan P, Mendonça A, Dell C, Likhodii SS, Musa K, Iracleous C, Cunnane SC, Burnham WM, The MCT ketogenic diet: effects on animal seizure models. *Experimental Neurology* 2000; 161:696-703.
27. Magrath G, Macdonald A, Whitehouse W, Dietary practices and use of the ketogenic diet in the UK. *Health Science Journal* 2000; 9: 128-130.
28. Lavau MM, Hasmim AH, Effect of medium chain triglyceride on lipogenesis and Body Fat in the Rat. *J Nutr* 1978; 108:613-630.
29. Han J, Hamilton JA, Kirkland JL, Coerkey BE, Guo W, Medium-chain oil reduces fat mass and down regulates expression of adipogenic genes in rats. *Obesity Research* 2003; 11(6): 734-744.
30. Zhou W, Mukherjee P, Michael AK, Markis WT, Mantis J, Seyfried TN, The calorically restricted ketogenic diet, an effective alternative therapy for malignant brain cancer. *Nutrition and metabolism* 2007; 4:1743-1775.
31. Yamada AK, Rensing N, Thio LL, Ketogenic diet reduces hypoglycemia-induced neuronal death in Young rats. *Neuroscience letter* 2005; 385(3):210-214.
32. Cheng CM, Kelly B, Wang J, Sthaus D, Eagles DA, Bondy CA, A Ketogenic diet increases brain insulin-like growth factor receptor and glucose transporter gene expression. *Endocrinology* 2003; 144(6):2676-2682.
33. Asakura L, Lottenberg MP, Neves MQTS, Nunes VS, Rocha JC, Passarelli M, Nakandakare ER, Quintão ECR, Dietary medium-chain triacylglycerol prevents the postprandial rise of plasma triacylglycerols but induces hypercholesterolemia in primary hypertriglyceridemic subjects. *Am J Nutr* 2000; 71:701-5.

34. Hill JO , Peters JC, Swift LL , Yang D , Sharp T, Abumrad N, Greebe HL, Changes in blood lipids during six days overfeeding with medium or long chain triglycerides. *J Lipid Res* 1990; 31: 4016.
35. Vining EPG, Pyzik P, McGrogan J, Hladky H, Anand A, Kriegler S, Freeman J, Growth of children on the ketogenic diet. *Developmental medicine and child neurology* 2002; 44: 796-802.
36. Papamandjaris AA, MacDougall DE, Jones PJH, Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: obesity treatment implications. *Life sciences* 1998; 62 (14): 1203-1215.
37. St-Onge M, Jones PJH, Physiological effects of medium-chain triglycerides: potential agents in the prevention of obesity. *J. Nutr* 2002; 132: 329–332.
38. Bach AC, Babayan VK. Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr* 1982;36:950-62.
39. Stewart WJ, Murray LK, Beitz DC, Pork with content of polyunsaturated fatty acids lowers LDL cholesterol in women. *Am J Clin Nutr* 2000; 74: 179-87.
40. Zheng X, Avella M, Botham KM, Comparison of the effects n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on very-low-density lipoprotein secretion when delivered to hepatocytes in chylomicron remnants. *Biochem J* 2001; 357:481-487.
41. Toda T, Oku H, Effect of medium-chain fatty acids on cholesterolemia and atherosclerosis in Japanese's quails. *Nutrition Research* 1995; 15(1): 99-113.
42. Nosaka N, Kasai M, Nakamura M, Takahashi I, Itakura M, Takbuchi H, Aoyama T, Tsuji H, Okajaki M, Kondo K, Effects of dietary medium-chain triacylglycerols on serum lipoproteins and biochemical parameters in healthy men 2002; 68(8): 1713-1718.
43. Cater BN, Heller HJ, Denke MA, Comparison of effects of medium-chain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:41-5.
44. Kasai M, Maki H, Nosaka N, Aoyama T, Ooyama K, Uto H, Okazaki M, Igarashi O, Kondo K, Effect of medium-chain triglycerides on the postprandial triglyceride concentration in healthy men. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 2003;67(1): 46-53.

45. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA, The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*. 1963;13 (1):785-9.
46. Kelly DE, Mogan M, Simoneau JA, Mandarino LJ, Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in human skeletal muscle. *J. Clin. Invest* 1993; 92:91-98.
47. Kielb S, Koo HP, Bloom DA, Faerber GJ, Nephrolithiasis associated with the ketogenic diet. *Health Science Journal*, 2000; 164(2):464-6.
48. Groesbeck DK, Bluml RM, Kossoff EH, Long-term use of the ketogenic diet in treatment of epilepsy. *Developmental Medicine and Child Neurology* 2006; 48 (12): 978-81.
49. Sampath A, Kossoff EH, Furth SL, Pzvick PL, Vining EP, Kidney stones and the ketogenic diet; risk factors and prevention. *Journal of Child Neurology* 2007; 22(4):375-8.
50. Kim DW, Kang HC, Park JC, Kim HD, Benefits of the Nonfasting Ketogenic diet Compared With The Initial Fasting. *Pediatrics* 2004; 114: 1627-1630.
51. Heilberg IP, Renal Stone Disease: Causes, Evaluation and Medical Treatment. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50(4):823-831.
52. Kono H, Fujii H, Asakawa M, Yamamoto M, Matsuda M, Maki Akira, Matsumoto Y, Protective effects of médium-chain triglycerides on the liver and gut in rats administers endotoxix. *Ann sugr* 2002; 237(2): 246-255.
53. Ball MJ, Hematological and biochemical effects of parenteral nutrition with medium-chain triglycerides: comparison with long-chain triglycerides. *Am J Clin Nutr* 1991; 53(4): 946-22.
54. Greelen JHM, Medium-chain fatty acids as short-term regulators of hepatic lipogenesis. *Biochem J* 1994; 302: 141-146.
55. Koteish A, Diehl AM, Animal models of steatosis. *Seminars in Liver Disease* 2001; 21: 89-104.
56. Koteish, A, Diehl, AM, Animal models of steatohepatitis. *Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology* 2002; 16: 679-690.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elaboração de dietas cetogênicas à base de TCM para tratamento de portadores de epilepsia parece ser pertinente uma vez que suas características metabólicas podem refletir em uma melhor eficácia na diminuição das convulsões, além de possibilitar uma maior adesão ao tratamento, por torná-la mais flexível, no que se refere à composição de carboidratos e proteínas. Por outro lado, o impacto de dietas baseadas nessa classe de triacilgliceróis em parâmetros como peso e composição de membrana celular em termos de ácidos graxos essenciais, de cadeia longa, merecem especial cuidado, particularmente quando os pacientes em tratamento forem crianças. Sua influência sobre o perfil lipídico sanguíneo, ainda controversa, merece pesquisas adicionais. Como perspectiva, o conhecimento dos efeitos de novos compostos lipídicos pode trazer contribuição adicional aos efeitos benéficos da dieta cetogênica. Nesse sentido, destaca-se a trienantina, triacilglicerol do ácido graxo enântico, de número ímpar de átomos de carbono, que vem exibindo efeitos promissores no tratamento de desordens metabólicas raras.

A avaliação toxicológica do consumo subcrônico de dieta cetogênica à base de trienantina, realizada em ratos *Wistar*, por seis semanas, através do presente protocolo de pesquisa, confirmou a potencialidade desse TCM como uma ferramenta terapêutica a ser considerada no tratamento de pacientes portadores de síndromes metabólicas e de epilepsia refratária. A ausência de efeito tóxico em proporções cetogênicas pode, adicionalmente, servir como parâmetro de referência na avaliação de segurança de sua aplicação no tratamento de outras desordens. No que diz respeito à repercussão desse tratamento sobre o crescimento, a redução ponderal

detectada nas condições do presente estudo sugerem atenção quando da aplicação terapêutica em crianças. Para fins de redução de peso, por outro lado, o efeito temporário verificado nas condições da presente investigação, provavelmente, não justificaria a implantação de um regime de proporções de macro-nutrientes tão distinto do padrão fisiológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vamecq J, Vallée L, Lesage F, Gressens P, Stables JP. Antiepileptic popular ketogenic diet: emerging twists in an ancient story. *Progress in Neurobiology* 2004 75: 1-289.
2. Lefevre , Aronson N, Ketogenic Diet for the Treatment of Refractory Epilepsy in Children: A Systematic Review of Efficacy. *Pediatrics* 2000; 105-46.
3. Taha, AY, Ryan MAA, Stephen CC, Despite transient ketosis, the classic high- fat ketogenic diet induces marked changes in fatty acid metabolism in rats. *Metabolism Clinical and Experiment* 2005; (54): 1137-1132
4. Vicente HM, Garcia, GP, Gil NA, Lopez ME, Alamo C. Therapeutic approach to epilepsy from the nutritional view: current status of dietary treatment 2007; 60 (6): 234-8.
5. Yudkoff M, Daikhin Y, Nissim I, Lazarow A, Nissim I, Ketogenic diet, brain glutamate metabolism and seizure control, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 2003; 70: 277-285.
6. Calabrese C, Myer S, Munson S, Tunet P, Birdsall TC, A cross-over study on effect of single oral feeding on medium-chain triglyceride oil vs. Canola oil on post-ingestion plasma triacylglyceride levels in healthy men. *Alternative Medicine Review* 1999; 4: 23-28
7. Nosaka N, Hideaki M, Suzuki Y, Haruna H, Ohara A, Kasai M, Tsuji H, Aoyama T, Okazaki M, Igarashi O, Kondo K, Effects of margarine containing medium-chain triacylglycerols on body fat reduction in humans. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2003; 10: 239-0832
8. Thavendiranathan P, Mendonça A, Dell C, Likhodii SS, Musa K, Iracleous C, Cunnane SC, Burnham WM, The MCT Ketogenic Diet: Effects on Animal Seizure Models. *Experimental Neurology* 1999; 161: 696-703.
9. Roe CR, Sweetman L, Roe DS, David F, Brunengraber H, Treatment of cardiomyopathy and rhabdomyolysis in long-chain fat oxidation disorders using an anaplerotic odd-chain triglyceride. *J Clin Invest.* 2002 Jul;110(2):259-69.
10. Mochel F, Pascale DGT, Henri B, Kiman RP, Robier D, Chales R, Roe J, Saudubray M, Pyruvate carboxylase deficiency: clinical and biochemical response to anaplerotic diet therapy. *Molecular Genetics and Metabolism* 2004; 84: 305-3020

11. Ataíde TR, Síntese química da dienantina e da trienantina e avaliação toxicológica do consumo crônico em ratos. Tese de Doutorado; 2004, Maceió, Alagoas.