

Heloisa Balan Assalin

*Estresse oxidativo, alterações metabólicas e renais
decorrentes da elevada ingestão de sacarose: efeito
protetor da N-acetilcisteína (NAC)*

Monografia Conclusão Curso Ciências
Biológicas - Modalidade Médica

Botucatu - SP
2008

Heloisa Balan Assalin

Estresse oxidativo, alterações metabólicas e renais decorrentes da elevada ingestão de sacarose: efeito protetor da N-acetilcisteína (NAC)

Monografia para obtenção do título de Bacharel no Curso de Ciências Biológicas – Modalidade Médica, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista ‘Júlio de Mesquita Filho’, Campus Botucatu.

Orientadora: Professora Titular Dr^a. Ethel Lourenzi Barbosa Novelli

Botucatu - SP
2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Assalin, Heloisa Balan.

Estresse oxidativo, alterações metabólicas e renais decorrentes da elevada ingestão de sacarose: efeito protetor da N-acetilcisteína (NAC) / Heloisa Balan Assalin. - Botucatu [s.n], 2008.

Trabalho de conclusão (bacharelado – Ciências Biológicas – Modalidade médica) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2008

Orientadora: Ethel Lourenzi Barbosa Novelli

1. Estresse oxidativo 2. Fisiopatologia 3. Metabolismo

Palavras-chave: Diabetes mellitus tipo II; Estresse oxidativo; N-acetilcisteína (NAC); Nefropatia diabética

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais,
alicerce da minha existência ...
fundamentais na minha vida e
que me fornecem todo o suporte necessário
para que eu persiga a
meus ideais de vida*

AGRADECIMIENTOS

À minha família, *José Carlos, Roseli e Carlos Eduardo*,
peças fundamentais na minha vida, sem os quais nada
seria possível.

À *Profª Drª Ethel Lourenzi Barbosa Novelli* pelo prazer
imenso em tê-la como orientadora, pelos conhecimentos
compartilhados, por sua relevância em minha formação
como pesquisadora, por sua dedicação e carinho a mim
destinados.

Aos poucos e verdadeiros amigos da faculdade, que em
tão pouco tempo já fazem parte da minha vida para
sempre. Em especial à *Priscila*, que talvez mesmo sem
perceber me ensina a pensar grande, e à *Táise*, pela
amizade e pelos momentos compartilhados nesses quatro
anos de convivência.

Aos amigos queridos *Maude, Ana Paula, Luiz Gustavo* e a
tantos outros, que mesmo distantes, continuam
presentes no coração, em especial ao *Luís Henrique*, que
sempre acreditou no meu potencial, mesmo nos momentos
em que até eu deixei de acreditar, e me dá força para
superar os desafios sempre.

Aos amigos do laboratório *Geovana, Katiucha, Fábio, Gisele, Juliana* e em especial ao *Cristiano*, pela paciência e enorme contribuição na realização deste trabalho.

Ao Professor e amigo *Hélio Rubens de Carvalho Nunes* por me ajudar a compreender o mundo da pesquisa e do rigor científico, pela enorme contribuição para minha formação como pesquisadora e acima de tudo pela amizade e confiança.

Ao *Fabio Henrique Fava e Lurdes* do Departamento de Química e Bioquímica - IB, pela dedicação e auxílio técnico.

*“Se você pensa que é capaz
ou que é incapaz
de realizar alguma coisa,
de qualquer maneira
você está certo”*

Henry Ford

RESUMO

O estresse oxidativo está envolvido tanto na fisiopatologia do *diabetes mellitus* tipo II bem como de suas complicações secundárias, como a nefropatia. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é verificar os efeitos da N-acetilcisteína (NAC), antioxidante da *Allium cepa*, sobre o estresse oxidativo, aspectos nutricionais e morfométricos, metabolismo basal e utilização de substrato energético, glicemia de jejum e teste oral de tolerância à glicose (TOTG), bem como na função renal de ratos com elevada ingestão de sacarose. Os animais foram inicialmente divididos em três grupos: C (n=10), recebendo dieta basal e água; S (n=10), recebendo dieta basal e solução de sacarose (30%) e grupo SN (n=5), recebendo dieta basal, solução de sacarose e de NAC (2g/L). Após 25 dias de experimento foram realizadas as calorimetrias no estado alimentado e de jejum, e após 30 dias de experimento, animais do grupo C foram divididos nos grupos CC (n=5) e CNAC (n=5) e os do grupo S, em SS (n=5) e SNAC (n=5), e então todos os animais receberam solução intra-gástrica de sacarose (20%) para a realização do TOTG. Além disso, animais dos grupos CNAC e SNAC receberam, além da solução de sacarose, 0,6 mL de NAC (160g/dia) por gavagem. Animais dos grupos S e SN apresentam maior ingestão de líquido a despeito de menor consumo de ração quando comparados a animais do grupo C. A análise da calorimetria mostra que apesar de o peso final não ter diferido significativamente entre os grupos, animais do grupo S apresentam menor taxa metabólica basal em relação aos grupos C e SN. Além disso, animais do grupo S têm maior QR, maior oxidação de carboidratos e menor oxidação de lipídios, tanto no estado alimentado como no jejum, ao serem comparados a animais dos grupos C e SN, mostrando efeito benéfico da NAC. A glicemia de jejum é elevada nos animais dos grupos SS e SNAC em relação aos animais dos grupos CC e CNAC, porém, animais do grupo SN têm redução nos níveis glicêmicos de jejum e após 30 min do início do TOTG, quando comparados a animais do grupo SS. Não há alteração no pico glicêmico nos animais dos grupos CC e CNAC, enquanto que nos animais do grupo SNAC e SN, o pico glicêmico ocorreu antes em relação ao grupo SS. Animais do grupo S apresentam maior estresse oxidativo e alterações nos parâmetros usados para avaliar dano renal, e embora essas alterações também possam ser vistas em animais do grupo SN, mostra-se um efeito benéfico da NAC, na medida em que essas alterações ocorreram em menor intensidade

nesses animais em relação a animais do grupo S e houve também redução nos níveis de hidroperóxido de lipídio e aumento nos níveis de substâncias antioxidantes totais, usados para avaliação do estresse oxidativo. Assim, evidencia-se efeito benéfico da NAC nas complicações secundárias do *diabetes mellitus*, normalizando a glicemia de jejum desses animais e evitando alterações na utilização de substratos energéticos, bem como o aparecimento de danos renais mais graves.

Palavras-chaves: N-acetilcisteína (NAC); *diabetes mellitus* tipo II; estresse oxidativo; nefropatia diabética.

ABSTRACT

Oxidative stress is related with physiopathology of diabetes mellitus type II and with its secondary complications, such as diabetic nephropathy. Thus, the purpose of this study was to examine the effects of n-acetylcysteine NAC, an antioxidant from *Allium cepa*, on oxidative stress, morphometrical and nutritional parameters and basal metabolism and energetic substrate utilization, serum glucose and oral glucose tolerance test (OGTT), and renal function of high-sucrose intake rats. Animals were initially divided into three groups. Rats in the control group (C; n=10) were given free access to a standard chow and water; (S; n=10) group received standard chow and 30% sucrose in its drinking water; (SN; n=5) group received standard chow and 2g/L NAC and 30% sucrose in its drinking water. After 25 days of treatments, rats were submitted to indirect calorimetry in fasted and feed states. After 30 days of treatments, rats from C and S groups were divided into four groups of five rats each. The (CC) and (SS) groups were given an intra-gastric dose 0,6mL saline (0,9%NaCl) and the (CNAC) and (SNAC) groups were treated with a intra-gastric dose of 0,6mL NAC (160g/day), and then everybody received a intra-gastric dose of glucose solution (20%) for the OGTT. Animals of S and SN groups have higher liquid consumption and lower food consumption than C group. Calorimetric analyses confirm that despite of the final body weight had not statistical difference among groups, S group have lower resting metabolic rate when compared to C and SN animals. Besides, S group has higher respiratory quotient, higher carbohydrate oxidation and lower lipid oxidation, both in fasted and feed states, than C and SN groups, evidencing the beneficial effect of NAC. Fasting plasma glucose is increased in SS and SNAC animals when compared to CC and CNAC, however SN group has glicemic level at 30 min before OGTT decreased when compared to SS group. There isn't change in glicemic peak in CC and CNAC animals, but in SS and SN animals it occurs in time before that SS animals. Oxidative stress and renal damage is higher in S group, and despite of these alterations can be seen in SN group, they have low intensity in these animals when compared to S group. Besides, SN group has lower lipid hidroperoxyde level and higher total antioxidant substances, markers of oxidative stress, than S group. Then, we conclude that NAC has beneficial effects on secondary diabetic complications, normalizing fasting plasma glucose and

preventing changes in energetic substrate utilization and arise of most serious renal damages.

Key words: N-acetylcysteine (NAC), type II *diabetes mellitus*, oxidative stress, diabetic nephropathy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 01. Relação entre taxa metabólica no estado alimentado e peso final nos animais dos grupos C, S e SN.....	52
Gráfico 02. Relação entre taxa metabólica de jejum e peso final nos animais dos grupos C, S e SN.....	52
Gráfico 03. Oxidação de carboidratos e lipídios no estado alimentado nos animais dos grupos C, S e SN.....	53
Gráfico 04. Oxidação de carboidratos e lipídios no jejum nos animais dos grupos C, S e SN.....	53
Gráfico 05. Curva glicêmica dos animais dos grupos CC, CNAC, SS, SNAC e SN, obtida a partir do teste oral de tolerância à glicose.....	54
Gráfico 06. Relação entre níveis de hidroperóxido de lipídio e substâncias antioxidantes totais em animais dos grupos C, S e SN.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Consumo de ração (g/dia) nos animais do grupo (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose, e (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....41

Tabela 02. Consumo de líquido (mL/dia) nos animais do grupo controle (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) mantido com ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....42

Tabela 03. Ingestão de NAC (g/dia) dos animais do grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....43

Tabela 04. Ingestão de sacarose (g/dia) do grupo controle (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....44

Tabela 05. Energia ingerida da ração (Kcal/dia) nos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....45

Tabela 06. Energia ingerida de sacarose (Kcal/dia) nos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....46

Tabela 07. Energia ingerida total média (Kcal/dia), preferência alimentar (%) e taxa de ingestão voluntária (%) nos animais do grupo controle (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....47

Tabela 08. Peso inicial (g), peso final (g), ganho de peso (g), circunferência abdominal (cm) e índice de massa corpórea (IMC) dos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) mantido com ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....48

Tabela 09. Calorimetria no estado alimentado e no jejum dos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.....49

Tabela 10. Teste oral de tolerância à glicose do grupo controle (CC), grupo CNAC, que recebeu solução de NAC por gavagem no momento do TOTG, grupo sacarose (SS), grupo SNAC, que recebeu NAC no momento do TOTG e grupo SN.....50

Tabela 11. Determinações bioquímicas séricas e peso do rim (g) dos animais do grupo controle (C), grupo sacarose (S) e grupo SN.....51

SUMÁRIO

Resumo	
Abstract	
Lista de Ilustrações	
Lista de Tabelas	
1. Introdução.....	22
2. Objetivos.....	29
3. Materiais e Métodos	
3.1 Animais e grupos experimentais.....	32
3.2 Parâmetros nutricionais e morfométricos.....	33
3.3 Determinação do metabolismo basal e utilização de substrato energético.....	34
3.4 Determinações bioquímicas	
3.4.1 Determinação das concentrações de proteínas totais e albumina.....	34
3.4.2 Determinação dos níveis séricos de creatinina e uréia.....	35
3.5 Análise do estresse oxidativo	
3.5.1 Determinação do hidroperóxido de lipídio.....	35
3.5.2 Determinação das substâncias antioxidantes totais.....	35
3.6 Análise dos resultados.....	36
4. Resultados.....	37
5. Discussão.....	55
6. Conclusões.....	61
7. Bibliografia.....	63

INTRODUÇÃO

Dietas inadequadas, ricas em carboidratos, especialmente aquelas ricas em frutose ou sacarose, são uma das principais causas de obesidade na população (Acheson, 2004), podendo induzir alterações metabólicas (Burton et al., 1985; Kok et al., 1996; Spolarics e Meyenhofer, 2000; Novelli et al., 2003), efeitos adversos na tolerância à glicose e no perfil lipídico.

Os mecanismos relacionados a esses efeitos adversos não são totalmente conhecidos. Entretanto, há indícios de que a ingestão de frutose facilita o dano oxidativo (McDonald, 1995), o que é reforçado por achados que demonstram que a frutose tem efeito deletério, tanto quando as defesas antioxidantes estão reduzidas, como quando a produção de radicais livres está elevada (Busserolles et al., 2002).

O efeito deletério da dieta rica em sacarose pode ser atribuído ao seu conteúdo de frutose (Busserolles et al., 2002). Há várias vias possíveis pelas quais dietas ricas em sacarose podem alterar o metabolismo celular, acelerando o dano oxidativo. O aumento do estresse oxidativo pode ocorrer devido ao aumento da produção de radicais livres de oxigênio e/ou redução na proteção por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Halliwell, 1996). Outra possibilidade é que a ingestão de sacarose induz o acúmulo de produtos finais glicosados e que a degradação oxidativa da glicose ou frutose induz à produção de radicais livres (Levi e Werman, 1998).

Dietas que contém grande porcentagem de energia proveniente da ingestão de sacarose resultam em declínio da homeostase da glicose e no aumento do risco de desenvolvimento de *diabetes mellitus* não-insulino dependente (Reiser, 1982). Em geral, o desenvolvimento do *diabetes* tipo 2 está associado à disfunção nas células β pancreáticas, que ocorre simultaneamente à resistência à insulina. Segundo Jeffcoat (2007), a ingestão de sacarose causa severa injúria nas células β , que pode ser vista pelo aumento da susceptibilidade do pâncreas ao dano oxidativo. As células β têm menor capacidade de remoção dos radicais livres que outros tecidos e são incapazes de adaptar a expressão de suas enzimas antioxidantes em resposta ao estresse oxidativo crônico (Tiedge et al., 1997). Radicais livres podem, num primeiro momento, estimular a proliferação de células β , mas depois, o aumento contínuo do estresse oxidativo irá progressivamente destruir as

células β e resultar em deficiência insulínica (Bakker et al., 2000).

O *diabetes mellitus* acomete cerca de 200 milhões de pessoas no mundo, e nos próximos 20 anos, sua prevalência irá superar 300 milhões de pessoas (Diab. Atlas.). O *diabetes* tipo 2 é a forma clínica mais comum do *diabetes*, responsável por aproximadamente 90% de todos os casos (Nolan, 2006). Sua prevalência era de cerca de 7,6% no início da década de 90, e estima-se que no ano de 2025, haja aumento de 178% (Malerbi e Franco, 1992).

O *diabetes mellitus* tipo 2 é uma desordem metabólica crônica e progressiva caracterizada por disfunções na secreção e na ação da insulina (Nolan, 2006) e que resulta em hiperglicemia, alterações do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (Am. Diab. Assoc., 2002) bem como no desenvolvimento de complicações em órgãos alvo, incluindo retinopatia, neuropatia, nefropatia e doença cardiovascular. As complicações relacionadas ao *diabetes* são a maior causa de incapacidade e padecimento, sendo responsáveis por custos de 5 - 10% da receita nacional da saúde (Nolan, 2006). Destas complicações, a nefropatia diabética, etiologia mais comum de doença renal crônica nos países ocidentais, está associada com a maior taxa de mortalidade (Cooper, 1998).

Estresse oxidativo ocorre quando há alteração no balanço entre os sistemas oxidantes e antioxidantes, a favor da geração de radicais livres. Tem sido demonstrado que pacientes com *diabetes mellitus* têm aumento no estresse oxidativo e redução do sistema de defesa antioxidante, o que parece contribuir para a instalação e progressão das complicações associadas ao diabetes (Maritim et al., 2003). Hiperglicemia é o sintoma primário do diabetes e a responsável por suas complicações, já que elevada concentração de glicose provoca injúria direta nas células e induz à peroxidação lipídica (Davi et al., 2005). Estudos com ratos diabéticos descrevem aumento de marcadores do estresse oxidativo nas ilhotas pancreáticas (Ihara et al., 1999). Além disso, o diabetes resulta em severo desequilíbrio metabólico e alterações não fisiológicas em vários tecidos, especialmente no pâncreas, que é o órgão responsável pela secreção de insulina (Baynes e Thorpe, 1999). A destruição das células β pancreáticas causadas pelos níveis elevados de EROs é um processo que ocorre através de mecanismos tanto apoptóticos quanto

necróticos . A infiltração mediada pelas células T no pâncreas leva à geração de ERO e de citocinas pró-inflamatórias. (Abraham et al., 2007)

A geração excessiva de radicais livres decorrente do estresse oxidativo implica no desenvolvimento de efeitos adversos comumente associados ao *diabetes mellitus*, como neuropatia, nefropatia, retinopatia e desordens vasculares (Oberley, 1998; Jennings et al., 1991; Lyons, 1991; Valezquez et al., 1991). Destas complicações, nefropatia diabética acomete cerca de 10% a 40% dos indivíduos com *diabetes mellitus* tipo 2 (Andersen et al., 1993) e constitui a primeira causa de insuficiência renal nos países desenvolvidos (USRDS Annual Data Report, 1991), estando associada a maior taxa de mortalidade desses pacientes em países ocidentais (Cooper, 1998).

As características iniciais da nefropatia diabética são a hiperfiltração glomerular e a hipertrofia renal. Indivíduos geneticamente predispostos, sob hiperglicemia crônica, desenvolverão, durante anos, alterações estruturais nos glomérulos, com expansão da matriz mesangial, espessamento da membrana basal e distúrbio da permeabilidade a macromoléculas, cuja manifestação clínica é a albuminúria. A glicosilação não-enzimática compromete a fagocitose do mesângio, acarreta acúmulo de macromoléculas, expansão mesangial e altera a síntese de proteoglicanos sulfatados na membrana basal glomerular, facilitando a passagem transmembrana de moléculas com carga negativa como a albumina. A microalbuminúria (20g/min a 200g/min) define o estágio incipiente e o seguinte se caracteriza por proteinúria maciça, que evolui com declínio progressivo da filtração glomerular. O surgimento de proteinúria, em pacientes diabéticos, está associado ao aumento significativo na mortalidade, não apenas pela doença renal, mas também cardiovascular (Borch-Johnsen et al., 1987; Ferreira e Zanella, 2000).

Embora indubitável a participação de fatores metabólicos na gênese da nefropatia diabética, existem também fortes evidências do envolvimento etiopatogênico de fatores genéticos. A importância do componente genético foi inicialmente sugerida pelas observações de agregação familiar da nefropatia, cuja base poderia ser a susceptibilidade à hipertensão arterial (Krolewski, 1988; Lopes de Faria, 2001).

A hiperglicemia crônica, acompanhada de distúrbios hemodinâmicos, é a principal

responsável pelas alterações funcionais e estruturais dos glomérulos que resultam em perda urinária de proteínas. (Ferreira e Zanella, 2000).

Os mecanismos envolvidos no dano tecidual decorrentes da hiperglicemia são induzidos pelo aumento na produção de radicais livres. O excesso de glicose implica em aumento no gradiente de prótons através da membrana mitocondrial interna, e quando esse fluxo excede o limiar, o complexo respiratório III é bloqueado, levando ao escoamento de elétrons pela ubiquinona, com a formação de superóxido (Brownlee 2005). Em ratos diabéticos, a redução da resposta vascular, como resultado do aumento da formação do ânion superóxido, representa a maior contribuição para a injúria vascular e para as complicações do diabetes (Ahmad et al., 2005)

As espécies reativas de oxigênio provocam dano na molécula de DNA e a ativação da poli-ADP ribose polimerase (PARP), o que é responsável pela redução da atividade de enzima chave na via glicolítica, a gliceraldeído-3-fosfato (GADPH). Esta inibição enzimática é a responsável por desencadear quatro mecanismos propostos para o dano tecidual associado à hiperglicemia: ativação da via dos polióis, da via das hexosaminas, ativação de proteína cinase C (PKC) e formação de produtos finais da glicosilação enzimática (AGEs) (Choi, 2008).

Assim como a glicose, a angiotensina II pode contribuir para expansão mesangial que ocorre na nefropatia diabética por estimular a deposição de matriz extracelular. Possivelmente ambas utilizam semelhantes vias de transdução de sinais, que em última análise levam a um aumento da produção celular de TGF- β , uma citocina mediadora de fibrose, que promove acúmulo da matriz extracelular, mas também afeta sua degradação (Leehey et al., 2000) e de outros fatores promotores do crescimento (Yamamoto et al., 1993). A angiotensina II também ativa a PKC e, portanto, podem ocorrer efeitos aditivos da hiperglicemia e da angiotensina II na ativação de PKC (Yamamoto et al., 1993), que por sua vez, estimula a síntese de TGF- β 1 e de proteínas da matriz de células mesangiais e tubulares⁵⁵.

Uma vez ativado nas células mesangiais, o TGF- β pode determinar aumento na apoptose dessas células (Okado et al., 2002), da proliferação celular (Lagranha et al.,

2007), da formação e deposição de proteínas de matriz extracelular, como laminina, fibronectina e colágeno do tipo I e do tipo IV (Singh et al., 2004) induzindo assim esclerose glomerular (Isono et al., 2000).

O sistema do óxido nítrico (NO) parece estar ativado na nefropatia diabética, servindo como um antagonista funcional da angiotensina II (Rabelink e Bakris, 1998). O NO tem efeitos renais antiproliferativos, diminui a síntese protéica da matriz, inibe as ações vasoconstritoras da angiotensina II nas arteríolas glomerulares e diminui a síntese da enzima conversora de angiotensinogênio (ECA) e a expressão periférica dos receptores AT1. No entanto, o ânion superóxido, cuja produção é induzida pela angiotensina II, interage com o NO, reduzindo sua bioatividade (Salgado et al., 2004)

Assim, percebe-se o envolvimento do estresse oxidativo na etiologia do *diabetes mellitus* e da nefropatia diabética, e portanto, estratégias de redução de danos oxidativos terão efeitos protetores significativos. Dessa forma, é crescente o interesse em relação a dietas contendo antioxidantes naturais, que protegeriam as células do dano oxidativo (Rasilainem et al., 2002).

A N-acetilcisteína (NAC) é um composto tiólico que contém grupos sulfidril livres (Ziment, 1988) e é encontrada em elevada concentração na *Allium cepa* (Saraiva et al., 1997). Tem sido usada na prática clínica desde a década de 50, para o tratamento de doenças pulmonares congestivas e obstrutivas e da fibrose cística, associadas à hipersecreção de muco. A partir dos anos 70, passou a ser a droga de escolha no tratamento da intoxicação por paracetamol, e mais recentemente tem sido usada na síndrome do estresse respiratório do adulto e em algumas inflamações crônicas e desordens do sistema imune, como a infecção pelo HIV (Cotgreave, 1997).

A NAC tem se mostrado efetiva na redução de radicais livres e outros oxidantes. Interage diretamente com os radicais OH, H₂O₂ e HOCl (Moldéus et al., 1986; Aruoma et al., 1989), apesar de a importância *in vivo* ser questionável (Atkuri et al., 2007). A nível celular a NAC tem demonstrado suprimir a produção de metabólitos reativos de oxigênio pelos neutrófilos humanos, durante o burst oxidativo *in vitro* (Gressier et al., 1993). Além disso, a NAC exerce seu efeito antioxidante indiretamente por facilitar a biosíntese da

glutathione, já que ao ser desacetilada, dá origem à cisteína (Moldéus et al., 1996), necessária para a síntese da glutathione (Halliwell, 1996).

Embora a glutathione seja importante composto intracelular, sua eficácia na prática clínica é bastante limitada pelo fato de não ultrapassar facilmente as membranas celulares. Da mesma forma, apesar da cisteína apresentar importante atividade antioxidante *in vitro*, apresenta baixa tolerância e relativa toxicidade (Olney et al., 1971; Karlsen et al., 1981).

A NAC é quimicamente similar à cisteína. A presença do radical acil, entretanto, reduz a reatividade do grupo tiol comparado à molécula de cisteína. Assim, comparada à cisteína, a NAC é menos tóxica, menos susceptível à oxidação e mais solúvel em água (Bonanomi & Gazzaniga, 1980), sendo, portanto, um antioxidante de melhor escolha.

OBJETIVOS

-
- Determinar o efeito da elevada ingestão de sacarose e do Diabetes *Mellitus* tipo 2 em parâmetros nutricionais, morfométricos, no estresse oxidativo, no metabolismo basal e utilização de substrato energético, na glicemia de jejum e teste oral de tolerância à glicose e na função renal.
 - Evidenciar os efeitos suplementação nutricional com N-acetilcisteína (NAC) sobre as alterações nutricionais, morfométricas, estresse oxidativo, metabolismo basal e utilização de substrato energético, glicemia de jejum e teste oral de tolerância à glicose bem como na função renal, induzidas pela Diabetes *Mellitus* tipo II.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. *Animais e Grupos Experimentais*

Foram utilizados 25 ratos machos *Wistar*, de 90 dias de idade. Os animais provieram do Biotério Central da UNESP "Campus de Botucatu" e transferidos para o "Laboratório de Bioquímica na Experimentação Animal" do Departamento de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, UNESP/Botucatu, onde permaneceram durante todo o período experimental, à temperatura de $22 \pm 3^\circ\text{C}$, período claro/escuro de 12 horas e umidade relativa de $60 \pm 5\%$.

Primeiramente os animais foram divididos em três grupos. O grupo controle (C), composto por 10 animais, recebendo dieta basal (BioBase Biotec, SC, Brasil) e água; o grupo S também com 10 animais, recebendo dieta basal e água contendo 30% de sacarose e o grupo SN, com 5 animais, recebendo dieta basal, sacarose (30%) e NAC (2g/L) na água de beber.

Após 25 dias de tratamento 5 animais de cada grupo foram submetidos à determinação da calorimetria indireta em estado alimentado (pós-prandial) e após jejum de 12 horas, para quantificação do metabolismo basal e quociente respiratório, permitindo determinar o substrato energético utilizado pelos animais dos diferentes grupos experimentais.

Após 30 dias de tratamento, os animais foram mantidos em jejum (12h - 14h). Os ratos do grupo C foram divididos em dois subgrupos, de 5 ratos cada. O grupo CC recebeu administração intra-gástrica (gavagem) de 0,6 mL de solução salina (0,9% NaCl) e o grupo CNAC foi tratado com dose intra-gástrica de 0,6 ml de NAC (160 g/L). O grupo S também foi dividido em dois subgrupos de 5 animais cada um. O grupo SS que recebeu administração intra-gástrica (gavagem) de 0,6 ml de solução salina (0,9% NaCl) e o grupo SNAC que foi tratado com uma dose intra-gástrica de 0,6 ml de NAC (160 g/L).

Imediatamente após administração de NAC todos os animais foram submetidos ao Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG). Solução aquosa de 20% foi administrada oralmente (gavagem) (2g/kg) e as concentrações de glicose foram determinadas após 30, 60, 120 e 180 minutos, no sangue coletado pela veia da cauda, com uso de analisador

automático de glicose (Boehringer Mannheim, Eli Lilly Ltda, São Paulo).

Após a realização do TOTG os animais foram anestesiados (pentobarbital sódico 3%, 0,1mL, i.p.), sendo realizadas as medidas de comprimento corporal (nariz ao ânus, exceto cauda) e circunferência abdominal. Após determinação morfométrica, os animais foram decapitados. O sangue foi coletado em tubos de ensaio, com auxílio de funil. O soro foi separado por centrifugação a 3.000 rpm e armazenado em freezer a - 86°C para posterior determinação de proteína total, albumina, creatinina, uréia, hidropéroxido de lipídio (HP) e substâncias antioxidantes totais (SAT). O rim esquerdo foi coletado, lavado em solução salina e pesado.

2. Parâmetros Nutricionais e Morfométricos

A ingestão alimentar foi controlada diariamente, no mesmo horário (9:00 às 11:00 horas). Semanalmente os animais foram pesados. O consumo de água e de soluções de sacarose e de NAC ingeridas por animal foram determinados a cada 3 dias, podendo-se quantificar a ingestão diária de cada animal.

Tendo como base as quantidades de ração ingeridas e a quantidade de energia metabolizável da ração (2.5 Kcal/g), foi calculada a quantidade de energia ingerida (Kcal/dia) por animal, por dia. Para os grupos com ingestão de sacarose, foi acrescida ao cálculo a quantidade calórica correspondente a esta substância (4.0 Kcal/g). Também foram determinados, segundo Diniz et al., (2002):

- Preferência Alimentar (%): $(\text{consumo alimentar} / \text{quantidade de dieta ofertada}) \times 100$;
- Taxa de Ingestão Voluntária (%): $(\text{ganho de peso} / \text{consumo alimentar}) \times 100$

Os valores obtidos do comprimento do animal e do peso corporal foram utilizados para o cálculo do índice de massa corpórea (IMC) dos animais, adaptado do IMC utilizado em humanos (Fredericks et al., 2004), no qual:

$$\text{IMC (g/cm}^2\text{)} = \text{peso corporal} / \text{comprimento corporal}^2$$

3. Determinação do Metabolismo Basal e Utilização de Substrato Energético

Após 25 dias do período experimental, foram determinados o metabolismo basal, o consumo de O_2 (VO_2), a produção de CO_2 (VCO_2), bem como a variação nestes parâmetros após a alimentação e à submissão dos animais ao jejum de 12 - 14 horas. A utilização de lipídios e carboidratos como fonte de energia foi obtida através do quociente respiratório (VCO_2/VO_2) (Strohl et al., 1997).

As determinações foram realizadas com uso de câmara metabólica para sistema respiratório animal (CWE, Inc, St. Paul, USA) com medidas obtidas em computador através de programa específico (software MMX, CWE, Inc., USA). Após a calibração do equipamento (temperatura e pressão) cada animal foi colocado na câmara metabólica permanecendo durante 10 minutos em repouso com fluxo de ar constante. Foram registrados o consumo de O_2 (VO_2) e a produção de CO_2 (VCO_2), permitindo evidenciar as alterações no QR nos grupos experimentais. Além desses parâmetros, calculou-se também o VO_2/g (mL/h/g), VCO_2/g (mL/h/g), oxidação de lipídio (mg/min), oxidação de carboidrato (mg/min), superfície corporal (SC) ($g^{0.7}$), a relação VO_2/SC (mL/h/g), e taxa metabólica basal (TMB) (Kcal/h) (Labayen et al., 1999).

4. Determinações Bioquímicas

4.1 Determinação das concentrações de proteínas totais e albumina

As concentrações de albumina e proteínas totais no soro foram determinadas através de Kits CELM (Companhia de Equipamentos de Laboratórios Modernos, SP, Brasil).

A determinação de proteínas totais foi realizada através da reação das ligações peptídicas das proteínas com o íon cúprico, em meio alcalino, o que determina a formação de um complexo de cor violeta, cuja intensidade pode ser avaliada por

espectrofotometria.

A concentração de albumina foi determinada através do aumento da absorbância do branco no reativo devido à reação da albumina com a forma aniônica do verde de brocromesol, em presença de excesso de corante em meio tamponado, a pH 3,8.

4.2 Determinação dos níveis séricos de creatinina e uréia

As concentrações de creatinina e uréia no soro foram determinadas através de Kits CELM (Companhia de Equipamentos de Laboratórios Modernos, SP, Brasil).

A creatinina reage com o picrato em meio alcalino tamponado, com prévia desproteinização com ácido pícrico, obtendo-se um cromógeno, cuja intensidade de cor é medida por espectrofotometria.

O íon amônio, proveniente da reação da uréia com a enzima urease, reage com salicilato e hipoclorito, na presença de nitroprussiato originando azul de indolfenol, cuja intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração de uréia na amostra.

5. Análise do Estresse Oxidativo

A análise do estresse oxidativo foi realizada através da determinação das concentrações do hidroxiperóxido de lipídio e das substâncias antioxidantes totais (SAT) no soro.

5.1 Determinação do Hidroperóxido de Lipídio

O hidroperóxido de lipídio foi determinado através da oxidação do Fe^{2+} (sulfato ferroso amoniacal) em condições ácidas. O Fe^{3+} formado reage com alaranjado de xilenol, formando um composto colorido (Jiang et al., 1991).

5.2 Determinação das Substâncias Antioxidantes Totais (SAT)

As substâncias antioxidantes totais (SAT) foram calculadas através da porcentagem de inibição na formação de HP (Mehmetcik et al., 1997).

6. Análise dos Resultados

A estatística foi realizada através do método ANOVA. Quando foram encontradas diferenças significativas entre as médias, usou-se o teste de Tukey para comparações entre os grupos. Para comparação das médias entre amostras dependentes utilizou-se o teste t de Student pareado. Para análise de normalidade dos dados foi utilizado teste de Kolmogorov e Smirnov. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Todos os resultados foram expressos em Média \pm Desvio Padrão da Média.

RESULTADOS

Como se pode observar na Tabela 01, animais do grupo S e SN tiveram menor consumo de ração durante as semanas do experimento comparados a animais do grupo C. Esse menor consumo durante as semanas refletiu em menor consumo total médio de ração (g/dia) dos grupos S e SN em relação ao grupo C. Não houve diferença significativa no consumo semanal, bem como no consumo total médio entre os grupos S e SN.

O consumo total médio de líquido (mL/dia) foi maior nos grupos S e SN comparados ao grupo C, e entre os grupos S e SN, não houve diferença significativa na ingestão de líquido semanal bem como no consumo total médio de líquido (Tabela 02).

A média de energia ingerida da ração (Kcal/dia) nas seis semanas de experimento foi maior no grupo C em relação aos grupos S e SN, bem como a energia ingerida em cada semana. Entre os grupos S e SN não houve diferença significativa tanto na energia ingerida da ração por semana, quanto na média de energia ingerida da ração (Tabela 05).

A energia ingerida de sacarose por semana e também a média de energia ingerida de sacarose (Kcal/dia) nas semanas não variou de modo significativo entre os grupos S e SN, como mostra a Tabela 06.

A energia ingerida total (Kcal/dia) foi maior nos grupos S e SN quando comparados ao grupo C, sendo que entre os grupos S e SN não houve diferença significativa (Tabela 07).

A preferência alimentar e a taxa de ingestão voluntária não diferiram significativamente entre os grupos S e SN, sendo que esses grupos tiveram índices menores quando comparados ao grupo C (Tabela 07).

Não foi possível evidenciar significância estatística no peso inicial, peso final, ganho de peso, bem como no IMC e circunferência abdominal ao compararem-se os grupos C, S e SN (Tabela 08). Contudo, animais do grupo S apresentaram maior peso final, ganho de peso e circunferência abdominal quando comparados aos demais (Tabela 08).

Animais do grupo S e SN tiveram maior comprimento corporal em relação ao grupo C, não sendo constatada diferença significativa entre S e SN. Além disso, a superfície corporal dos animais do grupo S foi maior quando comparada aos animais dos grupos C e SN, e não diferiu significativamente entre os grupos C e SN (Tabela 09).

Animais do grupo S tiveram a menor taxa metabólica basal no estado alimentado quando comparados a animais dos grupos C e SN, e não houve diferença ao compararmos os grupos C e SN. No jejum, animais do grupo S continuam apresentando a menos TMB, no entanto, não houve diferença estatística na TMB ao compararmos o estado alimentado ao jejum (Tabela 09) em cada um dos grupos.

Na tabela 09 observamos ainda que o quociente respiratório (QR) esteve aumentado no grupo S em relação aos grupos C e SN, embora significância estatística tenha sido verificada apenas ao comparar-se os grupos S e SN.

O VO_2/g e o VCO_2/g no estado alimentado dos animais do grupo S foram significativamente diferentes dos animais dos grupos C e SN: o VO_2/g e o VCO_2/g foram menores no grupo S em relação aos demais. Essa mesma tendência foi verificada no jejum, porém significância estatística ocorreu apenas entre os grupos S e SN, com relação ao VO_2/g , e entre o grupo S comparado aos grupos C e SN, com relação ao VCO_2/g . Houve diferença significativa no VCO_2/g ao compararmos cada um dos grupos no estado alimentado em relação ao jejum, porém, com relação ao VO_2/g , não foi vista significância estatística ao compararmos o estado alimentado ao jejum (Tabela 09).

No estado alimentado, animais do grupo S tiveram o maior índice de oxidação de carboidratos e o menor índice de oxidação de lipídios, em relação aos animais dos grupos C e SN. Em nenhum desses parâmetros houve diferença significativa ao compararem-se os grupos C e SN. No jejum, animais do grupo S continuaram apresentando maior taxa de oxidação de carboidratos e menor taxa de oxidação de lipídios que os demais grupos. No entanto, significância estatística foi verificada na oxidação de lipídio apenas ao compararem-se animais dos grupos S e SN, sendo que em relação ao grupo C, nenhum dos outros grupos apresentou diferença estatística. Apenas no grupo C houve diferença estatística na oxidação de carboidratos bem como na oxidação de lipídios ao compararmos o estado alimentado em relação ao jejum (Tabela 09).

Como se pode observar na Tabela 10, a glicemia de jejum é elevada nos animais dos grupos SS e SNAC em relação aos animais dos grupos CC e CNAC. Além disso, animais do grupo SN tiveram redução nos níveis glicêmicos de jejum e após 30 min do início do

TOTG, quando comparados a animais do grupo SS.

Animais do grupo CNAC não apresentaram alteração significativa no pico glicêmico em relação a animais do grupo CC. O pico glicêmico nos animais do grupo SS ocorreu após 60 min após a administração de glicose, enquanto que em animais dos grupos SNAC e SN, o pico glicêmico ocorreu após 30 min.

Animais dos grupos S apresentaram menores níveis séricos de uréia quando comparados a animais do grupo C, e apesar de não ter havido significância estatística, animais do grupo SN apresentaram aumento nos níveis de uréia em relação a animais do grupo S (Tabela 11).

Os níveis de creatinina foram maiores em animais do grupo S em relação ao grupo C. Animais do grupo SN apresentaram redução na concentração sérica de creatinina em relação ao grupo S, embora essa redução não tenha sido estatisticamente significativa.

Animais do grupo S apresentaram menores índices séricos de proteínas totais e albumina em relação ao grupo C. Animais do grupo SN, comparados ao grupo S, apresentaram aumento nas concentrações séricas destes parâmetros, embora diferença estatística tenha sido verificada apenas com relação às proteínas totais.

O peso do rim nos animais do grupo S foi maior em relação aos demais grupos, e o grupo SN apresentou redução no peso renal em relação ao grupo S, embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa (Tabela 11).

Com relação ao estresse oxidativo, houve aumento nos níveis de hidroperóxido de lipídio e redução das substâncias antioxidantes totais nos animais do grupo S e SN em relação ao grupo C e, embora sem significância estatística, redução nos níveis de HP e aumento das SAT, ao compararmos o grupo SN ao grupo S, como se observa na Tabela 11.

Tabela 01. Consumo de ração (g/dia) nos animais do grupo (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose, e (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupos		
	C	S	SN
Consumo Ração 1° Semana (g/dia)	24,93±1,86 ^{bc}	15,76±1,80 ^a	15,72±3,45 ^a
Consumo Ração 2° Semana (g/dia)	26,28±2,61 ^{bc}	14,62±1,98 ^a	13,90±2,78 ^a
Consumo Ração 3° Semana (g/dia)	26,23±2,51 ^{bc}	12,75±2,39 ^a	12,64±1,20 ^a
Consumo Ração 4° Semana (g/dia)	26,17±2,48 ^{bc}	11,75±2,35 ^a	11,93±1,67 ^a
Consumo Ração 5° Semana (g/dia)	28,44±3,92 ^{bc}	11,64±2,46 ^a	13,11±1,50 ^a
Consumo Ração 6° Semana (g/dia)	30,75±7,25 ^{bc}	9,96±3,54 ^a	15,80±5,53 ^a
Consumo Total Médio (g/dia)	26,62±3,60 ^{bc}	12,75±1,75 ^a	13,32±2,44 ^a

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN.

Tabela 02. Consumo de líquido (mL/dia) nos animais do grupo controle (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) mantido com ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupos		
	C	S	SN
Consumo Líquido 1° Semana (mL/dia)	38,93±4,99 ^b	52,51±9,12 ^a	47,26±9,67
Consumo Líquido 2° Semana (mL/dia)	39,19±6,90 ^{bc}	60,78±22,97 ^a	75,54±3,27 ^a
Consumo Líquido 3° Semana (mL/dia)	40,30±11,97	51,39±11,71	43,69±8,24
Consumo Líquido 4° Semana (mL/dia)	37,67±4,62 ^{bc}	51,34±7,23 ^a	50,69±4,15 ^a
Consumo Líquido 5° Semana (mL/dia)	37,27±3,43	44,96±3,24	45,05±15,57
Consumo Líquido 6° Semana (mL/dia)	33,33±6,76 ^{bc}	49,00±13,17 ^a	37,50±9,57 ^a
Consumo Total Médio (mL/dia)	37,23±5,42 ^{bc}	51,66±7,78 ^a	48,70±3,53 ^a

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN.

Tabela 03. Ingestão de NAC (g/dia) dos animais do grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupo
	SN
Ingestão de NAC 1° semana (g/dia)	0,09±0,02
Ingestão de NAC 2° semana (g/dia)	0,15±0,01
Ingestão de NAC 3° semana (g/dia)	0,09±0,02
Ingestão de NAC 4° semana (g/dia)	0,10±0,01
Ingestão de NAC 5° semana (g/dia)	0,09±0,03
Ingestão de NAC 6° semana (g/dia)	0,08±0,02
Ingestão Total Média (g/dia)	0,10±0,01

Valores apresentados em media ± desvio padrão;

Tabela 04. Ingestão de sacarose (g/dia) do grupo controle (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupos		
	C	S	SN
Ingestão de sacarose 1° semana (g/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	15,75±2,73 ^a	14,18±2,90 ^a
Ingestão de sacarose 2° semana (g/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	18,23±6,89 ^a	22,66±0,98 ^a
Ingestão de sacarose 3° semana (g/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	15,42±3,51 ^a	13,11±2,47 ^a
Ingestão de sacarose 4° semana (g/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	15,40±2,17 ^a	15,21±1,25 ^a
Ingestão de sacarose 5° semana (g/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	13,49±0,97 ^a	13,51±4,67 ^a
Ingestão de sacarose 6° semana (g/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	14,70±3,95 ^a	11,25±2,87 ^a
Ingestão Total Média (g/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	15,50±2,33 ^a	14,61±1,06 ^a

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN.

Tabela 05. Energia ingerida da ração (Kcal/dia) nos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupos		
	C	S	SN
EI Ração 1º semana (Kcal/dia)	68,54±5,11 ^{bc}	43,34±4,96 ^a	43,23±9,49 ^a
EI Ração 2º semana (Kcal/dia)	72,28±7,17 ^{bc}	40,20±5,44 ^a	38,23±7,65 ^a
EI Ração 3º semana (Kcal/dia)	72,13±6,91 ^{bc}	35,05±6,56 ^a	34,75±3,30 ^a
EI Ração 4º semana (Kcal/dia)	71,97±6,81 ^{bc}	32,33±6,48 ^a	32,82±4,59 ^a
EI Ração 5º semana (Kcal/dia)	78,22±10,79 ^{bc}	32,02±6,76 ^a	36,06±4,12 ^a
EI Ração 6º semana (Kcal/dia)	84,57±19,94 ^{bc}	27,38±9,74 ^a	43,44±15,20 ^a
EI Ração Total Média (Kcal/dia)	73,21±9,89 ^{bc}	35,05±4,81 ^a	36,64±6,70 ^a

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN.

Tabela 06. Energia ingerida de sacarose (Kcal/dia) nos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupos		
	C	S	SN
EI Sacarose 1º semana (Kcal/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	63,02±10,94 ^a	56,71±11,60 ^a
EI Sacarose 2º semana (Kcal/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	72,93±27,56 ^a	90,65±3,93 ^a
EI Sacarose 3º semana (Kcal/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	61,66±14,05 ^a	52,42±9,89 ^a
EI Sacarose 4º semana (Kcal/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	61,61±8,68 ^a	60,82±4,99 ^a
EI Sacarose 5º semana (Kcal/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	53,96±3,88 ^a	54,06±18,68 ^a
EI Sacarose 6º semana (Kcal/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	58,80±15,81 ^a	45,00±11,49 ^a
EI Sacarose Total Média (Kcal/dia)	0,00±0,00 ^{bc}	62,00±9,34 ^a	58,44±4,24 ^a

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN.

Tabela 07. Energia ingerida total média (Kcal/dia), preferência alimentar (%) e taxa de ingestão voluntária (%) nos animais do grupo controle (C) que recebeu ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupos		
	C	S	SN
Energia Ingerida Total Média (Kcal/dia)	73,21±9,89 ^{bc}	97,05±8,75 ^a	95,08±7,78 ^a
Preferência Alimentar (%)	43,09±3,73 ^{bc}	21,43±3,18 ^a	22,02±3,32 ^a
Taxa de ingestão voluntária (%)	1072,39±276,08 ^{bc}	402,12±71,75 ^a	476,99±102,37 ^a

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN.

Tabela 08. Peso inicial (g), peso final (g), ganho de peso (g), circunferência abdominal (cm) e índice de massa corpórea (IMC) dos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) mantido com ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

	Grupos		
	C	S	SN
Peso Inicial (g)	319,61±18,07	334,05±24,31	332,47±27,57
Peso Final (g)	420,14±36,79	443,43±33,57	433,17±34,93
Ganho de Peso (g/dia)	2,79±0,77	3,04±0,55	2,80±0,23
Comprimento Corporal (cm)	24,22±0,83 ^{bc}	25,18±0,41 ^a	25,25±0,29 ^a
Circunferência Abdominal (cm)	18,22±0,87	19,10±0,81	18,88±1,11
IMC Final	0,72±0,05	0,69±0,03	0,68±0,06

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN.

Tabela 09. Calorimetria no estado alimentado e no jejum dos animais do grupo controle (C) mantido com ração padrão, grupo (S) mantido com ração padrão e solução de sacarose e grupo (SN) que recebeu ração padrão, solução de sacarose e n-acetilcisteína (NAC) na água de beber.

Calorimetria		Grupos		
		C	S	SN
Quociente Respiratório	Alimentado	0,69±0,13 ^B	0,74±0,09 ^c	0,62±0,05 ^b
	Jejum	0,78±0,20 ^A	0,85±0,06 ^c	0,65±0,02 ^b
VO ₂ /g (mL/h/g)	Alimentado	0,48±0,09 ^b	0,39±0,05 ^{ac}	0,52±0,04 ^b
	Jejum	0,45±0,12	0,38±0,03 ^c	0,52±0,02 ^b
VCO ₂ /g (mL/h/g)	Alimentado	0,32±0,00 ^{bB}	0,30±0,00 ^{acB}	0,32±0,00 ^{bB}
	Jejum	0,33±0,00 ^{bA}	0,32±0,00 ^{acA}	0,33±0,00 ^{bA}
Superfície Corporal (g ^{0,7})	Alimentado	70,82±0,05 ^b	73,50±0,53 ^{ac}	70,97±0,16 ^b
	Jejum	70,82±0,05 ^b	73,50±0,53 ^{ac}	70,97±0,16 ^b
VO ₂ /superfície corporal (mL/h/g)	Alimentado	2,95±0,55 ^b	2,46±0,30 ^{ac}	3,23±0,24 ^b
	Jejum	2,80±0,73	2,38±0,18 ^c	3,18±0,09 ^b
Oxidação decarboidrato (mg/min)	Alimentado	-0,05±0,18 ^{bB}	0,11±0,06 ^{ac}	-0,14±0,08 ^b
	Jejum	0,04±0,24 ^A	0,15±0,06 ^c	-0,08±0,03 ^b
Oxidação de lipídio (mg/min)	Alimentado	0,45±0,25 ^{bB}	0,23±0,09 ^{ac}	0,58±0,11 ^b
	Jejum	0,29±0,30 ^A	0,18±0,09 ^c	0,52±0,04 ^b
Taxa metabólica basal (Kcal/h)	Alimentado	0,97±0,15 ^b	0,84±0,05 ^{ac}	1,05±0,07 ^b
	Jejum	0,93±0,20	0,84±0,05 ^c	1,05±0,04 ^b

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo C ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo S;

^c Diferença significativa em relação ao grupo SN;

^A Diferença significativa em relação ao estado alimentado;

^B Diferença significativa em relação ao jejum.

Tabela 10. Teste oral de tolerância à glicose do grupo controle (CC), grupo CNAC, que recebeu solução de NAC por gavagem no momento do TOTG, grupo sacarose (SS), grupo SNAC, que recebeu NAC no momento do TOTG e grupo SN.

	Grupos				
	CC	CNAC	SS	SNAC	SN
Glicemia Jejum	67,75±3,95 ^{cdBCD}	66,60±1,95 ^{cdBCD}	76,64±3,87 ^{abC}	78,00±3,54 ^{abBC}	73,00±2,83 ^{BC}
Glicemia 30 min	118,25±8,34 ^{caDE}	98,80±16,30 ^{dAE}	93,60±8,35 ^{adE}	119,24±6,28 ^{bceADE}	98,38±5,76 ^{dAE}
Glicemia 60 min	117,00±8,52 ^{baDE}	92,08±11,18 ^{adA}	103,80±15,93 ^{AE}	117,92±4,08 ^{baDE}	97,61±2,45 ^{AE}
Glicemia 120 min	85,25±5,38 ^{ABCE}	85,44±7,53 ^A	76,80±10,96 ^E	89,00±8,09 ^{BCE}	87,75±9,11
Glicemia 180 min	62,18±4,47 ^{BCD}	77,41±4,06 ^B	60,68±9,02 ^{BCD}	69,71±11,97 ^{BCD}	76,27±13,59 ^{BC}

Valores apresentados em média ± desvio padrão;

^a Diferença significativa em relação ao grupo CC ;

^b Diferença significativa em relação ao grupo CNAC;

^c Diferença significativa em relação ao grupo S;

^d Diferença significativa em relação ao grupo SNAC;

^e Diferença significativa em relação ao grupo SN;

^A Diferença significativa em relação à glicemia de jejum;

^B Diferença significativa em relação à glicemia de 30 min;

^C Diferença significativa em relação à glicemia de 60 min;

^D Diferença significativa em relação à glicemia de 120 min;

^E Diferença significativa em relação à glicemia de 180 min.

Tabela 11. Determinações bioquímicas séricas e peso do rim (g) dos animais do grupo controle (C), grupo sacarose (S) e grupo SN.

	Grupos		
	C	S	SN
Uréia (mg/dL)	38,89±3,05 ^b	32,86±3,11 ^a	35,15±4,76
Creatinina (mg/dL)	1,51±0,08 ^b	1,68±0,10 ^{a,c}	1,53±0,05 ^b
Proteínas Totais (g/dL)	11,50±1,08 ^b	9,53±1,07 ^{a,c}	11,31±1,14 ^b
Albumina (g/dL)	5,07±0,47 ^b	4,52±0,30 ^a	4,86±0,30
HP (nmol/dL)	435,53±24,59 ^{b,c}	473,24±4,67 ^a	462,48±0,97 ^a
SAT (%)	82,27±4,65 ^{bc}	75,41±0,65 ^a	77,30±0,10 ^a
Peso do rim (g)	1,26±0,08	1,30±0,05	1,27±0,10

Valores em média ± desvio padrão

a: Diferença significativa em relação ao grupo C

b: Diferença significativa em relação ao grupo S

c: Diferença significativa em relação ao grupo SN

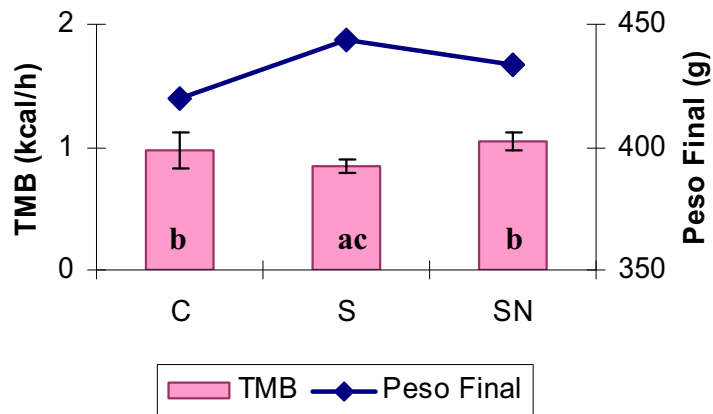


Gráfico 01. Relação entre taxa metabólica no estado alimentado e peso final nos animais dos grupos C, S e SN.

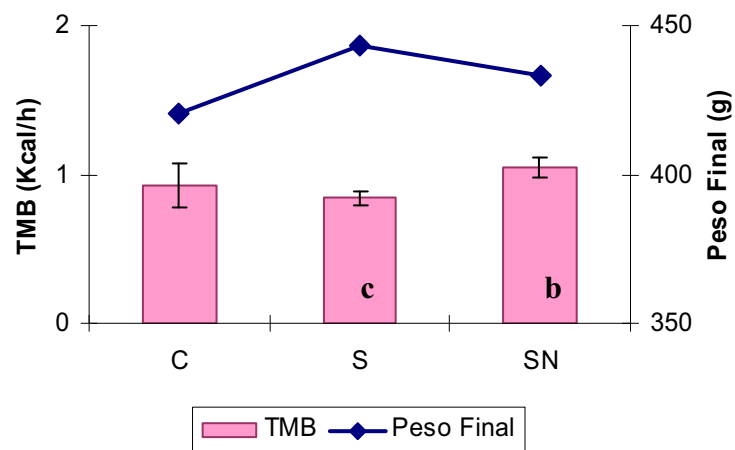


Gráfico 02. Relação entre taxa metabólica de jejum e peso final nos animais dos grupos C, S e SN.

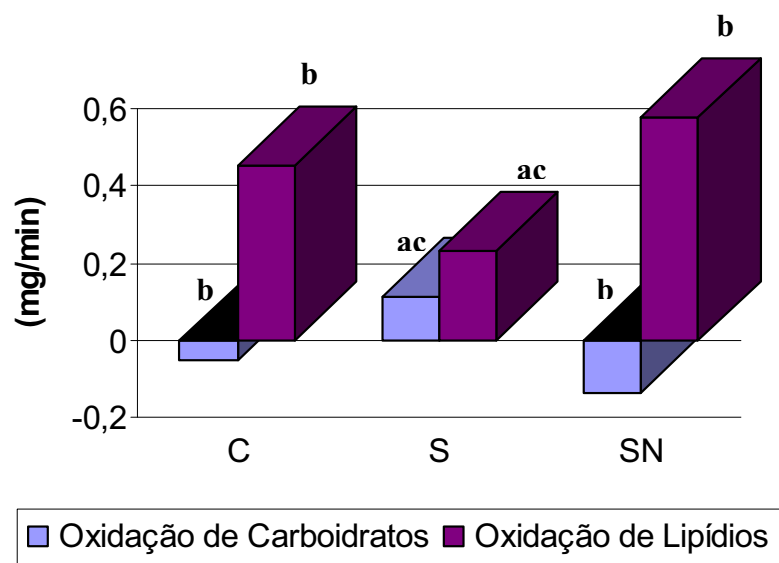


Gráfico 03. Oxidação de carboidratos e lipídios no estado alimentado nos animais dos grupos C, S e SN.

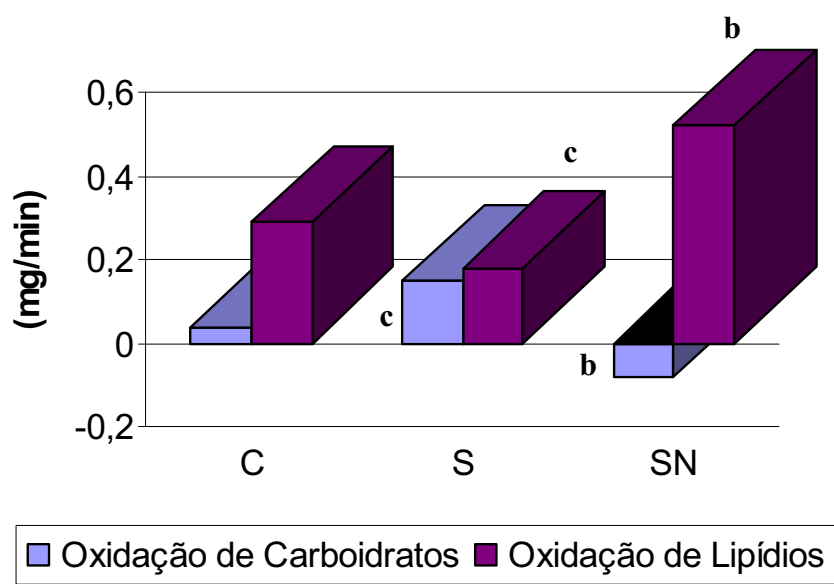


Gráfico 04. Oxidação de carboidratos e lipídios no jejum nos animais dos grupos C, S e SN.

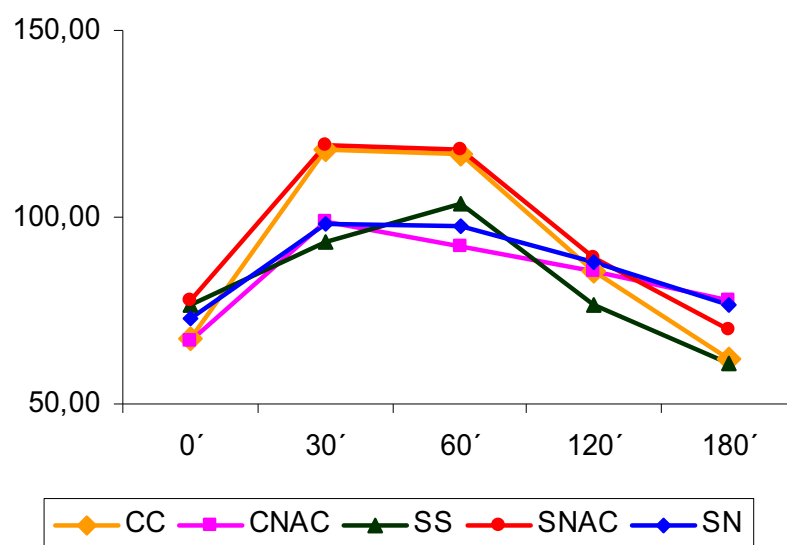


Gráfico 05. Curva glicêmica dos animais dos grupos CC, CNAC, SS, SNAC e SN, obtida a partir do teste oral de tolerância à glicose.

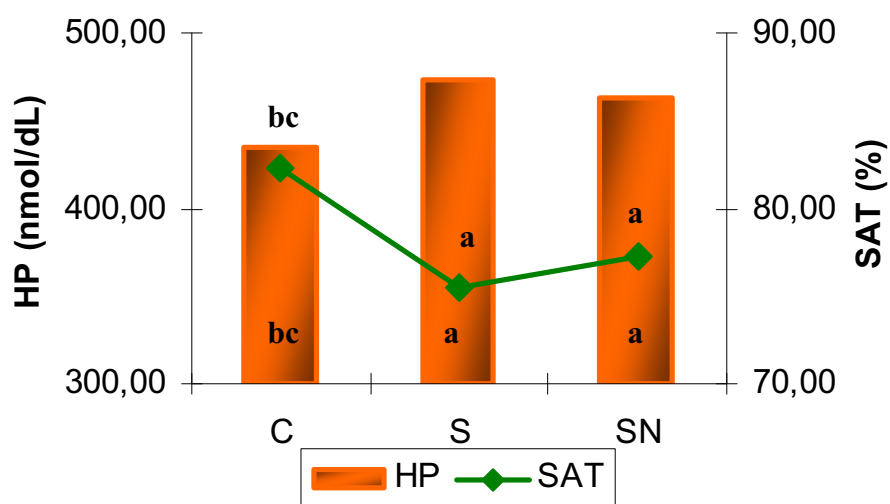


Gráfico 06. Relação entre níveis de hidroperóxido de lipídio e substâncias antioxidantes totais em animais dos grupos C, S e SN.

DISCUSSÃO

O consumo alimentar diário e a preferência alimentar não são estatisticamente significantes entre os grupos S e SN. No entanto, há diferença estatística entre os grupos S e SN em relação ao grupo C. Essa diferença ocorre devido ao acréscimo de 30% de sacarose no líquido dos animais S e SN, o que lhes fornece energia, diminuindo assim, a quantidade de ração ingerida diariamente.

O consumo de líquido diário não difere entre os grupos S e SN, porém estes grupos têm maior ingestão líquida quando comparados ao grupo C. Esses dados são condizentes com estudos de Drewnowski et al. (1991), que comprovam a preferência por alimentos com alto teor de açúcar.

A maior energia total ingerida pelos animais dos grupos S e SN é principalmente decorrente da energia proveniente da ingestão de sacarose, já que animais do grupo C apresentaram maior energia ingerida da ração quando comparados a animais dos grupos S e SN.

A maior ingestão calórica dos animais dos grupos S e SN em relação ao grupo C implica em maior peso final, ganho de peso e circunferência abdominal destes animais em relação ao controle, apesar de não haver diferença significativa estatisticamente. Esses resultados estão de acordo com estudos de Goodson (2001), que mostrou que ingestão de solução de sacarose aumenta o peso corporal. Além disso, Hafidi (2001) demonstrou que a adição de sacarose na água de beber induz obesidade com deposição de gordura intra-abdominal. Interessante é o efeito protetor da NAC, prevenindo o aumento excessivo do peso e da circunferência abdominal nos animais do grupo SN.

Uma vez que animais dos grupos S e SN têm maior ganho de peso e menor ingestão alimentar que animais do grupo C, apresentam também menor taxa de ingestão voluntária (TIV). Entre animais dos grupos S e SN, não há diferença significativa na TIV.

O maior IMC dos animais do grupo C em relação a animais dos grupos S e SN, apesar do menor peso final, é devido ao menor comprimento corporal dos animais do grupo C em relação aos demais. Os grupos S e SN não diferem em relação ao comprimento corporal e IMC.

A despeito do maior peso final e ganho de peso, animais do grupo S têm a maior

superfície corporal e a menor taxa metabólica basal tanto no estado alimentado como no jejum quando comparados a animais dos grupos C e SN. Entre os grupos C e SN não há diferença significativa na superfície corporal bem como na taxa metabólica basal, evidenciando efeito benéfico da NAC, prevenindo alterações metabólicas decorrentes da inadequada ingestão alimentar, uma vez que a baixa taxa metabólica facilita o ganho de peso e está associada à síndrome metabólica (Buscemi et al., 2007).

Estudos anteriores evidenciaram que a ingestão de solução de sacarose determina estado de hiperglicemia (Novelli, 2005; Ebaid et al., 2006), o que corrobora com nossos dados visto que a ingestão de sacarose pelos animais dos grupos SS, SNAC e SN induz aumento nos níveis séricos de glicose no jejum quando comparados a animais dos grupos CC e CNAC, que receberam dieta padrão.

A ingestão crônica de NAC pelos animais do grupo SN mostra efeito benéfico, uma vez que reduz os níveis de glicose no jejum e após 30 e 60 min do início do TOTG em relação aos animais dos grupos SS e SNAC. Além disso, a administração de NAC, tanto crônica quanto aguda, normaliza o pico glicêmico nos animais dos grupos SNAC e SN quando comparados aos animais do grupo SS, mostrando-se, portanto, benéfica, já que regulariza a resistência à ação da insulina devido à dieta rica em sacarose.

Estudos com camundongos diabéticos *db/db* (Kaneto et al., 1999), ratos Zucker obesos e diabéticos (Tanaka et al., 1999) e camundongos CD1 com indução de diabetes pela aloxana (Ho et al., 1999) evidenciaram que a suplementação com NAC previne a hiperglicemia e melhora a intolerância à glicose associadas à preservação da secreção de insulina estimulada pela glicose. O mecanismo pelo qual a NAC inibe a indução de resistência à insulina parece ser relacionado às suas propriedades antioxidantes (Aruoma et al., 1989; Cotgreave et al., 1997), uma vez que a NAC disponibiliza cisteína e promove a síntese de GSH (Cotgreave et al., 1997). Infusão intravenosa de GSH tem sido relacionada ao aumento da distribuição da glicose em homens saudáveis (Paolisso et al., 1992) e a liberação, induzida pela glicose, de insulina pelas células β em ratos (Ammon et al., 1989). Além disso, ao GSH têm sido relacionada funções celulares não associadas à sua atividade antioxidante, como atuar como cofator da reação catalisada pela enzima

glioxalase no metabolismo do metilglioxal (Baynes et al., 1999).

A resistência à insulina que ocorre em animais de dieta rica em sacarose determina hiperglicemia nesses animais na medida em que há alteração na cinética de captação da glicose sanguínea por diversos tecidos. Assim, a glicose sanguínea permanece por mais tempo disponível em elevada concentração para tecidos que não necessitam da sinalização da insulina para sua captação. Dessa forma, a oxidação de carboidratos, em detrimento à oxidação de lipídios, pelos animais do grupo S é maior em relação aos grupos C e SN, tanto no jejum quanto no estado alimentado devido ao estado de resistência insulínica desenvolvida em decorrência da ingestão excessiva de sacarose. Devido à redução da velocidade de captação da glicose pelos tecidos periféricos, a glicose permanece por tempo maior na corrente sanguínea, sendo possível que ocorra oxidação de remanescentes de glicose mesmo após jejum de 12 horas. Estudos de Lombardo et al. (1996), mostraram que o consumo de dieta rica em sacarose resulta em constante estado de hiperglicemia, em que os níveis de insulina permanecem inalterados e incapazes de compensar a maior demanda. Isto, segundo os autores, sugere estado de resistência à insulina, com relativo déficit em sua secreção, que determina a síndrome diabética branda, cujas particularidades metabólicas e hormonais são semelhantes ao *diabetes mellitus* não-dependente de insulina.

Dessa forma, o quociente respiratório (QR) no grupo S é maior em relação aos demais grupos e o VO_2/g e $VO_2/\text{superfície corporal}$, bem como o VCO_2/g , são menores no grupo S em relação aos demais, tanto no jejum como no estado alimentado, o que corrobora a maior oxidação de carboidrato pelos animais do grupo S. Além disso, esses animais apresentam menor oxidação de lipídios quando comparados a animais dos grupos C e SN, no jejum e no estado alimentado, o que está diretamente associado à adiposidade abdominal e ao maior ganho de peso e peso corporal final nesses animais.

Estresse oxidativo desempenha importante função nas anormalidades da ação e secreção de insulina presentes no diabetes tipo 2 (Harber et al., 2003), bem como na patogênese das complicações decorrentes do diabetes (Avogaro et al., 2008). Dessa forma, estudos têm demonstrado o efeito benéfico de substâncias antioxidantes como a

NAC na patogênese de algumas doenças, inclusive as nefropatias (Drager et al., 2004).

Animais do grupo S apresentam aumento no estresse oxidativo quando comparados ao grupo C, uma vez que a concentração de hidroperóxido de lipídio está aumentada e a de substâncias antioxidantes totais está reduzida ao compararmos esse grupo aos grupos C e SN. Entretanto, animais do grupo SN têm redução nos níveis de HP e aumento nos níveis de SAT, evidenciando efeito benéfico da NAC na prevenção do estresse oxidativo e conseqüentemente dos efeitos deletérios a ele associados.

Há evidências de que o estresse oxidativo possa estar envolvido não só no desenvolvimento do diabetes, mas também das complicações micro e macrovasculares a ele associada (Brindisi et al., 2006). Hiperglicemia induz disfunção endotelial provavelmente através de estresse oxidativo (Marfella et al., 1995; Kawano et al., 1999), enquanto que a redução no estresse oxidativo está associada à melhora nessa disfunção (Ceriello et al., 2005). Vários estudos demonstram que, em pacientes com resistência insulínica e diabetes, a condição 'sine qua non' para a injúria vascular é o estresse oxidativo (Avogaro et al., 2008).

A nefrooptia diabética apresenta-se em quatro estágios evolutivos: hiperfiltração renal, nefropatia incipiente ou fase de microalbuminúria, nefropatia clínica ou fase de macroalbuminúria e insuficiência renal terminal (Murussi et al., 2003).

A hiperfiltração glomerular ocorre em resposta à descompensação metabólica característica do *diabetes mellitus*, sendo a expressão inicial do envolvimento renal, e patologicamente caracterizada por hipertrofia das células tubulares e glomerulares (Giacchetti et al., 2005), e conseqüentemente, por hipertrofia renal.

A nefropatia incipiente é caracterizada pela presença de um aumento da excreção urinária de albumina em níveis de 20 a 200 μ g/min, denominada microalbuminúria (Zelmanovitz et al., 1997), havendo, dessa forma, redução nos níveis séricos de albumina. A taxa de filtração glomerular encontra-se elevada de início, com tendência ao declínio quando a albuminúria atinge valores superiores a 70 μ g/min (Salgado, 2007)

A nefropatia clínica é definida pela presença de proteinúria persistente superior à 500mg/24h ou pela excreção urinária de albumina superior a 200 μ g/min

(macroalbuminúria) (Am. Diab. Assoc., 2002). Uma vez instalada a proteinúria, há uma perda progressiva de função renal, de modo que 10% dos pacientes evoluem para insuficiência renal crônica em 10 anos (Humphrey et al., 1989). Observa-se declínio gradual na taxa de filtração glomerular, evidenciada pela redução no clearance de creatinina ou pelo aumento dos níveis séricos de creatinina (Cockcroft et al., 1976). A progressiva perda de função renal leva ao estágio de insuficiência renal terminal, caracterizado pela uremia (Murussi et al., 2003).

Animais do grupo S apresentam maior peso renal, menor albuminemia, e proteinemia e maior nível de creatinina sérica em relação a animais do grupo C, o que comprova a existência de dano renal em fase clínica avançada. No entanto, a fase de uremia ainda não foi atingida, já que os níveis de uréia no soro são menores em animais do grupo S e SN em relação ao grupo C. Isso, porém pode ter ocorrido em virtude da menor ingestão protéica pelos animais dos grupos S e SN, uma vez que estes animais apresentam menor consumo de ração a despeito da ingestão de solução de sacarose, em relação a animais do grupo C. Assim, a menor ingestão protéica pode ter mascarado a existência de nefropatia diabética em fase mais avançada nos animais do grupo S.

Animais do grupo SN têm redução no peso renal, aumento nos níveis de albumina e proteínas totais e redução nos níveis de creatinina em relação a animais do grupo S. Assim, apesar desses animais apresentarem alterações que caracterizam a nefropatia diabética, estão em estágio mais inicial da doença em relação a animais do grupo S, evidenciando o efeito benéfico da NAC na progressão da nefropatia diabética.

CONCLUSÕES

A ingestão de sacarose determinou desenvolvimento de *diabetes mellitus*, bem como de suas complicações secundárias. Animais que desenvolveram o diabetes apresentaram aumento da glicemia de jejum e deficiência na secreção insulínica, o que implicou em alterações no metabolismo de carboidrato e lipídio, além de disfunção renal com alterações bioquímicas que caracterizam a nefropatia diabética.

A ingestão de NAC pelos animais do grupo SN foi benéfica na severidade do *diabetes mellitus* e de suas complicações secundárias, normalizando a glicemia de jejum desses animais e evitando alterações na utilização de substratos energéticos, bem como o aparecimento de danos renais mais graves.

BIBLIOGRAFIA

-
- ABRAHAM, N.G.; TSENOVOY, P.L.; GOODMAN, A.I. Heme oxygenase expression in diabetes and in renal diseases: Mechanisms of cytoprotection **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms** v.4(1), p.41-46, 2007
- ACHESON, K.J. Carbohydrate and weight control: where do we stand? **Current Opinion Clinical Nutrition Metabolism Care**, v.7, p.485-492, 2004
- AHMAD, et al. Heme oxygenase-1 gene expression increases vascular relaxation and decreases inducible nitric oxide synthase in diabetic rats. **Cell. Mol. Biol.** v.51, p.371–376, 2005
- American Diabetes Association. Diabetic Nephropathy. **Diabetes Care** v.25(1), p.s85-s89, 2002
- AMMON, H.P.; KLUMPP, S.; FUSS, A.; VERSPOHL, E.J.; JAESCHKE, H.; WENDEL, A.; et al. A possible role of plasma glutathione in glucose-mediated insulin secretion: in vitro and in vivo studies in rats. **Diabetologia**, v.32, p.797– 800, 1989
- ANDERSEN, A. R.; SANDAHL, C.J.; ANDERSEN, J.L. Diabetic nephropathy in type 1 (insulindependent) diabetes: an epidemiological study. **Diabetologia** v.25, p.496-501, 1993
- ARUOMA, O.K.; HALLIWELL, B.; HOEY, B.M.; BUTLER, J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: Its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide and hypochlorous acid. **Free Rad. Biol. Med.** v. 6, p. 593-597, 1989
- ATKURI, K.R.; MANTOVANI, J.J.; HERZENBERG, L.A.; HERZENBERG, L.A. N-Acetylcysteine – a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. **Current Opinion in Pharmacology** v. 7, p. 355-359, 2007
- AVOGARO, A. KREUTZENBERG, S.V. FADINI, G.P. Oxidative stress and vascular disease in diabetes: is the dichotomization of insulin signaling still valid? **Free Radic. Biol. Med.** doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.021, 2008
- BAYNES, J.W.; THORPE, S.R. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. **Diabetes** v.48(1), p.1–9, 1999
- BAKKER, S.J.; IJZERMAN, R.G.; TEERLINK, T.; WESTERHOFF, H.V.; GANS, R.O.; HEINE, R.J. Cytosolic triglycerides and oxidative stress in central obesity: the missing link between excessive atherosclerosis, endothelial dysfunction, and beta-cell failure? **Atherosclerosis** v. 148, p. 17-21, 2000
- BAYNES, J.W.; THORPE, S.R. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new

-
- perspective on an old paradigm. **Diabetes** v.48(1), p.1–9, 1999
- BRINDISI, M.C.; RABASA-LHORET, R.; CHIASSON, J.L. Postprandial hyperglycemia: to treat or not to treat? **Diabetes Metab.**, v. 32, p. 105-111, 2006
- BONANOMI, L.; GAZZANIGA, A. Toxicological, pharmacokinetic and metabolic studies on acetylcysteine. **Eur. J. Respir. Dis. Suppl.** v. 111, p. 45-51, 1980
- BORCH-JOHNSEN, K.; KREINER, S. Proteinuria: value as predictor of cardiovascular mortality in insulin-dependent diabetes mellitus. **Br Med J.** v.294, p.1651-4, 1987.
- BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes** v.54, p.1615-1625, 2005
- BURTON, B.T.; FOSTER, W.R.; HIRSCH, J. Health implications of obesity. **Internal Journal of Obesity**, v.9, p.155-170, 1985
- BUSCEMEI, S.; VERGA, S.; CAIMI, G.; CERASOLA, G. A low resting metabolic rate is associated with metabolic syndrome. **Clinical Nutrition** v. 26, p. 806-809, 2007
- BUSSEROLLES, J.; ROCK, E.; GUEUX, E.; MAZUR, A.; GROLIER, P.; RAYSSIGUIER, Y. Short-term consumption of a high-sucrose diet has a pro-oxidant effect in rats. **British Journal of Nutrition** v. 87, p. 337-342, 2002
- CERIELLO, A.; ASSALONI, R.; DA ROS, R.; et al. Effect of atorvastatin and irbesartan, alone and in combination, on postprandial endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in type 2 diabetic patients. **Circulation** v.111, p.2518-24, 2005
- CHOI, S.W.; BENZIE, I.F.F.; MA, S.W.; STRAIN, J.J.; HANNIGAN, B.M. Acute hyperglycemia and oxidative stress: direct cause and effect? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 44(7), p. 1217-31, 2008
- COCKCROFT, D.W.; GAULT, M.H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. **Nephron.** v. 16(1), p. 31-41, 1976
- COOPER, M.E. Pathogenesis, prevention and treatment of diabetic nephropathy. **Lancet** v. 352, p. 213-219, 1998
- COTGREAVE, I.A. N-acetylcysteine: pharmacological considerations and experimental and clinical applications. **Adv Pharmacol** v.38, p. 205–227, 1997
- DAVI, G.; FALCO, A.; PATRONO C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. **Antioxid. Redox Signal.** v.7, p.256–268, 2005
- DiabetesAtlas. http://www.eatlas.idf.org/Costs_of_diabetes/Direct_costs_of_diabetes/.
- DINIZ, Y.S.; FAINE, L.A.; ALMEIDA, J.A.; SILVA, M.D.P.; BIBAS, B. O.; NOVELLI, E.

-
- L. B. Toxicity of dietary restriction of fat enriched diets on cardiac tissue. **Food Chem. Toxicol.** v. 40, p. 1893-1899, 2002
- DRAGER, L.F., ANDRADE, L., TOLEDO, J.F.B., LAURINDO, F.R., CÉSAR, L.A.M. and SEGURO, A.C. Renal effects of N-acetylcysteine in patients at risk for contrast nephropathy: decrease in oxidant stress-mediated renal tubular injury. **Nephrol Dial Transplant.** v.19, p.1803-1807, 2004
- DREWNOWSKI, A.; KURTH, C.L. RAHAIM, J.E. Taste preferences in human obesity: environmental and familial factors. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 54, p. 635-641, 1991
- EBAID, G.M.X.; FAINE, L.; DINIZ, Y.S.; RODRIGUES, H.G.; GALHARDI, C.M.; RIBAS, B.; FERNANDES, A.A.; NOVELLI, E.L.B. Effects of digitonin on hyperglycemia and dyslipodemia induced by high-sucrose intake. **Food Chem. Toxicol.** v. 44, p.293-299, 2006
- FERREIRA, S.R.G.; ZANELLA, M.T. Sistema renina-angiotensina-aldosterona e nefropatia diabética **Rev. Bras. Hipertens.** v.3, p.268-74, 2000
- FREDERICKS, A.M.; VAN BUURENN, S.; JEURISSEN, S.E.R.; DE KKER, F.W. Height, weight, body mass index and pubertal development references for children of Moroccan origin in the Netherlands. **Acta Paediatrica.** v. 93(6), p.817-824, 2004
- GIACCHETTI, G.; SECHI, L.A.; RILLI, S.; CAREY, R.M. The renin-angiotensin-aldosterone system, glucose metabolism and diabetes. **Trends in Endocrinology and Metabolism** v.16(3), p. 120-126, 2005
- GOODSON, S.; HALFORD, J.C.G.; JACKSON, H.C.; BLUNDELL, J.E. Paradoxical effects of a high sucrose diet: high energy intake and reduced body weight gain. **Appetite** v. 37, p. 253-254, 2001
- GRESSIER, B.; CABANIS, A.; LEBEGUE, S.; BRUNET, C.; DINE, T.; LUYCKX, M.; CAZIN, M.; CAZIN, J.C. Comparison of the in vivo effects of two thiol-containing drugs on human neutrophil hydrogen peroxide production. **Meths. Find. Exp. Clin. Pharmacol.** v. 15, p. 101-105, 1993
- HAFIDI, M.E.; CUÉLLAR, A.; RAMIREZ, J.; BAÑORS, G. Effect of sucrose assition to drinking water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal $\Delta 9$ and $\Delta 5$ -desaturase activies. **J. Nutr. Biochem.** v. 12, p. 396-403, 2001
- HALLIWELL, B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free Radical Research** v. 25,
-

p. 57-74, 1996

- HARBER, C.A.; LAM, T.K.T.; YU, Z.; GUPTA, N.; GOH, T.; BOGDANOVIC, E.; GIACCA, A.; FANTUS, I.G. N-acetylcysteine and taurine prevent hyperglycemia-induced insulin resistance in vivo: possible role of oxidative stress. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** v.285, p. E744-53, 2003
- HO, E.; CHEN, G.; BRAY, T.M. Supplementation of N-acetylcysteine inhibits NFkappaB activation and protects against alloxan- induced diabetes in CD-1 mice. **FASEB J** v.13, p. 1845–1854, 1999
- HUMPHREY, L.L.; BALLARD, D.J.; FROHNERT, P.P.; CHU, C.P.; O' FALLON, W.M.; PALUMBO, P.J. Chronic renal failure in non-insulin dependent diabetes mellitus: a population-based study in Rochester, Minnesota. **Ann Intern Med** v.111, p.788- 96, 1989
- IHARA, Y.; TOYOKUMI, S.; UCHIDA, K.; ODAKA, H.; TANAKA, T.; IKEDA, H. Hyperglycemia causes oxidative stress in pancreatic betacells of GK rats, a model of type 2 diabetes. **Diabetes** v.48, p.927–932, 1999
- ISONO, M., MOGYOROSI, A., HAN, D.C., HOFFMAN, B.B., ZIYADEH, F.N. Stimulation of TGF- β type II receptor by high glucose in mouse mesangial cells and in diabetic kidney. **Am J Physiol Renal Physiol.** v.278(5), p.F830-838,2000
- JENNINGS, P.E.; McLAREN, M.; SCOT, N.A.; SANIABADI, A.R.; BELCH, J.J.F. The relationship of oxidative stress to thrombotic tendency in type I diabetic patients with retinopathy. **Diabetic Medicine** v.8, p.860– 865, 1991
- JEFFCOAT, R. Obesity – A perspective based on the biochemical interrelationship of lipids and carbohydrates. **Medical Hypotheses** v. 6895), p. 1159-1171, 2007
- JIANG, Z.Y.; WOOLLARD, A.C.S.; WOLF, S. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with TBA assay and on iodometric method. **Lipids.** v. 26, p.853-856, 1991
- KANETO, H.; KAJIMOTO, Y.; MIYAGAWA, J.; MATSUOKA, T.; FUJITANA, Y.; Umayahara, Y.; HANAFUSA, T.; MATSUZAWA, Y.; YAMASAKI, Y.; HORI, M. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity. **Diabetes** v.48, p.2398–2406, 1999
- KARLSEN, R.L.; GROFOVA, I.; MALTHE, S. Morphological changes in rat brain induced by L-cysteine injection in newborn animals. **Exp. Brain**, v. 208, p. 167-180, 1981

-
- KAWANO, H.; MOTOYAMA, T.; HIRASHIMA, O.; et al. Hyperglycemia rapidly suppresses flow-mediated endothelium-dependent vasodilation of brachial artery. **J Am Coll Cardiol** v.34, p.146-54, 1999
- KOK, N.; ROBERTFROID, M.; DELZENNE, N. Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. **Metabolism**, v.45, p.1547-1550, 1996
- KROLEWSKI, A.S.; CANESSA, M.; WARRAM, J.; LAFFEI, L.M.B.; CHRISTLIEB, R.; KNOWLER, W.C.; RAND, L.I. Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus. **N Engl J Med** v.381, p.140-5, 1988
- LABAYEN, I.; FORGA, L.; MARTÍNEZ, J.A. Nutrient oxidation and metabolic rate as affected by meals containing different proportions of carbohydrate and fat, in healthy young women. **Eur. J. Nutr.** v. 38, p. 158-166, 1999
- LAGRANHA, C.J., FIORINO, P., CASARINI, D.E., SCHAAN, B.D., IRIGOYEN, M.C. Bases Moleculares da Glomerulopatia Diabética. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v.51, p.901-912, 2007
- LEEHEY, D.J.; SINGH, A.K.; ALAVI, N.; SINGH, R. Role of angiotensin II in diabetic nephropathy. **Kidney Int.**v.58, p. S93-98, 2000
- LEVI, B. & WERMAN, M.J. Long-term fructose consumption accelerates glycation and several age-related variables in male rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1442-1449, 1998
- LOMBARDO, Y.B.; DRAGO, S.; CHICCO, A.; FAINSTEIN-DAY, P.; GUTMAN, R.; GAGLIARDINO, J.J.; GOMEZ DUMM, C.L. Long-term administration of a sucrose-rich diet to normal rats: relationship between metabolic and hormonal profiles and morphological changes in the endocrine pancreas. **Metabolism** v. 45(12), p. 1527-1532, 1996
- LOPES DE FARIA, J.B. Atualização em fisiologia e fisiopatologia: patogênese da nefropatia diabética **J Bras Nefrol** v.23(2), p.121-9, 2001
- LYONS, T.J. Oxidized low density lipoproteins: a role in the pathogenesis of atherosclerosis in diabetes? **Diabetic Medicine** v.8, p.411-419, 1991
- MALERBI, D.A.; FRANCO, L.J. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. **Diabetes Care**, v.15,

p.1509-16, 1992

- MARFELLA, R.; VERRAZZO, G.; ACAMPORA, R.; et al. Glutathione reverses systemic hemodynamic changes induced by acute hyperglycemia in healthy subjects. **Am J Physiol** v.268, p.E1167-E1173, 1995
- MARITIM, A.C.; SANDERS, R.A.; WAKINS, J.B. Effect of alpha lipoic acid on biomarkers of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. **J. Nutr. Biochem.** v.14, p.288–294, 2003
- McDONALD, R.B. Influence of dietary sucrose on biological aging. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 62, p. 284-293, 1995
- MEHMETCIK, G., TOKER, G. and UYSAL, M. Endogenous and copper-induced lipid hyperperoxidation and antioxidant activity of serum in hypercholesterolemic subjects. **Horm Metab Res** v.29, p.63-65, 1997
- MOLDEUS, P.; COTGREAVE, I.A.; BERGGREEN. Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. **Respiration**, v. 50, p. 31-42, 1986
- MURUSSI, M.; COESTER, A.; GROSS, J.L.; SILVEIRO, S.P. Nefropatia diabética no diabetes melito tipo 2: fatores de risco e prevenção. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.** v.47(3), p. 207-219, 2003
- NOLAN, J.J. What is type 2 diabetes? **Medicine** v. 34(2), p. 52-56, 2006
- NOVELLI, E. L. B. Nutrição e vida saudável. Estresse Oxidativo e metabolismo energético. São Paulo: Tecmed Eora, 2005.
- NOVELLI, E.L.B.; ALVES, M.J.Q.F.; FAINE, L.A.; CATANEO, A.C.; DINIZ, Y.S.; CAMPOS, K.E. Hypoglycaemic and antioxidant effects of onion, *Allium cepa*: dietary onion addition, antioxidant activity and hypoglycaemic effects on diabetic rats. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. v.54, p.241-6, 2003
- OBERLEY, L.W. Free radicals and diabetes. **Journal of Biological Chemistry** v.5, p.113–124, 1998
- OKADO, T., TERADA, Y., TANAKA, H., INOSHITA, S., NAKAO, A., SASAKI, S. Smad7 mediates transforming growth factor-beta-induced apoptosis in mesangial cells. **Kidney Int.** v.62(4), p.1178-86, 2002
- OLNEY, J.W.; OI LAN HO; THEE, V. Cytotoxic effects of acidic and sulphur containing amino acids and the infant mouse. Central Nervous System. **Exp. Brain Res.**, v.14, p.61-76, 1971

-
- PAOLISSO, G.; DI MARO, G.; PIZZA, G.; D'AMORE, A.; SGAMBATO, S.; TESAURO, P.; et al. Plasma GSH/GSSG affects glucose homeostasis in healthy subjects and non insulin-dependent diabetics. **Am J Physiol**, v.263, p. E435-40, 1992
- RABELINK TJ, BAKRIS GL. The rennin-angiotensin system in diabetic nephropathy: the endothelial connection. **Miner Electrolyte Metab.** v.24, p.381-8, 1998
- RASILAINEN S, NIEMINEM JM, LEVONEN AL, OTONKOSKI T, LAPATTO R. Dose-dependent cysteine-mediated protection of insulin-producing cells from damage by hydrogen peroxide. **Biochemical Pharmacology.** v.63, p.1297-1304, 2002
- REISER, S. Metabolic risk factors associated with heart disease and diabetes in carbohydrate-sensitive humans when consuming sucrose as compared to starch. In **Metabolic Effects of Utilisable Dietary Carbohydrates** S Reiser editor, New York, p. 239-259, 1982
- SALGADO, P.P.C.A. Prevalência e fatores associados à nefropatia diabética em pacientes com diabetes mellitus tipo 1. **Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre**, Belo Horizonte - MG, 2007
- SALGADO, P.P.C.A.; JÚNIOR, A.C.S.S.; OLIVEIRA, M.M.; PENIDO, M.G.; SANTANA, N.F.; SILVA, A.C.S. Fisiopatologia da nefropatia diabética. **Rer. Med . Minas Gerais** v.14(3), p.180-185, 2004
- SARAIVA, P.A.P.; COTTAPAN, A.; COTTAPAN, E.A.B.; OYAFUSO, M.M. 30 anos de experiência com n-acetilcisteína - novas perspectivas terapêuticas. **J.Biomolec. Med. Free Radic.** v. 3(3), p. 85-97,1997
- SINGH, A.K., GUDEHITHLU, K.P., PEGORARO, A.A., SINGH, G.K., BASHEERUDIN, K., ROBEY, R.B., et al. Vascular factors altered in glucose-treated mesangial cells and diabetic glomeruli. Changes in vascular factors impair endothelial cell growth and matrix. **Lab Invest.** v.84(5), p.597-606, 2004
- SPOLARICS, Z.; MEYENHOFER, M. Augmented resistance to oxidative stress in fatty rat livers induced by a short-term sucrose-rich diet. **Biochimica Biophysica Acta**, v.1487, p.190-200, 2000
- STROHL, K.P.; THOMAS, A.J.; JEAN, P.S.; SCHLENKER, E.H.; KOLETSKY, R.J.; SCHORK, N.J. Ventilation and metabolism among rat strains. **J. Appl. Physiol.** v. 82, p. 317-323, 1997

-
- TANAKA, Y.; GLEASON, C.E.; TRAN, P.O.; HARMON, J.S.; ROBERTSON, R.P.
Prevention of glucose toxicity in HIT-T15 cells and Zucker diabetic fatty rats by antioxidants. **Proc Natl Acad Sci USA** v.96, p.10857–10862, 1999
- TIEDGE, M.; LORTZ, S.; DRINKGERN, J.; LENZEN, S. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidant defense status on insulin-producing cells. **Diabetes** v. 46, p. 1733-1742, 1997
- USRDS Annual Data Report. III. Incidence and causes of treated ESRF. **Am J Kidney Dis.** v.18(2), p. 21-9,1991
- VALEZQUEZ, E.; WINCOUR, P.H.; KESTSVEN, P.; ALBERTI, K.G.M.M.; LAKER, M.F.
Relation of lipid peroxides to macrovascular disease in type 2 diabetes. **Diabetic Medicine** v.8, p.752-758, 1991
- YAMAMOTO, T.; NAKAMURA, T.; NOBLE, N.A.; RUOSLATHI, E.; BORDER, W.A.
Diabetic kidney disease is linked to elevated expression of transforming growth factor-beta. **Proc Natl Acad Sci USA** v. 90, p.1814-8, 1993
- ZELMANOVITZ, T.; GROSS, J.L.; OLIVEIRA, J.; PAGGI, A.; TATSCH, M.; AZEVEDO, M.J. The receiver operating characteristics curve in the evaluation of a random urine specimen as a screening test for diabetic nephropathy. **Diabetes Care** v. 20, p. 516-9, 1997
- ZIMENT, I. Acetylcysteine: a drug that is much more than a mucokinetic. **Biomed & Pharmacother.** v. 42, p. 513-520, 1988