

*Hosana Gomes Rodrigues*

**MODULAÇÃO DOS PARÂMETROS  
NUTRICIONAIS, MORFOMÉTRICOS,  
BIOQUÍMICOS SÉRICOS E CARDÍACOS,  
PELA SAPONINA, EM RATOS  
ALIMENTADOS COM DIETAS RICAS EM  
LIPÍDIOS, COLESTEROL E SACAROSE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Professora Titular Dr<sup>a</sup>. Ethel Lourenzi Barbosa  
Novelli

Botucatu – SP

2007

## **ORIENTADOR**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ethel Lourenzi Barbosa Novelli**

Estudo realizado no Departamento de Química  
e Bioquímica do Instituto de Biociências da  
Universidade Estadual Paulista - UNESP -  
Botucatu.

***Dedicatória***

---

Aos meus pais *Wellynton e Maria Auxiliadora*, pelo  
exemplo de vida, amor... por existirem.

## ***Agradecimentos Especiais***

---

À *Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ethel Lourenzi Barbosa Novelli*

À minha orientadora e amiga, pelos conhecimentos  
profissionais e humanos.

À minha família, *Fernanda, Cláudio, Catarina,*  
*Alexandre, Nordana, Raquel, Izzy, Cecília, Milton e*  
*Therezinha* por tornarem a minha vida ainda mais  
feliz.

Ao *Fabio*, meu companheiro, amigo e anjo de todas  
as horas, pelo amor, dedicação... por fazer parte  
da minha história.

Ao *CNPq* pelo apoio financeiro e incentivo ao  
desenvolvimento deste trabalho



# *Agradecimientos*

---

Ao *Seu Ivair, Dona Maria, Felipe, Cláudia, Raílson, Mariana, Juliana, Renata, Marcelo, Lucca e Igor* por me acolherem com tanto carinho.

Aos meus amigos, *Luciane, Jeane, Yeda, Regina, Cristiano, Geovana, Katiucha, Fábio, Gisele e Juliana* pela dedicação à realização deste trabalho, pela amizade e pelos momentos compartilhados.

Ao Prof. Dr. *Carlos Roberto Padovani* do Departamento de Bioestatística, UNESP, Botucatu, pelos cuidados estatísticos.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. *Léa Silvia Sant'Ana*, do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, Botucatu, pela preciosa colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

À secretária da Pós-Graduação da Clínica Médica *Ana Maria Mengue*, aos funcionários do Laboratório Experimental da Clínica Médica *Mário Baptista Bruno* e *José Carlos Georgette* e aos funcionários da sessão de Pós-graduação da UNESP-Botucatu, *Regina Célia Spadin, Nathanael P Salles, Lílian Cristina B Nunes e Janete Herculano Nunes*, pela atenção e carinho que sempre demonstraram.

Ao *Fabio Henrique Fava e Lurdes Ribeiro de Lemos e Maria A. N. de Oliveira* do Departamento de Química e Bioquímica - IB, pela dedicação e auxílio técnico.

# *Sumário*

---

<i>CAPÍTULO 1</i> .....	1
AÇÃO DA SAPONINA SOBRE PARÂMETROS NUTRICIONAIS E MORFOMÉTRICOS EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETAS RICAS EM LIPÍDIOS, COLESTEROL E SACAROSE .....	1
RESUMO .....	2
INTRODUÇÃO .....	3
MATERIAL E MÉTODOS .....	8
RESULTADOS .....	11
DISCUSSÃO .....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS* .....	30
<i>CAPÍTULO 2</i> .....	42
PERFIL LIPÍDICO E ESTRESSE OXIDATIVO: AÇÃO DA SAPONINA EM ANIMAIS ALIMENTADOS COM DIETAS RICAS EM LIPÍDIOS, COLESTEROL E SACAROSE .....	42
RESUMO .....	43
INTRODUÇÃO .....	44
MATERIAL E MÉTODOS .....	48
RESULTADOS .....	51
DISCUSSÃO .....	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS* .....	74
<i>CAPÍTULO 3</i> .....	89
MODULAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO E ESTRESSE OXIDATIVO MIOCÁRDICO, PELA SAPONINA, EM ANIMAIS ALIMENTADOS COM DIETAS RICAS EM LIPÍDIOS, COLESTEROL E SACAROSE.....	89
RESUMO .....	90
INTRODUÇÃO .....	91
MATERIAIS E MÉTODOS .....	92
RESULTADOS .....	98
DISCUSSÃO .....	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS* .....	114
<i>CAPÍTULO 4</i> .....	120
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	120

# *CAPÍTULO 1*

**AÇÃO DA SAPONINA SOBRE PARÂMETROS  
NUTRICIONAIS E MORFOMÉTRICOS EM RATOS  
ALIMENTADOS COM DIETAS RICAS EM LIPÍDIOS,  
COLESTEROL E SACAROSE**

---

## RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo determinar os efeitos da administração de saponina em ratos alimentados com dietas de diferentes proporções de lipídios, colesterol e sacarose sobre parâmetros morfométricos e nutricionais. Para tanto, 36 ratos, Wistar, 240g, foram divididos em 6 grupos com 6 ratos cada. O grupo P foi considerado controle recebendo dieta padrão. O grupo L recebeu dieta padrão acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico. O grupo S recebeu dieta padrão enriquecida com sacarose e óleo de soja. O grupo FP recebeu dieta padrão e saponina (4g/L) na água de beber. Animais do grupo FL receberam a mesma dieta do grupo L e saponina (4g/L) na água. O grupo FS recebeu a mesma dieta do grupo S e saponina (4g/L) na água. O experimento teve duração de 35 dias. Os resultados demonstraram que as dietas não elevaram o peso corporal, porém induziram alterações nos parâmetros nutricionais como eficiência alimentar e ingestão de líquidos. A administração de saponina induziu elevação no ganho de peso por aumentar a eficiência alimentar.

**Palavras chave:** saponina, lipídios, colesterol, sacarose, parâmetros nutricionais e morfométricos.

## INTRODUÇÃO

A obesidade constitui uma alteração metabólica de grande prevalência nas populações atuais. Quando associada com resistência à insulina, diabetes, hiperlipidemia ou hipertensão pode levar ao aumento substancial na morbi-mortalidade (Leonhardt et al., 1999). Diversos fatores são responsáveis pela epidemia da obesidade incluindo, estilo de vida sedentário, dietas ricas em lipídios, e o consumo de "fast-food" (Grundy, 1998). Embora inúmeros estudos tenham sido desenvolvidos sobre o tema, ainda não foi identificada uma maneira eficaz para reduzir esta tendência.

Hábitos alimentares são apontados como fatores que contribuem para o desenvolvimento da obesidade. Ao longo de poucas décadas, tem sido observada elevação na ingestão calórica (Putman & Allshouse, 1999), com ampla variação na proporção dos nutrientes consumidos. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a ingestão de dietas ricas em lipídios e colesterol está associada com elevação na obesidade (Seidell, 1998).

A ingestão de dietas com elevada concentração de lipídios e colesterol pode predispor à obesidade, desde que o elevado consumo de lipídios estimula o apetite e induz hiperfagia (Friedman, 1998). O excessivo ganho de peso resultante é conseqüência do aumento na ingestão energética (Prentice, 1998). Além disso, algumas espécies animais oxidam ácidos graxos de forma mais lenta e possuem elevada capacidade de estocar lipídios (McGarry, 1998).

As recomendações dietéticas atuais indicam que o consumo de colesterol acima de 300mg/dia tem influência negativa nos

lipídios séricos, podendo levar a distúrbios nos metabolismos de lipídios e carboidratos. Estas recomendações baseiam-se na suposição de que todas as pessoas apresentam flutuações plasmáticas nas concentrações de colesterol após sua ingestão, e que elevação no colesterol total induz diretamente aumento no risco de desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares (Herron et al., 2004).

A recomendação atual, como medida preventiva de conseqüências adversas, tem sido a diminuição no conteúdo de lipídios, colesterol e calorias das dietas, porém na maioria das vezes, a mudança alimentar resulta no elevado consumo de carboidratos.

Em 1993, Park & Yetley estimaram que o consumo individual médio de frutose em adolescentes e adultos era de 40g/dia, variando entre 29-54g/dia. Treze das 40g de frutose foram estimadas como sendo de fontes naturais, como frutas e legumes, e 27g como vindas de outras fontes de frutose.

A ingestão de sacarose e, conseqüentemente, frutose tem crescido, principalmente pelo aumento no consumo de refrigerantes, cereais matinais, condimentos e sobremesas adoçadas com sacarose e xarope de milho (Elliot et al., 2002).

No passado, a frutose era considerada benéfica no gerenciamento dietético do diabetes mellitus e na resistência à insulina, uma vez que a ingestão desse carboidrato resulta em menor circulação pós-prandial de glicose e insulina (Glismann & Bowman, 1993). À luz dos conhecimentos atuais, observações contraditórias foram comprovadas. Em termos de "feedback" para o sistema nervoso central (SNC), o consumo de frutose resulta em



diminuição na produção e, assim, menor sinalização da insulina e leptina no SNC. A insulina e a leptina estão envolvidas na regulação, à longo prazo, da homeostasia energética e adiposidade corporal (Havel, 2002).

Brand-Miller et al. (2002) sugeriram que as recomendações dietéticas de elevação no consumo de alimentos ricos em carboidratos são ineficientes para o controle do peso. Segundo esses autores, dietas contendo alimentos ricos em carboidratos, que promovem elevada resposta glicêmica, alteram o apetite e a utilização da energia promovendo o ganho de peso.

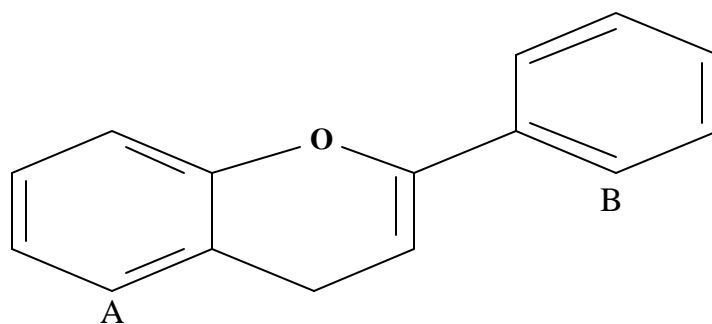
Elevada ingestão de carboidratos está geralmente associada com aumento no efeito glicêmico da dieta. Tanto a quantidade como a qualidade dos carboidratos influenciam a glicemia pós-prandial, e a interação entre os dois pode ser sinérgica (Brand-Miller et al., 2002).

Na tentativa de reduzir os efeitos da ingestão de dietas desbalanceadas, tem sido observado aumento no consumo de alimentos funcionais. Alimentos funcionais são definidos, segundo o International Food Information Council Foundation (1998), como aqueles que proporcionam benefícios à saúde além da nutrição básica. Segundo a American Dietetic Association (2004) os alimentos não devem ser analisados apenas em termos de macro e micronutrientes. A análise das substâncias fisiologicamente ativas e a avaliação do papel dessas substâncias na promoção da saúde tornam-se necessárias.

Os flavonóies pertencem a um grupo de compostos naturais com grande variedade de estruturas fenólicas, sendo encontrados em frutas, grãos, sementes, chás e vinhos (Middleton, 1998). Uma

“substância fenólica ou polifenólica” é aquela que possui um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados e/ou seus derivados funcionais (ésteres, éteres, glicosídeos) (Simões et al., 2004). Mais de 4000 variedades de flavonóides tem sido identificadas (de Groot & Rauen, 1998).

O esqueleto básico dos flavonóides, composto por dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de três átomos de carbono, resulta de rotas biossintéticas separadas: a do ácido chiquímico e a do acetato, via ácido malônico. A primeira origina fenilalanina, o precursor do ácido cinâmico que, por sua vez, origina o ácido cumárico, responsável por um dos anéis aromáticos (anel B) e a ponte de 3 carbonos. A segunda, resulta no outro anel aromático (anel A) do esqueleto básico dos flavonóides (Simões et al., 2004).



**Figura 1.** Estrutura geral de um flavonóide.

Pesquisas com flavonóides receberam impulso adicional com a descoberta do “Paradoxo Francês”, isto é, o baixo nível de mortalidade cardiovascular observado nas populações do Mediterrâneo em associação ao consumo de vinho tinto e a elevada ingestão de gordura saturada (Nijveldt et al., 2001).

Os flavonóides são divididos em várias classes, baseado na estrutura molecular.

Saponinas são flavonóides, formados por glicosídeos de esteróides, presentes em grande diversidade de plantas. Originalmente o termo saponina (sapon = sabão) foi atribuído a um grupo de substâncias que se dissolviam em água diminuindo a tensão superficial. São substâncias de elevada massa molecular e, de modo geral, ocorrem em misturas complexas devido à presença concomitante de estruturas com número variado de carboidratos, ou ainda devido à presença de diversas agliconas (Simões et al., 2004).

Ao longo do tempo, esse grupo de substâncias tem apresentado grande interesse farmacêutico, seja como adjuvante em formulações, componentes ativos em drogas vegetais, ou ainda, como matéria-prima para a síntese de esteróides (Simões et al., 2004). Diversas ações são atribuídas à saponina como atividade antioxidante (Huong et al., 1998), emulsificante (Cheeke, 1999), hipocolesterolêmica (Thompson, 1993) e hipoglicêmica (Shimizu et al., 1997).

Embora muito tenha sido estudado sobre os efeitos adversos associados ao consumo de dietas hipercalóricas, os efeitos da ingestão de dietas isocalóricas contendo diferentes proporções de lipídios, colesterol e sacarose ainda não foram estabelecidos. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo determinar os efeitos da administração de saponina, sobre parâmetros nutricionais e morfométricos, em ratos alimentados com dietas ricas em lipídios, colesterol e sacarose.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1. ANIMAIS**

Foram utilizados 36 ratos machos adultos *Wistar*, de peso médio 240 gramas. Os animais eram provenientes do Biotério Central da UNESP "campus de Botucatu" e foram 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  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , período claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico individuais, recebendo dieta e água destilada *ad libitum*. Para permitir a aclimatação dos animais, os ratos permaneceram nas condições acima citadas por um período de 15 dias antes do início do experimento. Diariamente as gaiolas foram limpas.

### **2. GRUPOS EXPERIMENTAIS**

Os animais foram divididos em 6 grupos (P, L, S, FP, FL e FS) com 6 ratos cada. O grupo P foi considerado controle (n=6), recebendo dieta padrão, Purina - Labina (Campinas, SP, Brasil). Os animais do grupo L (n=6) receberam dieta padrão acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico (Duarte et al., 1998). O grupo S (n=6) recebeu dieta padrão enriquecida com sacarose e óleo de soja (Chicco et al., 1991). O grupo FP (n=6) recebeu dieta padrão e saponina (4g/L) na água de beber. Animais do grupo FL (n=6) receberam dieta padrão acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico e saponina (4g/L) na água. O grupo FS (n=6) recebeu dieta padrão enriquecida com sacarose, óleo de soja e saponina (4g/L) na água.

As diferentes rações foram preparadas a partir do farelo da ração basal em concentrações que permitiram garantir o suprimento adequado de vitaminas, sais minerais, ácidos graxos e aminoácidos essenciais (Bieri et al., 1977).

### **3. DIETAS**

No preparo da ração contendo elevada concentração de lipídios, colesterol e ácido cólico, foram adicionadas ao farelo da ração basal, 120g de óleo de soja, 10g de colesterol cristalino e 1g de ácido cólico para cada 1 Kg de ração (Duarte et al., 1998). A ração enriquecida com sacarose foi preparada a partir do farelo da ração basal, sendo adicionadas 600g de sacarose e 60g de óleo de soja para cada 1Kg de ração (Chicco et al., 1991). Todas as misturas foram homogeneizadas com 2300mL de água quente (inferior a 60 °C). A seguir, as rações foram colocadas em máquina específica para formação de "pellets". Estes foram secos em estufa com ar circulante por um período de 24h, em temperatura inferior a 70°C. Após secagem as rações foram deixadas à temperatura ambiente para esfriar durante 24h, e conservadas em câmara fria à 6°C. A validade das rações preparadas era de 3 meses.

### **4. PARÂMETROS NUTRICIONAIS E MORFOMÉTRICOS**

O consumo alimentar e a ingestão de líquidos foram determinados diariamente, no mesmo horário (9:00-10:00hs). Diariamente foi ofertada 50g de ração e 75mL de líquido por animal. O consumo alimentar diário foi obtido pela subtração da dieta ofertada e o peso da dieta restante, após o consumo "ad libitum" em 24 horas. A ingestão de líquidos foi obtida pela

subtração da água ou solução ofertada e quantidade restante, após o consumo "ad libitum" em 24 horas.

Os animais foram pesados antes do início do experimento e semanalmente durante todo o período de tratamento.

Tendo como base o consumo alimentar diário médio, a energia da ração, as porcentagens de proteínas, lipídios e carboidratos e o ganho de peso, foram calculados os parâmetros nutricionais (Faine et al., 2002; Diniz et al., 2005; Burneiko et al., 2006; Ebaid et al., 2006):

- Energia Ingerida (EI; Kcal/dia) = consumo diário médio de ração X energia metabolizável de ração em Kcal/g
- Eficiência Alimentar (EA; %) = [Ganho de peso (g)/energia ingerida no período total (Kcal)] X 100.
- Consumo de proteínas (CP; g/dia) = consumo diário médio de ração X porcentagem de proteínas da ração.
- Consumo de lipídios (CL; g/dia) = consumo diário médio de ração X porcentagem de lipídios da ração.
- Ingestão de carboidratos (IC; g/dia) = consumo diário médio de ração X porcentagem de carboidratos da ração.

Após 35 dias de tratamento, os animais foram anestesiados para determinação do comprimento corporal (cabeça ao ânus, exceto a cauda).

Como parâmetros morfométricos foram utilizados o índice de massa corporal (IMC) (Diniz et al., 2006) e o índice de Lee (Bernardis, 1970). O IMC foi calculado dividindo-se o peso dos animais (g) pelo seu comprimento ao quadrado (cm<sup>2</sup>). O índice de Lee foi obtido através da raiz cúbica do peso corporal (g) dividida pelo comprimento (cm) dos ratos.

## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. A comparação entre os grupos foi realizada pela técnica de análise de variância (ANOVA) para o esquema de três fatores (colesterol, sacarose e saponina) com dois níveis (ausência e presença) no experimento completamente casualizado (Zar, 1994). O nível de significância foi de 5% para a discussão dos resultados (Norman & Streiner, 1994).

As letras utilizadas nas tabelas e figuras são referentes as seguintes comparações:

(a) Indica diferença significativa entre os grupos: P x S;  
FP x FS.

(b) Indica diferença significativa entre os grupos: P x L;  
FP x FL.

(c) Indica diferença significativa entre os grupos: P x FP;  
L x FL; S x FS.

## RESULTADOS

Pode-se observar, nas Tabelas 1 e 2 e Figura 2, que as dietas utilizadas eram isocalóricas. Uma vez que o colesterol não fornece calorias adicionais, utilizou-se óleo de soja nas dietas experimentais, para obtenção de valores energéticos similares. As concentrações de fibra neutra, umidade, sais minerais e vitaminas foram suficientes para a manutenção normal das atividades orgânicas dos animais. As dietas apresentaram diferente distribuição energética entre os macronutrientes sem, entretanto, haver modificação no conteúdo calórico total.

Não houve diferença significativa no peso inicial, peso corporal final, índice de massa corporal (IMC) e índice de Lee entre os grupos. O ganho de peso foi semelhante entre os animais que não consumiram saponina, bem como entre os grupos FP e FS. O grupo FL apresentou elevação no ganho de peso, quando comparado aos animais do grupo FP. Foi observado aumento no ganho de peso quando comparados os grupos que receberam saponina com seus respectivos controles (Tabela 3).

Não foi observada diferença estatística na ingestão alimentar (IA) e na energia ingerida (EI) entre a maior parte dos grupos estudados. O grupo FL elevou a IA e a EI em relação ao grupo L. Os grupos FS e FL apresentaram aumento na EI em relação ao grupo FP. Houve elevação da EI nos ratos do grupo L em relação aos do grupo P (Tabela 4)

Não houve modificação na eficiência alimentar (EA) na ausência de saponina. Animais que receberam saponina apresentaram elevação na EA e no ganho de peso em relação aos seus controles, sem saponina (Tabela 4 e Figura 3).

Os grupos P e L, FP e FL não apresentaram alteração significativa na ingestão de líquidos (IL). Nos grupos que receberam saponina foi observada elevação na IL em relação aos seus controles, sem saponina. Os grupos S e FS reduziram a IL em relação aos animais dos grupos P e FP, respectivamente (Tabela 4).

Não foi observada diferença significativa no consumo de proteínas (CP) entre os grupos que receberam saponina e os seus controles sem saponina. Os grupos L e S apresentaram diminuição



no CP em relação aos ratos do grupo P. Animais do grupo FL e FS reduziram o CP em relação aos animais do grupo FP (Tabela 5).

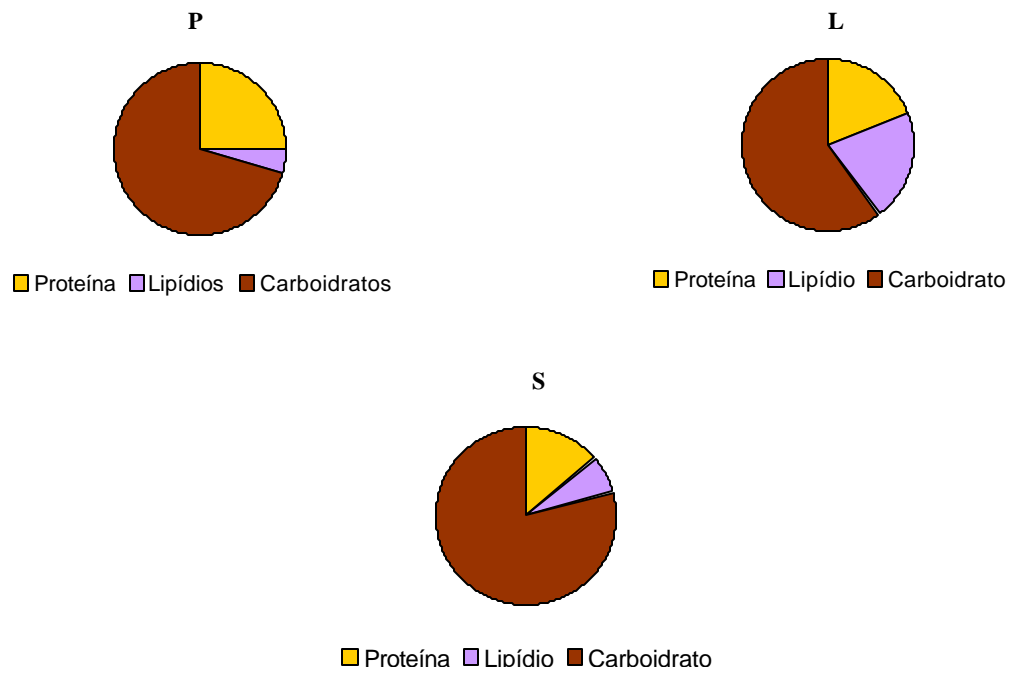
Não houve alteração no consumo de lipídios (CL) quando comparados os grupos FP e FS com seus controles P e S, respectivamente. Houve elevação no consumo de lipídios nos grupos L e S em relação ao grupo P, e nos grupos FL e FS em relação ao grupo FP. Ratos do grupo FL apresentaram aumento no CL em relação ao grupo L (Tabela 5).

A ingestão de carboidratos (IC) não variou de maneira significativa entre os grupos P e L, bem como entre FP e FL. A análise, entre os grupos que receberam saponina com seus controles, não indicou diferença significativa na IC. Os grupos S e FS apresentaram elevação na IC em relação aos animais P e FP, respectivamente (Tabela 5). Na Figura 4, pode-se observar que os animais dos grupos S e FS aumentaram a IC e diminuíram a ingestão de líquidos.

**Tabela 1.** Composição centesimal das dietas padrão (P), rica em óleo de soja, colesterol e ácido fólico (L) e com elevada concentração de sacarose (S)

Componentes	C	L	S
Proteína bruta (g/100g de ração)	23,54	19,77	14,00
Lipídio (g/100g de ração)	1,87	9,57	3,27
Carboidrato (g/100g de ração)	43,88	40,91	59,85
Fibra neutra (g/100g de ração)	13,85	13,26	9,39
Outros*	16,86	16,49	14,29

Determinações realizadas no Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) da UNESP/Botucatu. (\*) Outros: Umidade, sais minerais e vitaminas. Sais minerais (mg/Kg de ração): manganês 50 mg; iodo 2mg; ferro 65mg; zinco 35 mg; cobre 26 mg. Vitaminas: (A) retinol 20.000 UI; (D<sub>3</sub>) 6.600 UI; (E) 30 UI; (K) 6mg; (B<sub>12</sub>) 10 mg; (B<sub>2</sub>) 8 mg; pantotenato de cálcio 24 mg; niacina 95 mg; tiamina 4 mg; colina 2.000 mg; piridoxina 6 mg; biotina 0,1 mg; ácido fólico 0,5 mg. Composição básica do produto: milho, farelo de trigo, farelo de soja, farinha de carne, farelo de arroz cru, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, sal. Valores obtidos com base na composição da ração Purina-Labina.



**Figura 2.** Porcentagem calórica proveniente de cada macronutriente das dietas padrão (P), rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L) e rica em sacarose (S).

**Tabela 2** Porcentagem calórica proveniente de cada componente das dietas padrão (P), rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L) e com elevada concentração de sacarose (S)

Componentes (% calórica)	P	L	S
Proteína (% calórica)	32,86	24,04	16,83
Lipídios (% calórica)	5,87	26,19	9,10
Carboidratos (% calórica)	61,26	49,74	74,06
Energia (Kcal/g)	2,86	3,28	3,23

**Tabela 3** Peso inicial, ganho de peso, peso final, índice de massa corporal (IMC) e índice de Lee dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS)

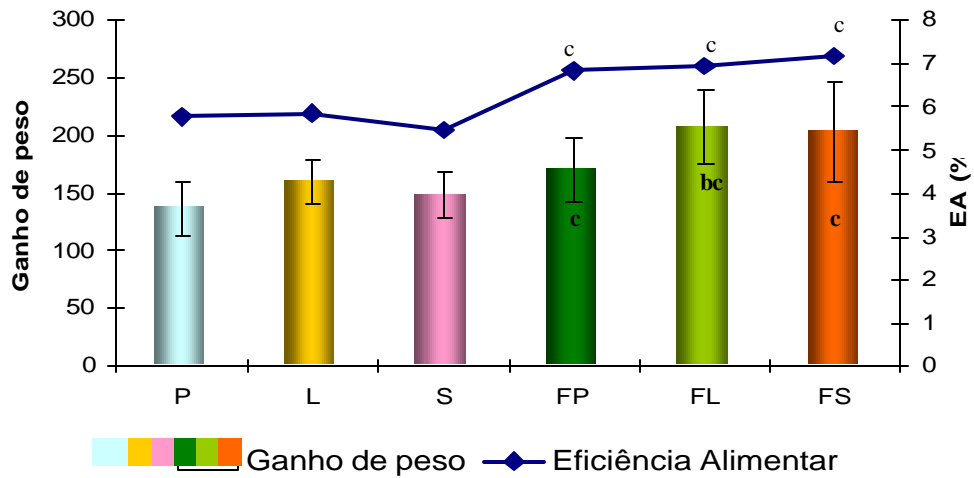
	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
Peso inicial (g)	239,0±14,8	242,2±13,1	242,9±28,5	217,9±25,5	221,3±17,4	223,5±24,0
Ganho de peso (g)	136,4±22,7	160,5±18,8	148,2±20,5	170,2±27,6 <sup>c</sup>	207,1±32,3 <sup>bc</sup>	202,4±43,5 <sup>c</sup>
Peso final (g)	375,5±24,1	402,7±27,5	391,2±41,5	388,2±23,0	428,4±47,8	425,9±55,7
IMC (g/cm <sup>2</sup> )	0,69±0,02	0,67±0,03	0,70±0,04	0,70±0,006	0,71±0,006	0,71±0,007
Índice de Lee	0,30±0,005	0,30±0,006	0,30±0,008	0,31±0,01	0,30±0,008	0,30±0,01

Valores expressos como média±desvio-padrão. (b) indica diferença significante entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significante entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

**Tabela 4.** Ingestão alimentar (IA), energia ingerida (EI), eficiência alimentar (EA) e ingestão de líquidos (IL) dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS)

	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
IA (g/dia)	24,18±1,75	23,83±1,45	23,88±0,87	25,59±1,43	26,69±3,4 <sup>c</sup>	25,48±2,87
EI (Kcal/dia)	69,17±5,02	78,19±4,76 <sup>b</sup>	77,15±2,83	73,20±4,10	87,57±11,19 <sup>bc</sup>	82,30±9,27 <sup>a</sup>
EA (%)	5,76±0,41	5,85±0,45	5,47±0,59	6,82±0,94 <sup>c</sup>	6,94±0,54 <sup>c</sup>	7,16±0,88 <sup>c</sup>
IL (ml/dia)	36,08±4,71	32,61±2,13	28,08±2,96 <sup>a</sup>	47,12±3,60 <sup>c</sup>	44,20±2,75 <sup>c</sup>	33,06±1,84 <sup>ac</sup>

Valores expressos como média±desvio-padrão. (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.



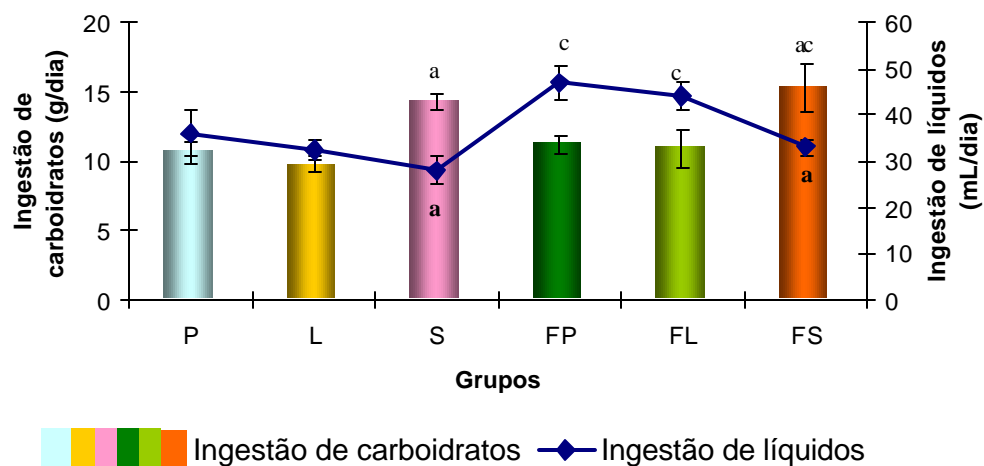
**Figura 3.** Ganho de peso e eficiência alimentar (EA) nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

**Tabela 5.** Consumo de proteínas (CP), consumo de lipídios (CL) e ingestão de carboidratos (IC) dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS)

	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
CP (g/dia)	5,69±0,41	4,71±0,28 <sup>b</sup>	3,24±0,11 <sup>a</sup>	6,02±0,33	5,27±0,67 <sup>b</sup>	3,46±0,39 <sup>a</sup>
CL (g/dia)	0,45±0,03	2,28±0,13 <sup>b</sup>	0,78±0,02 <sup>a</sup>	0,47±0,02	2,55±0,32 <sup>bc</sup>	0,83±0,09 <sup>a</sup>
IC (g/dia)	10,61±0,77	9,75±0,59	14,29±0,52 <sup>a</sup>	11,23±0,63	10,92±1,39	15,25±1,71 <sup>a</sup>

Valores expressos como média±desvio-padrão. (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.





**Figura 4.** Ingestão de carboidratos e ingestão de líquidos nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

## DISCUSSÃO

O conhecimento dos efeitos biológicos dos componentes alimentares tem modificado a importância dada à alimentação na manutenção da saúde.

Atualmente, a ingestão de dietas inadequadas, ricas em colesterol e carboidratos, tem aumentado na maioria das populações (Schauwen et al., 2000), podendo estar associada ao aparecimento de obesidade e inúmeras repercussões sistêmicas como dislipidemias (McNamara, 2000; Matos et al., 2005) e alterações cardiovasculares (Novelli et al., 2002; Diniz et al., 2002; Faine et al., 2002). Tem sido demonstrado que o desequilíbrio alimentar constitui uma das principais causas do desenvolvimento e perpetuação de diversas doenças crônico-degenerativas (Neves, 1997; Balkan et al., 2004). Inúmeros estudos comprovam a importância do controle da ingestão de determinados nutrientes como, colesterol, lipídios saturados e carboidrato refinado, em relação à ingestão total de calorias, na prevenção de patologias (Danforth, 1985; Flatt, 1987; Prewitt et al., 1991; Storleien et al., 2000; Achesson, 2004). Entretanto, a despeito do grande número de estudos sobre o tema, os efeitos da variação dos componentes das dietas, sobre parâmetros nutricionais e morfométricos ainda não estão claramente definidos.

Estudos recentes têm indicado que mudanças nos hábitos alimentares podem representar medidas iniciais na prevenção e tratamento de várias patologias (Costa et al., 2000; Kaur & Kapoor, 2001; Battino et al., 2002). A atribuição de efeitos benéficos à ingestão de componentes naturais, e substâncias com

propriedades antioxidantes, como os flavonóides, tem levado ao aumento da ingestão destes compostos, na maioria das populações. Embora, as reais conseqüências do elevado consumo destes compostos, ainda não estejam efetivamente estabelecidas.

Neste estudo, foram evidenciados os efeitos da administração de saponina sobre parâmetros morfométricos e nutricionais de ratos mantidos com dietas contendo diferentes proporções de lipídios, colesterol e sacarose. Desde que as dietas utilizadas foram isocalóricas (Tabelas 1 e 2 e Figura 2) (Matsuo et al., 1995), é evidente, que os efeitos da ingestão das diferentes dietas foram decorrentes da modificação nos seus componentes, e que as conseqüências da ingestão de lipídios, colesterol e sacarose foram estudadas, sem a interferência da quantidade calórica das dietas.

O consumo de proteínas (CP) foi diminuído nos animais que ingeriram as dietas ricas em colesterol ou sacarose em relação à dieta padrão (Tabela 5). Segundo Reeves (1997) ratos adultos necessitam de 14% de proteína para a manutenção do peso e desenvolvimento normais. A Tabela 1 mostra que todas as dietas apresentavam mais de 14% de proteína, não sendo, portanto, hipoproteicas. O consumo de lipídios (CL) e a ingestão de carboidratos (IC) comprovam que as dietas ofertadas foram eficientes para variar a ingestão destes nutrientes. Animais alimentados com dieta rica em óleo de soja e colesterol apresentaram elevado consumo de lipídios. Ratos alimentados com dieta rica em sacarose apresentaram aumento na ingestão de carboidratos. Como esperado, a administração de saponina não alterou o CP, CL e IC (Tabela 5).

Após 5 semanas de tratamento o ganho de peso, o peso corporal final, o índice de massa corporal (IMC) e o índice de Lee foram semelhantes nos animais que não receberam saponina (Tabela 3). Desde que elevação no IMC (Diniz et al., 2006) e no índice de Lee (Bernardis, 1970) é utilizada para caracterizar obesidade em ratos, está claro que as dietas utilizadas não induziram obesidade. Resultados concordantes foram obtidos por Mudallal et al. (1995) e Sória et al. (2001), que não observaram alterações significantes no peso corporal final, de ratos alimentados com dietas ricas em carboidratos.

Embora possa haver concordância entre alguns autores quanto à manutenção do peso corporal, após ingestão de diferentes tipos de dietas, o mecanismo através do qual os componentes da dieta atuam no peso corporal tem demonstrado inúmeras controvérsias. A conversão de glicose em lipídio, através da lipogênese, só ocorre após a reposição dos estoques teciduais de glicogênio. Este processo consome quantidade considerável de energia, dificultando dessa forma o ganho de peso (Flatt, 1992). Lammert et al. (2000) afirmaram que dietas com conteúdos de sacarose de 15 a 30% induziam elevação na eliminação de energia através das fezes, o que contribuiria para a manutenção do peso corporal.

Archer et al. (2003), observaram redução no peso de indivíduos alimentados com dieta contendo elevada concentração de carboidratos. Segundo estes autores, não houve alteração no consumo de energia durante o período experimental. Entretanto, foi observada importante variabilidade individual nas mudanças do peso corporal, em resposta à elevada ingestão de carboidratos. Indivíduos que iniciaram o estudo com peso

corporal mais elevado foram os que apresentaram a maior redução no peso final.

A resposta ao consumo elevado de sacarose pode também depender da espécie animal estudada. Enquanto ratos *Osborne-Mendel* respondem com acúmulo de lipídios e ganho de peso, outras espécies (como a S5B/PI) apresentam perda de peso (Schemmel et al., 1982).

A ação da sacarose dietética na manutenção, redução, ou ganho de peso corporal, também é dependente da forma na qual ela é administrada. Sacarose pode elevar a ingestão e aumentar o ganho de peso, quando administrada separadamente da ração, como uma solução aquosa (Lawton & Blundell, 1992). Neste caso, o animal pode modular a ingestão de sacarose em relação ao consumo de outras fontes energéticas. Em contraste com uma dieta rica em sacarose, na qual a única forma do animal reduzir o consumo de sacarose é diminuindo a ingestão de ração (Goodson et al., 2001).

Em relação aos lipídios, diversos autores não demonstraram elevação no ganho de peso em ratos alimentados com dietas ricas em lipídios (Prewitt et al., 1991; Kim et al., 2000; Iossa et al., 2003). Ratos que ingeriram elevadas quantidades de lipídios preveniram a obesidade através do aumento no gasto energético corporal e pela oxidação lipídica (Iossa et al., 2000). Estas adaptações estão relacionadas com modificações na atividade metabólica de órgãos e tecidos, especialmente fígado e músculos (Cleary et al., 1985). Entretanto, estudos demonstram que a adaptação metabólica às mudanças na ingestão de lipídios é lenta, e se existir predisposição genética para o acúmulo de tecido

adiposo, a elevação no conteúdo lipídico da dieta pode aumentar a probabilidade do desenvolvimento da obesidade (Abbot et al., 1988; Hill et al., 1991; Thomas et al., 1992; Astrup et al., 1994).

Blundell & Mcdiarmid (1997) observaram que indivíduos alimentados com dieta rica em lipídios (45% das calorias) apresentaram aumento no IMC em relação ao grupo que ingeriu dieta de baixa concentração de lipídios (menos de 35% das calorias). Entretanto, grande número de indivíduos que consumiram elevada quantidade de lipídios não apresentaram alteração no IMC. No presente trabalho, não foram observadas alterações no IMC, bem como no índice de Lee. Feoli et al. (2003) não observaram variação no ganho de peso e peso corporal final, quando estudaram os efeitos da adição de 1% de colesterol à ração de ratos.

A elevação na energia ingerida pelos animais que receberam dieta rica em lipídios e colesterol (grupos L e FL), comparados aos grupos com dieta padrão (grupos P e FP) e a manutenção no peso corporal (Tabela 3 e Figura 3), foram associadas à característica não-energética do colesterol. Desde que a estrutura em anel do colesterol não pode ser metabolizada a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , não ocorre liberação de energia quando este nutriente é degradado (Champe et al., 2006).

A análise do peso corporal dos animais que receberam saponina permitiu observar, que a elevação no ganho de peso nos animais do grupo FL em relação aos animais do grupo FP foi associada á elevada ingestão energética destes animais (Tabelas 3 e 4). Kim et al. (2005) demonstraram que a saponina reduziu a

concentração de leptina em ratos alimentados com dietas de elevado conteúdo lipídico. A leptina constitui importante fator na regulação da ingestão alimentar e estimulação do gasto energético (Maffei et al., 1995), sendo considerada o sinal da saciedade. Administração de leptina em ratos geneticamente obesos reduz a ingestão alimentar e conseqüentemente o ganho de peso (Houseknecht et al., 1998). A deficiência congênita de leptina em humanos está associada com início precoce da obesidade. Desta forma, o aumento no ganho de peso e na ingestão alimentar dos animais mantidos com dieta rica em lipídios e colesterol e que receberam saponina, poderia estar associado à alteração na resposta metabólica à leptina.

Independente da manutenção do consumo alimentar e da energia ingerida, animais que receberam saponina apresentaram elevação no ganho de peso, quando comparados aos controles, sem saponina (Tabela 3 e Figura 3).

Segundo Harbone (1986), os flavonóides representam importantes constituintes não-energéticos da dieta. Este fato indicou claramente, que a elevação no peso corporal esteve associada à elevação na eficiência alimentar induzida pela saponina (Tabela 4). É evidente que a saponina proporcionou melhor aproveitamento dos componentes calóricos das dietas.

Vários processos podem estar associados ao mecanismo da ação da saponina sobre os componentes dietéticos. A saponina afeta o sistema enzimático e os mecanismos de transporte localizados nas membranas celulares da mucosa intestinal (Onning et al., 1996). Embora reduzindo o transporte ativo de galactose

em ratos, a saponina aumenta a captação de nutrientes pelo transporte passivo (Johnson et al., 1986).

Na digestão e absorção dos lipídios, estão envolvidas a emulsificação e a formação de micelas. A saponina apresenta atividade surfactante e detergente, podendo influenciar a emulsificação de substâncias solúveis em lipídios no intestino, incluindo a formação de micelas contendo ácidos biliares, ácidos graxos, diacilgliceróis e vitaminas lipossolúveis (Cheeke, 1999). Segundo Oakenfull & Sidhu (1989) a saponina estabiliza a interface óleo/água das micelas.

A ingestão de grãos, como trigo e aveia que contém  $\beta$  glucanas, ou gomas viscosas pouco solúveis em água reduz a absorção de compostos pela mucosa intestinal, devido a elevada viscosidade. Tem sido demonstrado que a saponina pode aumentar a solubilidade destes compostos, através da ação surfactante, levando ao melhor aproveitamento destes grãos (Cheeke, 1999). Francis et al. (2002) observaram que peixes tratados com saponina apresentaram elevação na eficiência alimentar e aumento no crescimento corporal. Segundo estes autores, os efeitos da saponina estavam associados ao aumento da absorção de nutrientes, através das membranas intestinais, cuja permeabilidade era elevada pela saponina. Neste mesmo estudo, foi verificado que a saponina também atua reduzindo o catabolismo, indicando que na presença de saponina, ocorre aumento no conteúdo energético disponível para estoque.

Deste modo, por aumentar a emulsificação e a digestão de lipídios, a saponina melhora o aproveitamento dos componentes dietéticos, elevando a eficiência alimentar.



A propriedade emulsificante da saponina pode estar associada ao aumento na ingestão de líquidos pelos animais que receberam o flavonóide. Independente da dieta, a administração de saponina elevou consideravelmente a ingestão de líquidos (IL) (Tabela 4). Silva et al. (2005) atribuíram a saponina importante efeito diurético. Desta forma, a saponina pode aumentar o fluxo urinário, com elevação compensatória na IL.

Estudos recentes demonstram que a saponina exerce atividade antiinflamatória (Sur et al., 2001; Kim et al., 2006). Segundo estes autores, a saponina reduz o edema causado por drogas indutoras de inflamações. Estes fatos constituem evidências favoráveis à observação que o ganho de peso nos grupos com saponina foi decorrente do aumento na eficiência alimentar, embora tenha havido elevação na IL, nestes animais.

É notório o fato que elevada ingestão de carboidratos induz aumento na síntese hepática de ácidos graxos (Novelli, 2005). Também é conhecido o fato que a metabolização da glicose à acetil coenzima-A e a síntese de ácidos graxos a partir de acetil coenzima-A libera quantidade considerável de água. Estes fatos podem estar associados à redução na ingestão de líquidos pelos animais, que consumiram dieta rica em sacarose (Tabela 4 e Figura 4). Desta forma, animais que receberam dieta rica em sacarose utilizaram o excesso de glicose, proveniente da ração, para a formação de lipídios, liberando suficiente quantidade de água.

Os resultados deste estudo permitiram concluir que alterações nos componentes das dietas induziram modificações no consumo de macronutrientes, afetaram o consumo alimentar e a

ingestão de líquidos sem, entretanto afetar o peso corporal. A administração de saponina induziu elevação no peso corporal, aumentando a eficiência alimentar, permitindo assim, melhor aproveitamento dos componentes da dieta.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\***

\* International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to journals. N Engl J Med 1997; 336: 309-315.

Abbot WGH, Howard BV, Christin L, et al. Short-term energy balance: relationship with protein, carbohydrate and fat balances. Am J Physiol 1988; 255:E332-E337.

Acheson KJ. Carbohydrate and weight control: where do we stand? Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2004; 7:485-492.

American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. J Am Diet Assoc 2004; 104:814-826.

Archer WR, Lamarche B, Dériaz O, Landry N, et al. Variations in body composition and plasma lipids in response to a high-carbohydrate diet. Obes Res 2003; 11:978-986.

Astrup A, Buemann B, Christensen NJ, Toubro S. Failure to increase lipid oxidation in response to increasing dietary fat content in formerly obese women. Am J Physiol 1994; 266:E592-E599.

Balkan J, Dogru-Abbasoglu S, Aykaç-Toker G, Uysal M. The effect of a high cholesterol diet on lipids and oxidative stress in

- plasma, liver and aorta of rabbits and rats. *Nutr Res* 2004; 24:229-234.
- Battino M, Quiles JL, Huertas JR, Ramirez-Tortosa MC, Cassinello M, Mañas M, Lopez-Frias M, Mataix J. Feeding fried oil changes antioxidant and fatty acid pattern of rat and affects rat liver mitochondrial respiratory chain components. *J Bioen Biomem* 2002; 34:127-134.
- Bernardis LL. Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's Nutritive ratio in rats with hypothalamic obesity. *Experimen* 1970; 26:789-790.
- Bieri JG, Stedwards GS, Briggs GM, Phillips RW, Woodard JC, Knapla JJ. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 1977; 107:1340-1348.
- Blundell JE, Mcdiarmid JI. Passive overconsumption. Fat intake and short-term energy balance. *Ann NY Acad Sci* 1997; 827:392-407.
- Brand-Miller JC, Holt SHA, Pawlak DB, Mcmillan J. Glycemic index and obesity. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (suppl):281S-285S.
- Bray GA, Popkin BM. Dietary fat intake does affect obesity. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:1157-1173.
- Burneiko RC, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HG, Ebaid GMX, Faine LA, Padovani CR, Cicogna AC, Novelli ELB. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicol* 2006; 44:1167-1172.
- Champe P, Harvey RA, Ferrier DR. *Bioquímica Ilustrada*. 3.ed. São Paulo: Artmed, 2006. 446p.

- Cheeke PR. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. Proc Am Soc Anim Sci 1999.
- Chicco A, Gutman R, Lombardo YB. Biochemical abnormalities in the heart of rats fed asucrose-rich diet is the low activity of pyruvate dehydrogenase complex a result of increased fatty acid oxidation? Metabolism 1991; 40:15-21.
- Cleary MP, Fox N, Lazin B, Bilheimer J. A comparison of the effects of ad libitum feeding and pair feeding to DHEA treatment in the obese Zucker rat. Nutr Res 1985; 5:1247-1257.
- Costa RP, Menendez G, Bricarello LP, Elias MC, Ito M. Óleo de peixe, fitosteróis, soja e antioxidantes: impacto nos lípidos e na aterosclerose. Rev Soc Cardiol Est SP 2000; 10:819-827.
- Danforth E. Diet and obesity. Am J Clin Nutr 1985;41:1132-1145.
- de Groot H, Rauen U. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. Fundam Clin Pharmacol 1998; 12:249-255.
- Diniz YS, Faine LA, Almeida JA, Silva MDP, Ribas BO, Novelli ELB. Toxicity of dietary restriction of fat enriched diets on cardiac tissue. Food and Chem. Toxicol 2002; 40:1893-1899.
- Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, rodrigues HG, Ebaid GMX, Burneiko RC, Cicogna AC, Novelli ELB. Monosodium glutamate in standard and high-fiberdiets: metabolic syndrome and oxidative stress in rats. Nutr 2005; 21:749-755.
- Diniz YS, Rocha KKHR, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Novelli Filho, JLVB, Cicogna AC, Novelli ELB. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced

- hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. Eur J Pharmacol 2006; 543:151-157.
- Duarte HS, Costa NMB, Leal PFG, Oliveira TT. Avaliação do efeito de sopas desidratadas ricas em fibra na redução do colesterol sanguíneo em ratos. Rev Nutr 1998; 11:149-161.
- Ebaid GMX, Faine LA, Diniz YS, Rodrigues HG, Galhardi CM, Ribas BO, Fernandes AAH, Novelli ELB. Effects of digitonin on hyperglycaemia and dislipidemia induced by high-sucrose intake. Food Chem Toxicol 2006; 44:293-299.
- Elliot SS, Kein NL, Stern SS, Teff K, et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. Am J Clin Nutr 2002; 76:911-922.
- Faine LA, Diniz YS, Almeida JA, Novelli ELB, Ribas BO. Toxicity of ad lib. overfeeding: effects on cardiac tissue. Food and Chem Toxicol 2002; 40:663-668.
- Feoli AM, Roehrig C, Rotta LN, Kruger AH, et al. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. Nutr 2003; 19:789-793.
- Flatt JP. Energy costs of ATP synthesis. In: Energy Metabolism: Tissue determinants and cellular corollaries. New York: Raven Press Ltd, 1992. pp319-343.
- Flatt JP. The difference in the storage capacities for carbohydrate and for fat, and its implications in the regulation of body weight. Ann NY Acad Sci 1987; 499:104-123.
- Francis G, Makkar HPS, Becker K. Effects of cyclic and regular feeding of a *Quillaja saponin* supplemented diet on growth and metabolism of common carp (*Cyprinus carpio L.*). Fish Physiol and Bioch 2002; 24:343-350.

- Friedman MI. Fuel partitioning and food intake. *Am J Clin Nutr* 1998; 67(suppl):S513-S518.
- Glismann WH, Bowman BA. The public health significance of dietary fructose. *Am J Clin Nutr* 1993; 58 (suppl):820S-823S.
- Goodson S, Halford JCG, Jackson HC, Blundell JE. Paradoxical effects of a high sucrose diet: high energy intake and reduced body weight gain. *Appet* 2001; 37:253-254.
- Grundy SM. Multifactorial causation of obesity: implications for prevention. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:S563-S572.
- Harbone JB. Nature distribution and function of plant flavonoids. In: *Plant Flavonoid and Medicine : Biochemical, Pharmacological, and Structure-Activity Relationship*, p.15-24, 1986.
- Havel PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein and adiponectin. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:51-59.
- Herron KL, Lofgren IE, Sharman M, Volek JS, Fernandez ML. High intake of cholesterol results in less atherogenic low-density lipoprotein particles in men and women independent of response classification. *Metab* 2004; 53:823-830.
- Hill JO, PetersJC, Reed GW, Schlundt DG, Sharp T, Greene HL. Nutrient balance in humans: effects of diet composition . *Am J Clin Nutr* 1991; 54:10-17.
- Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME. The biology of leptin: a review. *J Anim Sci* 1998; 76:405-420.
- Huong NTT, Matsumoto K, Kasai R, et al. In vitro antioxidant activity of vietnamese ginseng saponin and its components. *Biol Pharm Bull* 1998; 21:978-981.

- International Food Information Council Foundation. Functional foods. In: Food insight media guide 1998. Washington DC: International Food Information Council Foundation.
- Iossa S, Lionetti L, Mollica MP, CrescenzoR, Barletta A, Liverini G. Effect of lonterm high-fat feeding on energy balance and liver oxidative activity in rats. Br J Nutr 2000; 84:377-385.
- Iossa S, Lionetti L, Mollica MP, CrescenzoR, Botta M, Barletta A, Liverini G. Effect of high-fat feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adult rats. Br J Nutr 2003; 90:953-960.
- Johnson IT, Gee JM, Price KR, Curl C, Fenwickgr. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. J Nutr 1986; 116:2270-2277.
- Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. Int J Food Sci Technol 2001; 36:703-725.
- Kim JH, Hahm DH, Yang DC, Kim JH, Lee HJ, Shim I. Effect of crude saponin of Korean red ginseng on high-fat diet-induced obesity in the rat. J Pharmacol Sci 2005; 97:124-131.
- Kim JY, Hwang YP, Kim DH, Han EH, Chung YC, Roh SH, Jeong HG. Inhibitory effect of the saponins derived from roots of *Platycodon grandifloru* on Carrageenam-induced inflammation. Biosci Biotechnol Biochem 2006; 70:858-864.
- Kim JY, Nolte LA, Hansen PA, Han DH, Ferguson K, Thompson PA, Holloszy JO. High-fat diet-induced muscle insulin resistance; relationship to visceral fat mass. Am J Physiol Regulat Integr Comp Physiol 2000; 279:R2057-R2065.

- Lammert O, Grunnet N, Fabe P, Bjornsboc KS, et al. Effects of isocaloric overfeeding of either carbohydrate or fat in young men. *Br J of Nutr* 2000; 84:233-245.
- Lawton CL & Blundell JE. The effect of d-fenfluramine on intake of carbohydrate supplements is influenced by the hydration of the test diets. *Behav Pharmacol* 1992; 3:517-523.
- Leonhardt M, Hrupka B, Langhans W. New approaches in the pharmacological treatment of obesity. *Eur J Nutr* 1999; 38:1-13.
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Le GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995; 1:1155-1161.
- Matos SL, de Paula H, Pedrosa ML, dos Santos RC, et al. Dietary models for inducing hypercholesterolemia in rats. *Braz Arch Biol Technol* 2005; 48:203-209.
- Matsuo T, Shinomura Y, Saitoh S, Tokuyama K, Takeuchi H, Suzuki M. Sympathetic activity is lower in rats fed a beef tallow diet than in rats fed a safflower oil diet. *Metabolism* 1995; 44:934-939.
- McGarry JD. Glucose-fatty acid interactions in health and disease. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: S500-S504.
- McNamara DJ. Dietary cholesterol and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1529:310-320.
- Middleton EJ. Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol* 1998; 439:175-182.



- Mudallal AS, Levin BE, Lust WD, Harik SI. Effects of unbalanced diets on cerebral metabolism in the adult rat. *Neurol* 1995; 45:2261-2265.
- Neves NM. Os elementos da dieta no tratamento da doença cardiovascular. In: *Nutrição e Doença Cardiovascular* 1997; 4:49-61.
- Nijveldt RJ, Nood E, Hoorn DEC, Boelens PG, Norren K, Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:418-425.
- Norman GR, Streiner DL. *Biostatistic - the base essentials*. St. Louis: Mosby Book, 1994. 260p.
- Novelli ELB, Fernandes AAH, Campos KE, Diniz YS, Almeida J A, Faine LA, Ribas BO. The adverse effect of a high energy dense diet on cardiac tissue. *J Nutr & Environ Med* 2002; 12:287-294.
- Novelli ELB. *Nutrição e Vida Saudável - estresse oxidativo e metabolismo energético*. Ribeirão Preto: Tecmed, 2005. 288p.
- Oakenfull D, Sidhu GS. Saponins. In: PR Cheeke (Ed). *Toxicants of Plant Origin*. Vol 2 pp 97-141. CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.
- Onning G, Wang Q, Westron BR, Asp NG, Karlsson BW. Influence of oat saponins on intestinal permeability in vitro and in vivo in the rat. *Br J Nutr* 1996; 76:141-151.
- Park YK, Yetley EA. Intakes and food sources of fructose in the United States. *Am J Clin Nutr* 1993; 58 (suppl): 737S-747S.
- Prentice AM. Manipulation of dietary fat and energy density and subsequent effects on substrate flux and food intake. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (suppl):S535-S541.

- Prewitt TE, Schmeisser D, Bowen PE, AyeP, Dolecek TA, Langenberg P, Cole T, Brace L. Changes in body weight, body composition and energy intake in women fed high and low-fat diets. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:304-310.
- Putman JJ, Allshouse JE. Food consumption, prices and expenditures 1970-1997. Washington, DC. Economic Research Service, US Department of Agriculture, 1999.
- Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 1997; 127:838S-841S.
- Schauwen P, Wsterterp KP, et al. The role of high-fat and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr* 2000; 84:417-420.
- Schemmel R, Taegue R, Bray G. Obesity in Osborne-Mendel and S5B/PI rats: effects of sucrose solutions, castration and treatment with estradiol or insulin. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol* 1982; 243:R347-R352.
- Seidell JC. Dietary fat and obesity: an epidemiologic perspective. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:S546-S550.
- Shimizu K, Ozeki M, Tanaka K, et al. Suppression of Glucose absorption by extracts from the leaves of *Gymnema inodorum*. *J Vet Med Sci* 1997; 59:753-757.
- Silva GM, de Souza AM, Lara LS, Mendes TP, da Silva BP, Lopes AG. A new steroidal saponin from *AGAVE brittoniana* and its biphasic effect on the Na<sup>+</sup> ATPase activity. *Z Naturforsch* 2005, 60 (1-2):121-127.
- Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, de Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS e UFSC, 2004. 1102p.

- Sória A, D'alessandro ME, Lombardo YB. Duration of feeding on sucrose-rich diet determines metabolic and morphological changes in rat adipocytes. *J Appl Physiol* 2001; 91:2109-2116.
- Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, et al. Diet composition and insulin action in animal models. *Br J Nutr* 2000; 83 (suppl.1):S85-S90.
- Sur P, Chaudhuri t, Vedasiromoni JR, gomes A, Ganguly DK. Antiinflammatory and antioxidant property of saponin of tea [*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze] root extract. *Phytoth Res* 2001; 15:174-176.
- Thomas CD, Peters JC, Reed GW, Abumrad NM, Sun M, Hill JO. Nutrient balance and energy expenditure during ad libitum feeding of high-fat and high-carbohydrate diets in humans. *Am J Clin Nutr* 1992; 55:934-942.
- Thompson LU. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Res Intern* 1993; 26:131-149.
- Zar JH. *Biostatistical analysis*. 4.ed. New Jersey: Practice-Hall, 1994. 663p.

# *CAPÍTULO 2*

**PERFIL LIPÍDICO E ESTRESSE OXIDATIVO: AÇÃO DA  
SAPONINA EM ANIMAIS ALIMENTADOS COM  
DIETAS RICAS EM LIPÍDIOS, COLESTEROL E  
SACAROSE**

---

## RESUMO

Inúmeras condições patológicas estão associadas ao estresse oxidativo (EO) e dislipidemias. Essas alterações desenvolvem-se lentamente tornando-se manifestas quando clinicamente instaladas. Deste modo, os estudos da ação da saponina sobre a dislipidemia e o EO séricos, em ratos alimentados com dieta padrão e rica em lipídio, colesterol e sacarose, são de grande interesse. Para tanto, 36 ratos, Wistar, 240g, foram divididos em 6 grupos (n=6). O grupo P, controle, recebeu dieta padrão. O grupo L recebeu dieta acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico. O grupo S recebeu dieta enriquecida com sacarose e óleo de soja. O grupo FP recebeu dieta padrão e saponina (4g/L) na água de beber. Grupo FL recebeu a mesma dieta do grupo L e saponina (4g/L) na água. O grupo FS recebeu a dieta do grupo S e saponina (4g/L) na água. O experimento teve duração de 35 dias. Os resultados demonstraram que as dietas utilizadas induziram diferentes tipos de dislipidemias e EO. O consumo de saponina foi eficaz na normalização da lipidemia e na redução do EO, através de suas propriedades antioxidantes.

**Palavras chaves:** Dietas inadequadas, flavonóides, estresse oxidativo, dislipidemias.

## INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DC) representam a principal causa de mortalidade prematura e de invalidez permanente. (American College of Cardiology, 2003). A alteração cardiovascular tem sido reconhecida como a ponta de um iceberg, no qual a parte submersa representa o conjunto de anormalidades metabólicas precedentes (American College of Cardiology, 2003). Este fato estaria relacionado à ocorrência de danos cardíacos em indivíduos aparentemente saudáveis, o que aumenta substancialmente o risco de eventos cardiovasculares subsequentes. Existe, portanto, grande interesse no controle das alterações metabólicas que podem ocorrer em indivíduos assintomáticos.

Hábitos alimentares inadequados constituem importantes fatores associados ao aparecimento de dislipidemias e, conseqüentemente, DC. A recomendação freqüente, como medida preventiva de conseqüências adversas, tem sido a diminuição no conteúdo de lipídios e calorias das dietas, porém na maioria das vezes, a mudança alimentar resulta no elevado consumo de carboidratos. Acrescentam-se ainda ingestão de dietas ricas em colesterol, que contribui consideravelmente para o aparecimento de dislipidemias e aterosclerose (Costa et al., 2000).

Dietas suplementadas com frutose e sacarose induzem alterações metabólicas em animais, semelhantes às observadas em indivíduos diabéticos, incluindo anormalidades vasculares na retina e esclerose glomerular renal (Poulson, 1986). Elevada ingestão de frutose induziu hipertrigliceridemia, hipertensão e elevada resistência à insulina em ratos (Bezerra et al., 2001).

A hipertrigliceridemia está freqüentemente associada ao aumento na resistência à insulina (Seboková et al., 1996) e repetidos episódios de hiperglicemia pós-prandial, decorrente da elevação na resistência à insulina, podem induzir alterações vasculares resultando disfunção pancreática (Svensson et al., 1996).

Dietas ricas em gorduras saturadas e colesterol são consideradas aterogênicas por elevarem os níveis plasmáticos de colesterol e triacilgliceróis, elevando, portanto, fatores de risco na etiologia da doença isquêmica cardiovascular (Neves, 1997).

Schwab et al. (2000) verificaram que a adição de colesterol em dietas com óleo de milho resultou em aumento na susceptibilidade à oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol).

Também tem sido demonstrado que ingestão de dietas ricas em colesterol é responsável pela elevação na concentração sérica do colesterol e da LDL em humanos (Gaw et al., 2001). Duarte et al. (1998), observaram aumento de 57% no colesterol sérico de ratos alimentados com dietas ricas em colesterol e contendo ácido cólico.

Ratos tratados com dietas ricas em colesterol apresentaram elevação na concentração de triacilglicerol (TG) (Balkan et al., 2004). Vários trabalhos têm demonstrado o papel aterogênico dos triacilgliceróis (Bloongarden 2002; Brizzi et al., 2003).

É notória a associação entre elevação na colesterolemia, aterosclerose e a doença arterial coronariana (Naderali et al., 2004). A dislipidemia induz anormalidades na função arterial e acúmulo de LDL-colesterol no endotélio vascular (Naderali &

Williams, 2001). Fatores de risco para a doença cardiovascular incluem elevações nas concentrações de triacilglicerol, colesterol, ácidos graxos livres, LDL-colesterol e diminuição na lipoproteína de elevada densidade (HDL-colesterol) (Abuja & Albertini, 2001).

Dislipidemias e estresse oxidativo constituem evidências da maior predisposição à formação de LDL-oxidada e aparecimento de aterosclerose.

Estresse oxidativo denota a diferença entre a produção de espécies oxidantes e seus respectivos mecanismos de defesa. Oxidantes podem ser gerados através de radiação iônica, reações químicas, reações enzimáticas, através de catalisação de oxido-redução envolvendo íons de metais de transição, ou ligações de íons a enzimas (Novelli, 2005).

Durante o estresse oxidativo, radicais livres tais como o radical superóxido ( $O_2^-$ ), radical hidroxil ( $OH^\cdot$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) podem produzir danos, como a peroxidação de lipídios insaturados das membranas celulares. A lipoperoxidação é uma reação em cadeia, desde que se propaga continuamente, levando a formação de lipoperóxidos e à destruição celular. Para evitar esta situação o meio biológico dispõe de vários sistemas antioxidantes. Na diminuição destes sistemas, ou no excesso da produção de radicais livres, ou na conjugação das duas situações, o meio celular fica sujeito ao estresse oxidativo que conduzirá o dano oxidativo de macromoléculas celulares (Ferreira & Matsubara, 1997; Nishiyama et al., 1998; Biesalki, 2000).

Não há dúvidas que a alimentação exerce papel fundamental na manutenção da saúde, e que dietas ricas em sacarose e



colesterol podem contribuir consideravelmente para o aparecimento de dislipidemias, resistência à insulina e estresse oxidativo.

Prevenir e tratar doenças cardiovasculares em geral, por meio da terapia dietética são medidas claramente demonstradas na literatura (Costa et al., 2000).

Nos últimos anos, o interesse sobre a nutrição tem estimulado o estudo do papel da dieta na prevenção de patologias degenerativas e manutenção da saúde. Os alimentos têm assumido o status de "alimentos funcionais", os quais podem promover efeitos fisiológicos benéficos prevenindo o aparecimento de doenças crônico-degenerativas (Kaur & Kapoor, 2001).

Os polifenóis são compostos que incluem flavonóides e ácidos fenólicos entre outros metabólitos (Manach et al., 1997).

Flavonóides são compostos que apresentam propriedades antioxidantes. Ocorrem naturalmente em frutas, vegetais e bebidas como chás, vinho e sucos e são parte integrante da dieta humana. Este grupo de polifenóis exibe grande variedade de efeitos biológicos como antimicrobiano, antialérgico ou vasodilatador. Estudos epidemiológicos têm demonstrado correlação inversa entre o consumo de dietas ricas em flavonóides e a mortalidade por doenças degenerativas (Johns et al., 1999).

Saponinas são flavonóides estruturalmente formados por glicosídeos triterpenóides, ou esteróides.

Shimizu et al. (1997), observaram que a saponina inibiu a elevação do nível sérico de glicose.

Segundo Thompson (1993) a saponina pode apresentar efeitos hipocolesterolêmicos em animais, e em humanos.

Huong et al. (1998), observaram efeito antioxidante da saponina, em cérebro e fígado de ratos.

A observação que dietas inadequadas, ricas em lipídios, colesterol e sacarose, têm sido consumidas pela maioria das populações, indica a necessidade de estudos dos efeitos destas dietas no estresse oxidativo e na dislipidemia. Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi evidenciar a influência do consumo de dietas ricas em lipídios, colesterol e sacrose, bem como da administração de saponina, no perfil lipídico e nos marcadores do estresse oxidativo séricos em ratos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1. ANIMAIS**

Foram utilizados 36 ratos machos adultos *Wistar*, de peso médio 240 gramas. Os animais eram provenientes do Biotério Central da UNESP "campus de Botucatu" e foram 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  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , período claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico individuais, recebendo dieta e água destilada *ad libitum*, sendo divididos em 6 grupos (P, L, S, FP, FL e FS) com 6 ratos cada. O grupo P foi considerado controle (n=6), recebendo dieta padrão, Purina - Labina (Campinas, SP, Brasil). Os animais do grupo L

(n=6) receberam dieta padrão acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico (Duarte et al., 1998). O grupo S (n=6) recebeu dieta padrão enriquecida com sacarose e óleo de soja (Chico et al., 1991). O grupo FP (n=6) recebeu dieta padrão e saponina (4g/L) na água de beber. Animais do grupo FL (n=6) receberam dieta padrão acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico e saponina (4g/L) na água. O grupo FS (n=6) recebeu dieta padrão enriquecida com sacarose, óleo de soja e saponina (4g/L) na água.

As diferentes rações foram preparadas a partir do farelo da ração basal, como descrito por Rodrigues (2007, Capítulo 1, página 10).

As concentrações de glicose (Boehringer Mannheim, Eli Lilly do Brasil, SP, Brasil) e corpos cetônicos (Optimum, MediSense, Abbott Laboratories, Bedford, MA, USA) foram determinadas após jejum de 12-14h, no sangue total, coletado através da veia caudal após 35 dias dos tratamentos.

## **2. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS**

Após 35 dias de tratamento, os animais foram anestesiados e sacrificados por decapitação. O sangue foi coletado em tubos de ensaio, com auxílio de funil. O soro foi separado por centrifugação a 4.500 rpm. As concentrações de proteínas totais, albumina, triacilglicerol, colesterol total e lipoproteína de densidade elevada (HDL-colesterol) foram determinadas no soro pelo método enzimático (CELM diagnóstico, Companhia de Equipamentos de Laboratório Moderno, São Paulo, Brasil).

As concentrações de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL-colesterol) foram determinadas através do cálculo de Friedewald et al (1972). A lipoproteína de densidade baixa (LDL-colesterol) foi isolada através da precipitação (CELM diagnóstico, Companhia de Equipamentos de Laboratório Moderno, São Paulo, Brasil) e suspensão do precipitado em hidróxido de sódio (Scoccia et al., 2001). A lipoproteína LDL-colesterol foi determinada através da quantificação do colesterol e a LDL-oxidada pela quantificação do hidroperóxido de lipídio na mistura ressuspensa (Jiang et al., 1991). A apolipoproteína B (apo B) foi quantificada na mistura ressuspensa (CELM diagnóstico, Companhia de Equipamentos de Laboratório Moderno, São Paulo, Brasil).

O hidroperóxido de lipídio (HP) foi determinado através da oxidação do  $Fe^{2+}$  (sulfato ferroso amoniacal). O  $Fe^{3+}$  formado reage com alaranjado de xilenol formando composto colorido (Jiang et al., 1991). As substâncias antioxidantes totais (SAT) foram calculadas através da porcentagem de inibição na formação de HP (Mehmetcik et al., 1997).

As leituras espectrofotométricas foram realizadas no espectrofotômetro Pharmacia Biotech com temperatura controlada (U/V visible Ultrospec 5000, software Swift II, 974213, Cambridge, England, UK). As atividades enzimáticas foram analisadas a 25 °C usando leitor de microplaca ( $\mu$ Quant-MQX 200, software Kcjunior, Bio-Tec Instruments, Winooski, Vermont, USA). Todos os reagentes eram de procedência Sigma (St. Louis, MO, USA).

### **3. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados obtidos foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A comparação entre os grupos foi realizada pela técnica de análise de variância (ANOVA) para o esquema de três fatores (colesterol, sacarose e saponina) com dois níveis (ausência e presença) no experimento completamente casualizado (Zar, 1994). O nível de significância foi de 5% para a discussão dos resultados (Norman & Streiner, 1994).

As letras utilizadas nas tabelas e figuras são referentes as seguintes comparações:

- (a) Indica diferença significativa entre os grupos: P x S;  
FP x FS.
- (b) Indica diferença significativa entre os grupos: P x L;  
FP x FL.
- (c) Indica diferença significativa entre os grupos: P x  
FP; L x FL; S x FS.

## **RESULTADOS**

Após 35 dias de período experimental não foram observadas alterações significantes nas concentrações sanguíneas de glicose entre os grupos P e L, bem como entre os grupos FP, FL e FS. O grupo FS elevou a glicemia de jejum em relação ao seu controle, S. Animais do grupo S mostraram redução na glicemia quando comparados ao grupo P (Tabela 1).

Não foram observadas alterações significantes nas concentrações sanguíneas de corpos cetônicos (CC) entre os animais dos grupos P e L, FP e FL, bem como entre os grupos FL e L. Não houve diferença significativa na cetonemia entre os grupos P e FP, S e FS. Houve elevação no CC nos grupos S e FS em

relação aos animais dos grupos P e FP, respectivamente. O grupo FP apresentou diminuição na cetonemia quando comparado aos animais do grupo P (Tabela 1). Nas Figuras 1 e 2 pode-se observar que, com o aumento na ingestão de carboidratos houve elevação nas concentrações sanguíneas de triacilglicerol (TG) e CC.

Não houve diferenças significantes nas concentrações de colesterol total (CT) entre os grupos FP e FL, bem como entre S e FS. Animais dos grupos L e S apresentaram elevação no CT em relação ao grupo P. Houve hipercolesterolemia nos animais do grupo FP em relação ao seu controle, P. Ratos do grupo FL reduziram a colesterolemia em relação ao grupo L (Tabela 1).

Não foi observada diferença estatística nas concentrações de HDL-colesterol entre os grupos estudados (Tabela 1).

Não houve modificação significativa nas concentrações de LDL-colesterol entre os grupos P e S, FP e FS, bem como entre P e FP, S e FS. Foi observada elevação na LDL entre os animais dos grupos F e FL em relação aos grupos P e FP, respectivamente (Tabela 1).

Animais do grupo S apresentaram elevação na VLDL e no TG em relação ao grupo P. Animais do grupo FS aumentaram a VLDL e o TG em relação ao grupo FP e ao seu controle, S. O grupo FP reduziu as concentrações de VLDL e TG em relação ao grupo P (Tabela 1).

Quando analisada a relação colesterol total/HDL (CT/HDL), não foram observadas diferenças significantes entre os grupos P e S, FP e FL, FP e FS, bem como entre os grupos que receberam saponina com seus controles, sem saponina. Animais do grupo L elevaram a CT/HDL em relação ao grupo P (Figura 3). Na Figura 3

pode-se observar que o grupo FP elevou as concentrações de CT, mas não modificou a relação CT/HDL quando comparado ao grupo P.

O grupo FP apresentou elevação na relação HDL/LDL quando comparado ao grupo P. Animais do grupo L reduziram a HDL/LDL em relação ao grupo controle. Os grupos FL e FS apresentaram diminuição na relação HDL/LDL quando comparados aos ratos do grupo FP (Figura 4).

Animais do grupo FP apresentaram elevação na relação HDL/TG quando comparados ao grupo P. Ratos que receberam dieta rica em sacarose (grupos S e FS) apresentaram redução na razão HDL/TG em relação aos seus respectivos controles, P e FP (Figura 5).

A Tabela 2 apresenta as concentrações séricas de proteína, albumina e de marcadores do estresse oxidativo. Não houve diferença significativa nas concentrações de proteína total (PT) entre os grupos P e S, bem como entre os animais que receberam saponina, quando comparados entre si. O grupo L apresentou elevação na PT em relação ao grupo P. Animais do grupo FL apresentaram redução na PT em relação ao seu controle, L. Na Figura 6, pode-se observar que a redução no consumo de proteínas não diminuiu as concentrações séricas de PT. Não foi observada correlação significativa ( $r^2 = 0,008$  e  $p > 0,05$ ) entre o consumo de proteínas e as concentrações séricas de proteína total (Figura 7).

As concentrações de albumina foram semelhantes entre os grupos estudados (Tabela 2).

O grupo FS elevou a SAT em relação ao grupo FP. Entretanto, ratos do grupo FP apresentaram redução na SAT em relação aos animais do grupo P (Tabela 2).

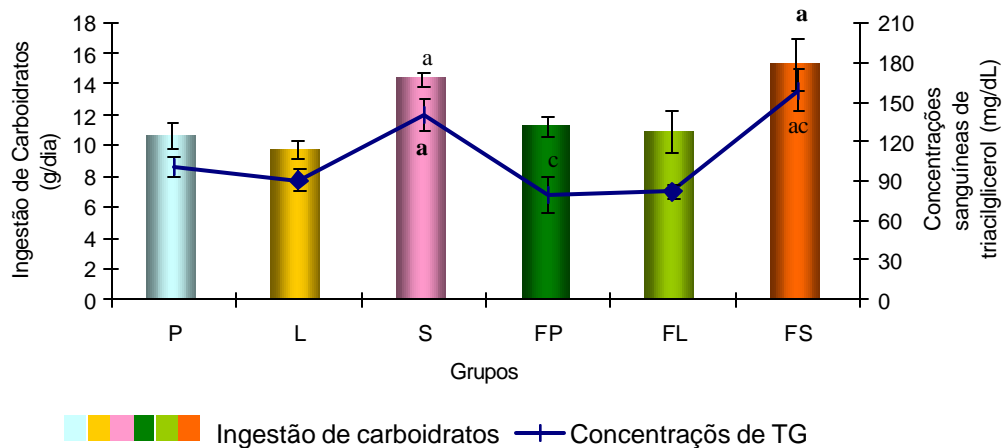
Não houve diferença significativa nas concentrações de LDL-oxidada (LDL-ox) e de apolipoproteína B (Apo B) entre os grupos P e S, P e FP, S e FS. Não foi observada diferença significativa na LDL-ox entre o grupo FS quando comparado aos animais do grupo FP. O grupo L apresentou elevação na LDL-ox e na ApoB em relação ao grupo P. Ratos do grupo FL elevaram a LDL-ox em relação ao grupo FP e, apresentaram redução na LDL-ox em relação aos animais do grupo L. Foi observada elevação na Apo B, quando o grupo FL foi comparado aos animais do grupo FP (Tabela 2). Na figura 8, pode-se observar que houve correlação positiva e significativa ( $r^2 = 0,71$ ,  $p < 0,0001$ ) entre as concentrações de LDL-colesterol e de LDL-oxidada.



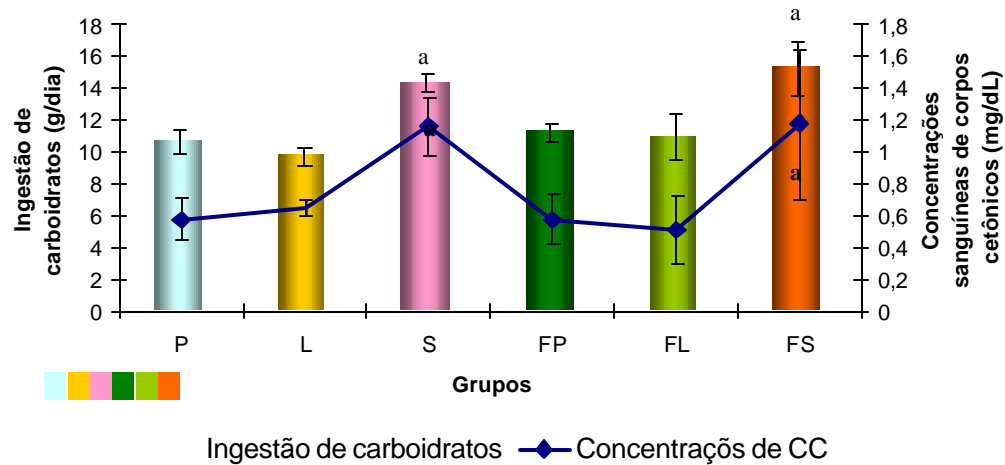
**Tabela 1** Concentrações de glicose e corpos cetônicos (CC) no sangue total e de colesterol total (CT), lipoproteína de densidade elevada (HDL-col), lipoproteína de densidade baixa (LDL-col), lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL-col) e triacilglicerol (TG) no soro dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS)

	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
Glicose (mg/dL)	75,66±7,36	75,16±6,13	64,44±1,08 <sup>a</sup>	71,16±4,21	71,91±2,97	71,66±1,96 <sup>c</sup>
CC (mg/dL)	0,58±0,14	0,65±0,05	1,16±0,18 <sup>a</sup>	0,58±0,16	0,51±0,22	1,18±0,47 <sup>a</sup>
CT (mg/dL)	72,89±9,50	133,25±13,58 <sup>b</sup>	89,29±10,91 <sup>a</sup>	103,63±9,12 <sup>c</sup>	110,02±14,86 <sup>c</sup>	88,76±7,13 <sup>b</sup>
HDL-col (mg/dL)	46,71±7,96	55,10±19,74	44,01±7,35	56,70±8,13	47,66±5,45	42,81±3,86
LDL-col (mg/dL)	7,22±3,41	32,61±6,64 <sup>b</sup>	7,84±1,39	4,12±1,52	12,55±2,69 <sup>bc</sup>	5,94±2,09
VLDL-col (mg/dL)	20,13±1,55	18,05±1,78	27,98±2,41 <sup>a</sup>	15,88±2,78 <sup>c</sup>	16,37±1,03	31,64±3,27 <sup>ac</sup>
TG (mg/dL)	100,69±7,76	90,28±8,93	139,90±12,09 <sup>a</sup>	79,43±13,98 <sup>c</sup>	81,89±5,15	158,21±16,36 <sup>ac</sup>

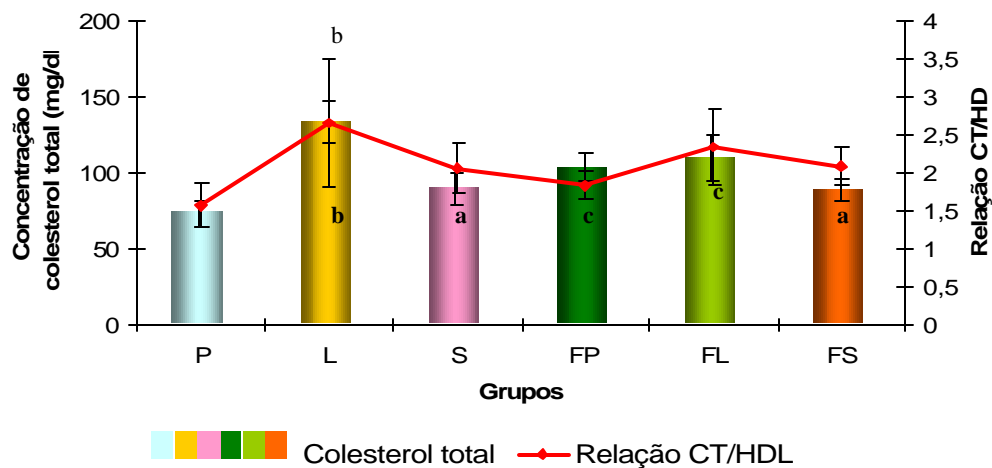
Valores expressos como média±desvio-padrão. (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.



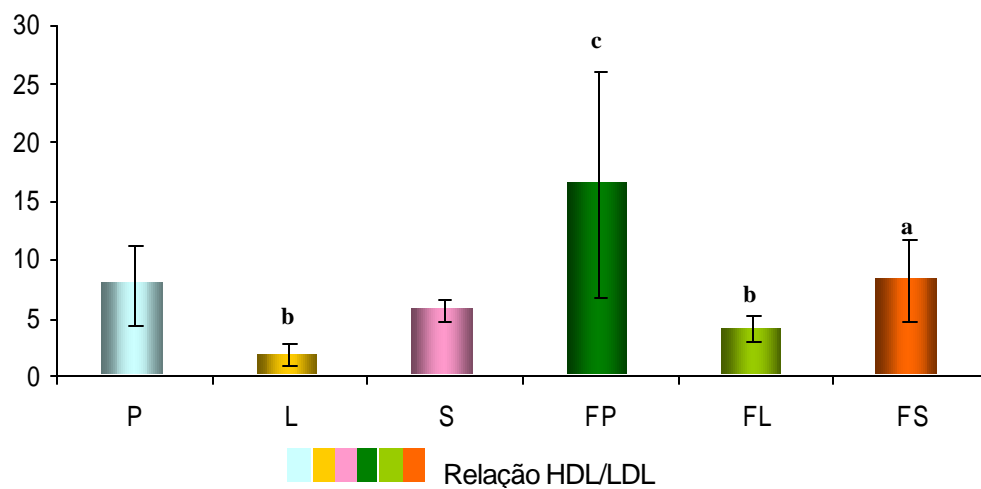
**Figura 1.** Ingestão de carboidratos e concentrações séricas de triacilglicerol (TG) nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.



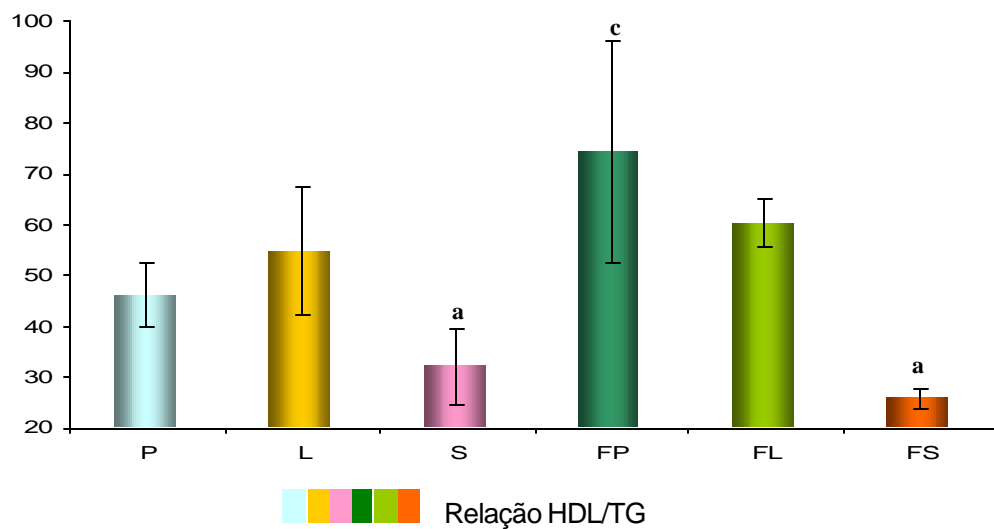
**Figura 2.** Ingestão de carboidratos e concentrações sanguíneas de corpos cetônicos (CC) nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS.



**Figura 3.** Concentrações séricas de colesterol total (CT) e relação colesterol total/HDL (CT/HDL) nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significante entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significante entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significante entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.



**Figura 4.** Relação HDL/LDL nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

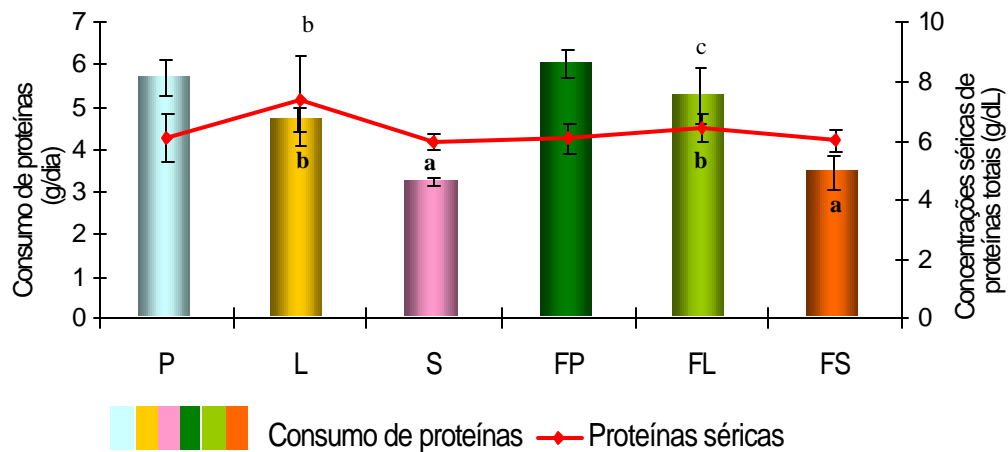


**Figura 5.** Relação HDL/TG nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

**Tabela 2.** Proteína total (PT), albumina, hidroperóxido de lipídio (HP), substâncias antioxidantes totais (SAT), LDL-oxidada e apolipoproteína B (Apo B) no soro dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido fólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido fólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS)

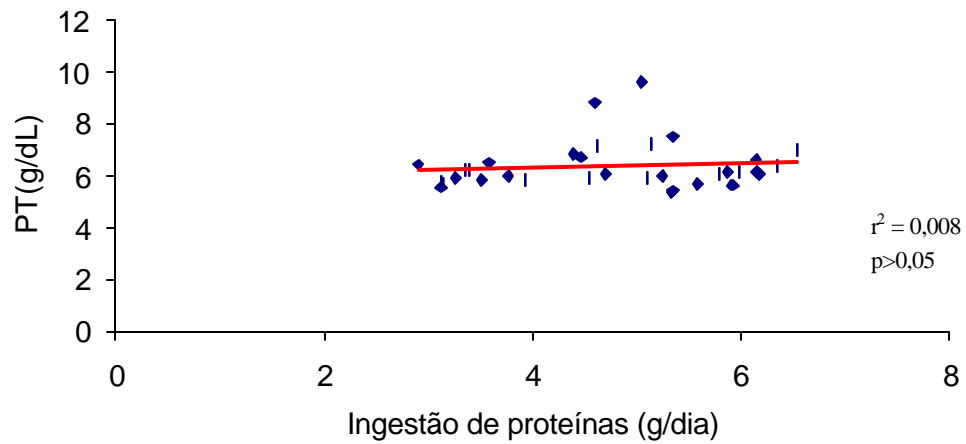
	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
PT (g/dL)	6,08±0,81	7,36±1,52 <sup>b</sup>	5,97±0,24	6,09±0,49	6,46±0,48 <sup>c</sup>	6,03±0,37
Albumina (g/dL)	5,31±0,29	5,38±0,83	5,86±0,94	5,67±0,40	5,43±0,46	5,27±0,29
HP (nmol/mL)	6,32±0,26	6,37±0,23	6,38±0,38	6,52±0,17	6,46±0,14	6,30±0,17
SAT (%)	61,61±3,61	60,10±2,22	60,09±3,73	57,61±3,46 <sup>c</sup>	59,25±1,32	60,75±1,70 <sup>a</sup>
LDL-ox (mmol/L)	13,10±4,45	65,54±20,10 <sup>b</sup>	20,21±4,32	10,79±4,69	29,69±8,32 <sup>b,c</sup>	17,28±2,00
Apo B (g/dL)	0,46±0,25	3,4±0,55 <sup>b</sup>	0,53±0,17	0,32±0,15	1,16±0,25 <sup>b,c</sup>	0,46±0,18

Valores expressos como média±desvio-padrão. (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

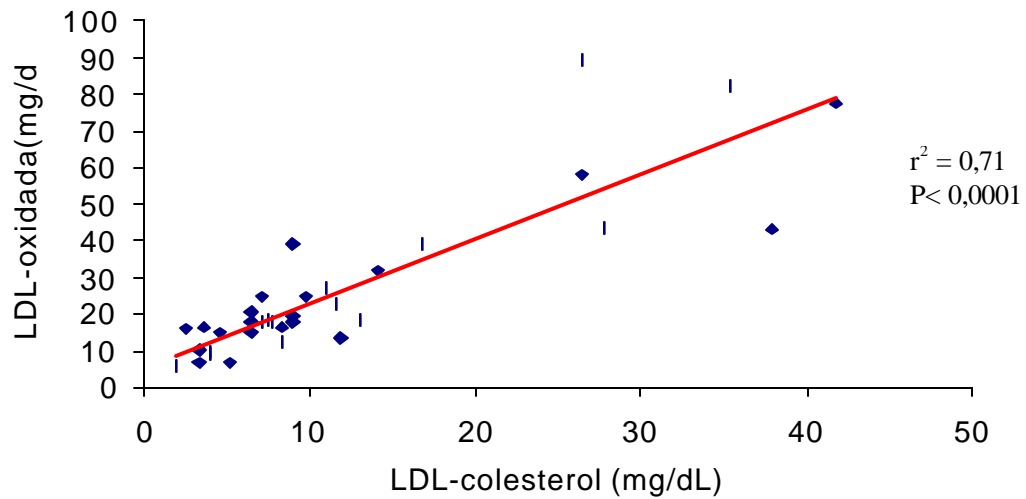


**Figura 6.** Consumo de proteínas e concentrações séricas de proteínas totais nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.





**Figura 7.** Relação linear entre a ingestão de proteínas e as concentrações séricas de proteína total nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS).



**Figura 8.** Relação linear entre as concentrações séricas de lipoproteína de baixa densidade (LDL-colesterol) e LDL-oxidada nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS).

## DISCUSSÃO

Como prevenção primária para o tratamento das doenças cardiovasculares (DC) tem sido enfatizada a mudança no estilo de vida, a qual inclui adoção de hábitos alimentares saudáveis, e prática de exercícios físicos. Neste contexto, tem sido observada a busca por alimentos, que contém substâncias capazes de reduzir os fatores de risco para as DC. Entretanto, os reais efeitos do consumo destas substâncias, associado à dietas inadequadas ainda não foram estabelecidos.

Fatores dietéticos, como o consumo de dietas ricas em lipídios ou carboidratos simples, podem reduzir a secreção de insulina. Embora curta exposição (<6 h), *in vitro*, a grandes quantidades de ácidos graxos potencialize a secreção de insulina, longas exposições (24-48 h) podem inibir a secreção de insulina em células de ratos (Zhou & Grill, 1994). No presente trabalho, após 35 dias de tratamento, não foram observadas alterações nas concentrações de glicose e corpos cetônicos em animais que receberam dieta hiperlipídica, na ausência ou presença de saponina (Tabela 1). Alguns pesquisadores não observaram alterações na glicemia em ratos alimentados com dieta rica em lipídios, apesar da indução de resistência à insulina (Kraegen et al., 1991; Storlien et al., 1991; Oakes et al., 1997).

O papel causal da hipercolesterolemia na gênese da aterosclerose e suas seqüelas clínicas está bem estabelecido.

Hábitos alimentares inadequados, como a ingestão de grandes quantidades de colesterol, lipídios e sacarose são importantes

fatores de risco para o desenvolvimento de anormalidades no metabolismo do colesterol e das lipoproteínas.

Como esperado, a dieta rica em lipídios e colesterol elevou significativamente a colesterolemia e as concentrações de LDL (Tabela 1). Foi observado aumento na relação CT/HDL, redução na HDL/LDL, mas não houve modificação na relação HDL/TG (Figuras 3, 4, 5). Resultados semelhantes foram obtidos por Feoli et al. (2003) e Balkan et al. (2004). Ginsberg et al. (1994) observaram que as concentrações séricas de colesterol aumentavam em 1,47mg/dL para cada 100mg de colesterol adicionado à dieta, em humanos. Entretanto, segundo Nicolosi et al. (2003) a ingestão de colesterol pode ser menos aterogênica que o consumo de lipídios saturados, dependendo das concentrações séricas de LDL, VLDL, IDL. Os lipídios dietéticos podem afetar a absorção e a síntese hepática de colesterol, a síntese de ácidos biliares, bem como o número e a atividade dos receptores da LDL (Garg & Blake, 1997; Ros, 2000; Bisschop et al., 2004).

Alteração na resposta à insulina é a principal anormalidade metabólica no diabetes mellitus tipo 2. Experimentalmente, é possível induzir um estado metabólico similar através da manipulação dietética. Diversos estudos com animais têm demonstrado que dietas ricas em sacarose induzem dislipidemias e resistência à insulina no fígado, e em tecidos periféricos, incluindo o músculo esquelético (Pagliassotti et al., 1994; Bernal et al., 1995; Montes et al., 2000; Soria et al., 2001; Chicco et al., 2003). Estes distúrbios são caracterizados por hiperinsulinemia precoce, com normoglicemia em curto prazo (3-5 semanas), normoinsulinemia e moderada hiperglicemia quando o

consumo da dieta rica em sacarose é estendido por 15-40 semanas (Gutman et al., 1987; Chicco et al., 2003). No presente trabalho, após 35 dias de ingestão de dieta rica em sacarose, foi observada redução na glicemia de jejum. Entretanto, houve aumento significativo nas concentrações de CC (Tabela 1 e Figuras 1 e 2). Daly et al. (1998), ao estudarem o efeito agudo de uma sobrecarga de sacarose, observaram variações cíclicas de picos e quedas nas concentrações de glicose e insulina. A redução na glicemia nos animais do grupo S (Tabela 1) pode ser devida a este tipo de comportamento.

Sória et al. (2001) observaram normoglicemia e hiperinsulinemia, em ratos, após três semanas de ingestão de dietas ricas em sacarose. Segundo estes autores, houve aumento moderado na lipólise e redução na ação antilipolítica da insulina nos adipócitos. Deste modo, a resistência à insulina não esteve associada com elevação na adiposidade. Não houve alterações no tamanho, bem como, aumento na massa adiposa dos animais. Estes dados corroboram com os achados do nosso estudo. Animais alimentados com dieta rica em sacarose não se tornaram obesos (Rodrigues, Capítulo 1, página 19), contudo, a modificação dietética induziu alterações metabólicas relacionadas à resistência à insulina.

Interessante efeito da elevada ingestão de sacarose, na presença ou ausência da saponina, foi o aumento na concentração de CC.

Corpos cetônicos são importantes fontes de energia para os tecidos periféricos porque são solúveis em solução aquosa, e, assim, não necessitam ser incorporados em lipoproteínas ou

transportados pela albumina como os outros lipídios. Os CC são produzidos no fígado durante períodos em que a quantidade de acetil CoA presente excede a capacidade oxidativa do fígado. Quando a velocidade de formação de CC é maior que a sua taxa de utilização, seus níveis elevam-se no sangue (cetonemia), diminuindo assim o pH sanguíneo, caracterizando, desta forma, a cetoacidose (Champe et al., 2006).

Corpos cetônicos são os principais substratos energéticos em condições de jejum prolongado e no diabetes mellitus não controlado, quando os intermediários metabólicos do ciclo do citrato são direcionados para a neoglicogênese hepática, para manutenção da glicemia (Berg et al., 2004).

É evidente que animais do grupo S não foram expostos a períodos de jejum diferentes dos outros grupos. Deste modo, a cetonemia observada nestes animais sugere que a dieta estaria elevando a glicemia pós-prandial sem, entretanto, induzir hiperglicemia de jejum. É notória a associação entre cetonemia, hipertrigliceridemia e diabetes (Berg et al., 2004). Animais do grupo S apresentaram cetonemia e hipertrigliceridemia.

Diversos estudos comprovam que o consumo de dietas ricas em sacarose altera o metabolismo do triacilglicerol ocasionando a hipertrigliceridemia (Gutman et al., 1987; Bernal et al., 1995; Lombardo et al., 1996). No entanto, poucos estudos avaliaram a ação da sacarose na colesterolemia. Merat et al. (2004) demonstraram que a ingestão de dieta rica em frutose induziu importante hipercolesterolemia e, foi mais aterogênica que a ingestão de dieta tipicamente ocidental, com 42% das calorias provenientes de lipídios, em ratos deficientes no receptor de

LDL (LDL R<sup>-/-</sup>). A dieta rica em frutose ainda teria efeitos aterogênicos independente da hipercolesterolemia. Em ratos, o elevado consumo de frutose induz elevação na pressão arterial e aderência de leucócitos na parede arterial (Hwang et al., 1987; Dai et al., 1994). Em nosso estudo, verificou-se que o grupo S apresentou aumento na colesterolemia sem alterar as concentrações de LDL, bem como as relações CT/HDL e HDL/LDL (Tabela 1 e Figuras 3 e 4). Entretanto, foi observada significativa redução na relação HDL/TG (Figura 5). Desta forma, podemos afirmar que a hipercolesterolemia foi associada ao aumento nas concentrações de VLDL e triacilglicerol (Tabela 1).

Tem sido demonstrado que a concentração de TG é um fator de risco independente, permanecendo, entretanto, intensa discussão se sua ação se faz de modo direto ou indireto (Bertolami & Martinez, 1999). Estudos demonstraram que a incidência de aterosclerose correlaciona-se melhor com as concentrações de triacilglicerol do que com as concentrações de colesterol (Gotto, 1998; Sprecher, 1998). No presente estudo, animais que receberam dieta rica em sacarose apresentaram aumento nas concentrações de TG e VLDL (Tabela 1).

A elevação nas concentrações de triacilglicerol tem sido atribuída ao conteúdo de frutose presente na sacarose. A frutose promove a síntese hepática de triacilglicerol e sua liberação no plasma na forma de VLDL. Diferentes mecanismos têm sido propostos para explicar o impacto da sobrecarga de frutose no metabolismo dos triacilgliceróis, como elevação na síntese "de novo" de ácidos graxos (AG), aumento na disponibilidade dos AG não esterificados liberados do tecido adiposo, e/ou alteração no

direcionamento metabólico da oxidação para a esterificação de ácidos graxos (Kok et al.,1996). Outros autores sugerem a redução na hidrólise das lipoproteínas ricas em triacilglicerol como um importante fator na relação entre ingestão de frutose e hipertrigliceridemia (Frayn & Kingman, 1995).

Tem sido demonstrado que a dieta rica em sacarose, além de induzir maior produção de VLDL-colesterol no fígado, aumenta a expressão das apolipoproteínas A e E e reduz a atividade da enzima triacilglicerol lipase hepática (Radosavljevic et al., 1992).

A ingestão de saponina, nos grupos FP e FL, não alterou as concentrações de glicose e CC em relação aos animais dos grupos P e L, respectivamente. Entretanto, o consumo de saponina na presença de sacarose elevou a glicemia aos níveis normais e não alterou a concentração de CC (Tabela 1). Petiti et al. (1995) não verificaram efeito hipoglicêmico em ratos tratados com saponina. Em estudo prévio, também não observamos alterações significantes no teste oral de tolerância à glicose (TOTG) em ratos que receberam saponina (Rodrigues et al., 2005).

Diversos estudos têm demonstrado que a saponina reduz as concentrações séricas de colesterol em muitas espécies animais, incluindo o homem (Southon et al., 1988; Harwood et al., 1993; Potter et al., 1993; Matsuura, 2001; Rodrigues et al., 2005; Ebaid et al., 2006). Este efeito é exercido através da formação de complexos insolúveis entre a saponina, colesterol ou sais biliares. A porção hidrofóbica da saponina associa-se com o núcleo hidrofóbico do esterol (Oakenfull & Sidhu, 1989). Existe, entretanto, controvérsias sobre a atividade anticolesterolêmica da saponina. Saponinas provenientes da alfafa não demonstraram



ser as principais responsáveis pelo efeito hipocolesterolêmico deste alimento (Calvert & Blight, 1981; Story et al., 1984; Sugano et al., 1990). Francis et al. (2001) observaram que a concentração de colesterol em tilápias, que ingeriram saponina, era tão elevada quanto a do grupo controle. Segundo Jenkins & Atwal (1994) a redução nas concentrações séricas de colesterol, induzida pela saponina, só ocorre quando os animais são alimentados com dietas hipercolesterolêmicas. Desde que a ligação com o colesterol ocorre no intestino, fatores como a quantidade de saponina e colesterol, e a presença de outras substâncias podem ser as causas das controvérsias observadas entre os estudos (Francis et al., 2002). Como observado na Tabela 1, a saponina só reduziu as concentrações de colesterol quando associada à dieta rica em colesterol e lipídios.

Apesar do grupo que recebeu saponina (grupo FP) ter elevado a concentração de colesterol, não foram observadas alterações nas concentrações de LDL nestes animais (Tabela 1). Na Figura 3, pode-se observar que a relação CT/HDL não diferiu entre os grupos P e FP. Segundo Castelli et al. (1983) a consideração conjunta do colesterol total em relação ao HDL, possui importante valor prognóstico de alterações cardiovasculares.

Tendo em vista a associação entre hipertrigliceridemia e as doenças cardiovasculares, o consumo de saponina exerceu efeitos benéficos, reduzindo as concentrações de TG e VLDL (Tabela 1). Resultados concordantes foram obtidos por Rodrigues et al. (2005) e Ebaid et al. (2006). Este efeito hipolipidêmico pode ser explicado pela elevação na atividade da enzima

triacilglicerol lipase hepática, a qual é responsável pela hidrólise das moléculas de TG (Silva et al., 2001).

Segundo Blackburn et al. (2003) a hipertrigliceridemia constitui o fator mais importante para caracterizar a síndrome metabólica, sendo responsável pelo estresse oxidativo (EO) nos tecidos e assim pelas repercussões sistêmicas desta síndrome. Uma vez que, elevada concentração de ácidos graxos livres aumenta a captação de ácidos graxos pelos tecidos, podendo levar ao acúmulo intracelular de TG. Nos tecidos, os TG são armazenados em gotículas de gorduras, sendo passíveis de sofrerem lipoperoxidação induzindo lesões celulares (Schaffer, 2003). Saponina elevou as relações HDL/LDL e HDL/TG (Figuras 4 e 5). Considerando a importância da HDL no transporte reverso do colesterol e da trigliceridemia na indução do EO, saponina exerceu efeitos benéficos na dislipidemia e no EO através do aumento nestas relações.

Embora a associação saponina-sacarose tenha potencializado o efeito deletério da sacarose na trigliceridemia (Tabela 1), não foram observadas alterações nas relações HDL/LDL e HDL/TG (Figura 4 e 5).

Dieta rica em lipídios e colesterol não induziu aumento nas concentrações de hidroperóxido de lipídio (HP). Entretanto, foi observada elevação significativa nas concentrações de LDL-oxidada (LDL-ox) e apo B (Tabela 2 e Figura 8). Segundo a hipótese da "modificação oxidativa", a aterosclerose é iniciada pela oxidação da LDL (Witztum & Steinberg, 1991). Diversos estudos têm demonstrado a atividade aterogênica da LDL-ox (Tsimikas & Witztum, 2000; Leitinger & Berliner, 2000), como disfunção

endotelial e toxicidade (Négre-Salvayre et al., 1993), adesão de leucócitos no endotélio (Navab et al., 1991), migração e retenção dos leucócitos no espaço subendotelial (Quin et al., 1987 e Navab et al., 1991). Desta forma, não há dúvidas que a oxidação da LDL é uma característica do desenvolvimento da lesão aterosclerótica. Tem sido sugerido que a concentração da apo B pode ser importante prognóstico para aterosclerose (Sniderman et al., 1980; Lamarche et al., 1996). Na oxidação da LDL ocorre modificação na apo B de tal modo, que as partículas de LDL são reconhecidas pelos macrófagos, com formação de células espumosas no endotélio (Chen et al., 2003). Lemiex et al. (2000) demonstraram que a hiperinsulinemia, LDL-ox e a hiperapolipoproteína B eram os principais preditores da doença cardiovascular. Segundo Rebuffe-Scrive et al. (1987), na resistência à insulina ocorre grande exposição do fígado aos ácidos graxos livres através da circulação portal. Esta elevação na disponibilidade de lipídios reduz a degradação de apo B, levando ao aumento na síntese e secreção de VLDL.

Apesar dos animais do grupo S não terem apresentado modificações significantes nos marcadores do EO, a associação saponina-sacarose elevou as concentrações de substâncias antioxidantes totais (SAT) em relação ao grupo FS (Tabela 2). Desde que não houve aumento no HP, bem como na LDL-ox, a saponina não foi utilizada como antioxidante.

Animais que ingeriram saponina em relação aos controles, sem saponina, apresentaram redução nas concentrações de SAT (Tabela 2). Embora não tenha havido alterações no HP a saponina foi utilizada para elevar as relações HDL/LDL e HDL/TG (Figura 4

e 5). A redução nas SAT foi decorrente da sua utilização para proteger a LDL e o TG de processos oxidativos. Na associação saponina-colesterol pode-se observar o efeito antioxidante da saponina na redução da LDL-ox e da apo B (Tabela 2 e Figura 8).

Embora as dietas tenham induzido diminuição no consumo de proteínas (Rodrigues, Capítulo 1, página 22) não foi observada correlação significativa ( $r^2 = 0,008$ ;  $p > 0,05$ ) entre o consumo de proteínas e as concentrações séricas de proteínas totais (Figuras 6 e 7). Deste modo, os efeitos apresentados não foram decorrentes de desnutrição protéica.

Em conclusão, as dietas utilizadas induziram diferentes tipos de dislipidemias e desequilíbrio no estado oxidante/antioxidante. O consumo de saponina foi eficaz na normalização da lipídemia e na redução do EO, através de suas propriedades antioxidantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

\* International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to journals. N Engl J Med 1997; 336: 309-315.

Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clin Chem Acta Amsterdam 2001; 306:1-17.

- American College of Cardiology. Atualização em cardiologia - A síndrome metabólica: fatos e questões pendentes. Relatório da 53ª Sessão Científica Anual 2003.
- Balkan J, Dogru-Abbasoglu S, Aykaç-Toker G, Uysal M. The effect of a high cholesterol diet on lipids and oxidative stress in plasma, liver and aorta of rabbits and rats. *Nutr Res* 2004; 24:229-234.
- Berg J, Tymoczko JL, Stryer L. *Bioquímica*. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 1059p.
- Bernal C, Gutman R, Lombardo YB. The duration of feeding on sucrose-rich diet determines variable in vitro effects of insulin and fructose on rat liver triglyceride metabolism. *J Nutr Biochem* 1995; 6:422-430.
- Bertolami MC, Martinez TLR. Hipolipemiantes II. Ação predominante na trigliceridemia. In: *Farmacologia e Terapêutica Cardiovascular*. Editores Michel Batlouni e José AF Ramires. Editora Atheneu, São Paulo, 1999, 535-549.
- Bezerra RMN, Ueno M, Silva MS, et al. A high-fructose diet induces insulin resistance but not blood pressure changes in normotensive rats. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34:1155-1160.
- Biesalski HK. The role of antioxidants in nutritional support. *Nutrition* 2000; 16:593-596.
- Bisschop PH, Badsma RHJ, Stellard F, Harmesel A, Meijer AJ, Sawerwein HP, Kuipers F, Romijn JA. Low-fat, high-carbohydrate and high-fat, low-carbohydrate diets decrease primary bile acid synthesis in humans. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:570-576.

- Blacburn P, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Bergeron N, Prud'homme D, Trembaly A, Bergeron J, Lemieux I, Després JP. Postprandial hyperlipidemia: another correlate of the hypertriglyceridemic waist phenotype in men. *Atherosclerosis* 2003; 171:327-336.
- Bloomgarden ZT. Obesity, hypertension and insulin resistance. *Diabetes Care* 2002; 25:2088-2097.
- Brizzi P, Tonolo G, Carsillo F, Malaguarnera M, Maioli M, Musumeci S. Plasma lipid composition and LDL oxidation. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41:56-60.
- Calver GD, Blight L. A trial of the effects of soya-beanflour and soya-bean saponin on plasma lipids, fecal bile acids and neutral sterols in hypercholesterolaemic men. *Br J Nutr* 1981; 45:277-281.
- Castelli WP, Abbott RD, McNamara PM. Summary estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. *Circulation* 1983; 67:730-734.
- Champe P, Harvey RA, Ferrier DR. *Bioquímica Ilustrada*. 3.ed. São Paulo: Artmed, 2006. 446p.
- Chen K, Thomas SR, Keaney Jr JF. Beyond LDL oxidation: ROS in vascular signal transduction. *Free Rad Biol Med* 2003; 35:117-132.
- Chicco A, D'Alessandro ME, Karabatas L, Pastorale C, Basabe JC, Lombardo YB. Muscle lipid metabolism and insulin secretion are related in insulin-resistant rats fed a high sucrose diet. *J Nutr* 2003; 133:127-133.
- Chicco A, Gutman R, Lombardo YB. Biochemical abnormalities in the heart of rats fed a sucrose-rich diet is the low activity

- of pyruvate dehydrogenase complex a result of increased fatty acid oxidation? *Metabolism* 1991; 40:15-21.
- Costa RP, Menendez G, Bricarello LP, Elias MC, Ito M. Óleo de peixe, fitosteróis, soja e antioxidantes: impacto nos lípidos e na aterosclerose. *Rev Soc Cardiol Est SP* 2000; 10:819-827.
- Dai S, Todd ME, Lee S, Mc Neill JH. Fructose loading induces cardiovascular and metabolic changes in nondiabetic and diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1994; 72:771-781.
- Daly ME, Vale C, Walker M, Littlefield A, Alberti KGMM, Mathers JC. Acute effects on insulin sensitivity and diurnal metabolic profiles of a high-sucrose compared with a high starch diet. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:1186-1196.
- Duarte HS, Costa NMB, Leal PFG, Oliveira TT. Avaliação do efeito de sopas desidratadas ricas em fibra na redução do colesterol sanguíneo em ratos, *Rev Nutr* 1998; 11:149-161.
- Ebaid GMX, Faine LA, Diniz YS, Rodrigues HG, Galhardi CM Ribas BO, Fernandes AAH, Novelli ELB. Effects of digitonin on hyperglycaemia and dyslipidemia induced by high-sucrose intake. *Food Chem Toxicol* 2006; 44:293-299.
- Feoli An, Roehri C, Rotta LN, Kruger AH, Souza KB, Kessler AM, Renez SV, Brusque AM, Souza DO, Perry MLS. Serum and liver lipids in rats and chicks fed with diets containing different oils. *Nutrition* 2003; 19:789-793.
- Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Med Bras* 1997; 43:61-68.

- Francis G, Kerem Z, Makkar HPS, Becker K. The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br J Nutr* 2002; 88:587-605.
- Francis G, Makkar HPS, Becker K. Effects of Quillaja saponns on growth, metabolism, egg production, and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Compar Biochem Physiol* 2001; 129C:105-114.
- Frayn KN, Kingman SM. Dietary sugars and lipid metabolism in humans. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:S250-S263.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
- Garg ML, Blake R. Cholesterol dynamics in rats fed diets containing either canola oil or sunflower oil. *Nutr Res* 1997; 17:485- 492.
- Gaw G, Cowan RA, O' Reilly D, Stewart MJ, Shepherd J. *Bioquímica Clínica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 165p.
- Ginsber HN, Karmally W, Siddiqui M, Holleran S, Tall AR, Rumsey SC, Deckelbaum RJ, Blaner WS, Ramakrshnan R. A dose-response study of the effects of dietary cholesterol on fasting and posprandial lipid and lipoprotein metabolism in health young men. *Arteioscler Thrombosis* 1994; 14:576-586.
- Gotto AM. Triglyceride as a riskfactor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998; 82:Q22-Q25.
- Gutman R, Basílico MZ, Bernal C, Chicco A, Lombardo YB. Long-term hypertriglyceridemia and glucose intolerance inrats fed



- chronically na isocaloric sucrose-diet. *Metabolism* 1987; 36:1013-1020.
- Harwood HJ, Chandler CE, Pellarin LD, Bangerter FW, Wilkins RW, Long CA, Cosgrove PG, Malinow MR, Marzetta CA, Pettini JL, Savoy YE, Mayne JT. Pharmacological consequences of cholesterol absorption inhibition: alteration in cholesterol metabolism and reduction in plasma cholesterol concentration induced by the synthetic saponin  $\beta$ -tigogenin cellobioside (CP-88818; tiqueside). *J Lipid Res* 1993; 34:377-395.
- Huong NTT, Matsumoto K, Kasai R, et al. In vitro Antioxidant Activity of Vietnamese Ginseng Saponin and its components. *Biol Pharm Bull* 1998; 21:978-981.
- Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10:512-516.
- Jenkins KJ & Atwal AS. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, and availability of vitamins A and E in the chick. *J Nutr Biochem* 1994; 5:134-138.
- Jiang ZY, Woollard ACS, Wolf S. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with TBA assay and on iodometric method. *Lipids* 1991; 26:853-856.
- Johns T, Mahunnah RLA, Sanaya P, et al. Saponins and phenolic content in plant dietary additives of a traditional subsistence community, the Batemi of Ngorongoro District, Tanzania. *J Ethnophar* 1999; 66:1-10.
- Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *Int J Food Sci Technol* 2001; 36:703-725.

- Kok N, Roberfroid M, Delzenne N. Dietary oligofructose modifies the impact of fructose on hepatic triacylglycerol metabolism. *Metabolism* 1996; 45:1547-1550.
- Kraegen EW, Clark PW, Jenkins AB, Daley EA, Chisholm DJ, Storlien LH. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. *Diabetes* 1991; 40:1397-1403.
- Lamarche B, Moorjani S, Lupien PJ. Apolipoprotein A-I and B levels and the risk of ischemic heart during a five-year follow-up of men in Québec Cardiovascular Study. *Circulation* 1996; 94:273-278.
- Leitinger N, Berliner JA. MM-LDL and atherogenesis: a major role for phospholipid oxidation products. In: Keaney JF Jr., ed *Oxidative stress and vascular disease*. Boston: Kluwer; 2000:99-118.
- Lemieux I, Pascot A, Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Alméras N, Bergeron J, Gaudet D, Tremblay G, Prud'homme D, Nadeau A, Després JP. Hypertriglyceridemia waist: a marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation* 2000; 102:179-184.
- Lombardo YB, Drago S, Chicco A, Fainstein-Day P, Gutman R, Gagliardino JJ, Gomez-Dumm CL. 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* 1996;45:1527-1532.

- Manach C, Morand C, Demigné C, Texier O, Regéat F, Rémésy C. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. *Fed Eur Biochem Societies* 1997; 409:12-16.
- Matsuura H. Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease. *J Nutr* 2001; 131:1000-1005.
- Mehmetcik G, Toker G, Uysal M. Endogenous and copper-induced lipid hyperperoxidation and antioxidant activity of serum in hypercholesterolemic subjects. *Horm Metab Res* 1997; 29:63-65.
- Merat S, Casanada F, Sutphin M, Palinski W, Reaven PD. Western-type diets induce insulin resistance and hyperinsulinemia in LDL receptor-deficient mice but do not increase aortic atherosclerosis compared with normoinsulinemic mice by a fructose-rich diet. *Artheroscler Thromb Vas Biol* 2004; 19:1223-1230.
- Milgate J, Roberts DCK. The nutritional and biological significance of saponins. *Nutr Res* 1995; 15:1223-1249.
- Montes M, Chicco A, Lombardo YB. The effect of insulin on the uptake and metabolic rate of glucose in isolated perfused hearts of dyslipidemic rats. *J Nutr Biochem* 2000; 11:30-37.
- Naderali EK, Fatani S, Williams G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. *Atherosclerosis* 2004; 172:63-69.
- Naderali EK, Williams G. Effects of short-term feeding of a highly-palatable diet on vascular reactivity in rats. *Eur J Clin Invest* 2001; 31:1024-1028.
- Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork RW, Valente AJ, Berliner JA, Drinkwater DC, Laks H, Fogelman AM. Monocyte

- transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest* 1991; 88:2039-2046.
- Négre-Savayre A, Pieraggi MT, Mabile L, Salvayre R. Protective effect of 17 $\beta$ -estradiol against the cytotoxicity of minimally oxidized LDL to cultured bovine aortic endothelial cells. *Atherosclerosis* 1993; 99:207-217.
- Neves NM. Os elementos da dieta no tratamento da doença cardiovascular. In: *Nutrição e Doença Cardiovascular* 1997; 4:49-61.
- Nicolosi RJ, Wilson TA, Romano CA, Kritchevsky D. Dietary cholesterol is less atherogenic than saturated fat in hamsters with low plasma nonHDL-cholesterol, but more atherogenic whrn plasma nonHDL-cholesterol is high. *Nutr Res* 2003; 23:299-315.
- Nishiyama Y, Ikeda H, Haramaki N, Yoshida N, Imaizumi T. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *Am Heart J* 1998; 135:115-120.
- Norman GR, Streiner DL. *Biostatistic - the base essentials*. St. Louis: Mosby Book, 1994. 260p.
- Novelli ELB. *Nutrição e Vida Saudável - estresse oxidativo e metabolismo energético*. Ribeirão Preto: Tecmed, 2005. 288p.
- Oakenfull DG & Sidhu GS. In: PR Cheeke (Ed) *Toxicants of plant origin* 1989; 2:97-141. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Oakes ND, Bell KS, Furler SM, Camilleri S, Saha AK, Ruderman NB, ChisholmDJ, Kraegen EW. Diet-induced muscle insulin

- resistance in rats is ameliorated by acute dietary lipid withdrawal or a single bout of exercise: parallel relationship between insulin stimulation of glucose uptake and suppression of long-chain fatty acyl-CoA. *Diabetes* 1997; 46:2022-2028.
- Pagliassotti MJ, Shahrokhi KA, Moscarello M. Involvement of liver and skeletal muscle in sucrose-induced insulin resistance: dose-response studies. *Am J Physiol* 1994; 266:R1637-R1644.
- Petit PR, Sauvaire YD, Hillaire-Buys DM, Leconte OM, Baissac YG, Ponsin GR, Ribes GR. Steroid saponins from fenugreek seeds: extraction, purification, and pharmacological investigation on feeding behaviour and plasma cholesterol. *Steroids* 1995; 60:674-680.
- Potter JD, Illman RJ, Calvert GD, Oakenfull DG, Topping DL. Soya saponins, plasma lipids, lipoproteins and fecal bile acids: a double blind cross-over study. *Nutr Rep Int* 1993; 22:521-528.
- Poulsen R. Morphological changes of organs after sucrose or fructose feeding. *Prog Biochem Pharmacol* 1986; 21:104-134.
- Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84:2995-2998.
- Radosavljevic M., Lin-Lu YC, Soyak SM, Strobl W. Effect of sucrose diet on expression of apolipoprotein genes A-I, C-III and A-IV in rat liver. *Atherosclerosis* 1992; 95:147-156.

- Rebuffe-Scrive M, Lonnorth P, Martin P, Wesslau C, Bjorntorp P, Smith U. Regional adipose tissue metabolism in men and postmenopausal women. *Int J Obes* 1987; 11:347-355.
- Rodrigues HG, Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, Burneiko RC, Almeida JA, Ribas BO, Novelli ELB. Antioxidant effect of saponin: potential action of a soybean flavonoid on glucose tolerance and risk factors for atherosclerosis. *Int J Food Sci Nutr* 2005; 56:79-85.
- Ros E. Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition to reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 2000; 151:357-379.
- Schaffer JE. Lipotoxicity: when tissues overeat. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14:281-287.
- Schwab US, Ausman LM, Vogel S, Zhengling L, Lammi-Keefe CJ, Goldin BR, et al. Dietary cholesterol increases the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification. *Atherosclerosis* 2000; 149:83-90.
- Scoccia AE, Molinuevo MS, McCarthy AD, Cortizo AM. A simple method to assess the oxidative susceptibility of low density lipoproteins. *BMC Clin Path* 2001; 1:1.
- Sebokavá E, Klimes I, Gasperiková D, Bohov P, Langer P, Lavau M, Clandinin MT. Regulation of gene expression for lipogenic enzymes in the liver and adipose tissue of hereditary hypertriglyceridemic, insulin-resistant rats: effect of dietary sucrose and marine fish oil. *Biochem Biophys Acta* 1996; 1303:56-62.

- Shimizu K, Ozeki M, Tanaka K, et al. Suppression of Glucose absorption by extracts from the leaves of *Gymnema inodorum*. J Vet Med Sci 1997; 59:753-757.
- Silva RR, Oliveira TT, Nagen TJ. Efeito hipolipidêmico dos flavonóides naringerina e rutina. Arch Latinoam Nutr 2001; 51:258-264.
- Sniderman AD, Shapiro S, Marpole D. Association of coronary atherosclerosis with hyperapobetalipoproteinemia [increased protein but normal cholesterol levels in human low density ( $\beta$ ) lipoprotein]. Proc Natl Acad Sci USA 1980; 77:604-608.
- Soria A, D'Alessandro ME, Lombardo YB. Duration of feeding on a sucrose-rich diet determines metabolic and morphological changes in rat adipocytes. J Appl Physiol 2001; 9:2109-2116.
- Southon S, Wright AJA, Price KR, Fairweather-Tait SJ, Fenwick GR. The effect of tree types of saponin on iron and zinc absorption from a single meal in the rat. Br J Nutr 1988; 59:389-396.
- Sprecher DL. Triglyceride as a risk factor for coronary artery disease. Am J Cardiol 1998; 82:U49-U56.
- Storlien LH, Higgins JA, Thomas TC, Brown MA, Wang HQ, Huang XF, Else PL. Diet composition and insulin action in animal models. Br J Nutr 2000; 83 (suppl):S85-S90.
- Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm JD, Pascoe WS, Khouri S, Kraegen EW. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. Diabetes 1991; 40:280-289.

- Story JA, LePage SL, Petro MS. Interactions of alfafa plant and sprout saponins with cholesterol in vitro and in cholesterol-fed rats. *Am J Clin Nutr* 1984; 39:917-929.
- Sugano M, Goto S, Yamada Y, Yoshido K, Hashimoto Y, Matsuo T, Kimoto M. Cholesterol-lowering activity of various undigested fraction of soybean protein in rats. *J Nutr* 1990; 120:977-985.
- Svensson AM, Hellerstrom C, Jansson L. Diet-induced obesity and pancreatic islet blood flow in the rat. *J Endocrinol* 1996; 151:507-511.
- Thompson LU. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Res Intern* 1993; 26:131-149.
- Tsimikas S, Witztum JL. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis. In: Keane JF Jr., ed. *Oxidative stress and vascular disease*. Boston: Kluwer; 2000:49-74.
- Witztum J, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88:1785-1792.
- Zar JH. *Biostatistical analysis*. 4.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1994. 663p.
- Zhou YP & Grill VE. Long-term exposure of rat pancreatic islet to fatty acids inhibits glucose-induced insulin secretion and biosynthesis through a glucose fatty acid cycle. *J Clin Invest* 1994; 93:870-876.



# *CAPÍTULO 3*

**MODULAÇÃO DO METABOLISMO ENERGÉTICO E  
ESTRESSE OXIDATIVO MIOCÁRDICO, PELA  
SAPONINA, EM ANIMAIS ALIMENTADOS COM  
DIETAS RICAS EM LIPÍDIOS, COLESTEROL E  
SACAROSE**

---

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar as alterações no metabolismo energético e no estresse oxidativo do tecido cardíaco em ratos alimentados com dietas ricas em lipídios, colesterol e sacarose, bem como avaliar os efeitos da suplementação nutricional com saponina. Foram utilizados 36 ratos, Wistar, 240g, divididos em 6 grupos (n=6). O grupo P, controle, recebeu dieta padrão. O grupo L recebeu dieta acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico. O grupo S recebeu dieta enriquecida com sacarose e óleo de soja. O grupo FP recebeu dieta padrão e saponina (4g/L) na água de beber. Grupo FL recebeu a mesma dieta do grupo L e saponina (4g/L) na água. O grupo FS recebeu a dieta do grupo S e saponina (4g/L) na água. O experimento teve duração de 35 dias. Os resultados obtidos demonstraram que as dietas induziram desequilíbrio no estado oxidante/antioxidante, reduzindo as defesas antioxidantes do miocárdio. Entretanto, apenas a elevada ingestão de sacarose foi capaz de promover alterações no metabolismo energético cardíaco. A saponina melhorou o metabolismo energético, e provou suas atividades antioxidantes, demonstrando sua ação na prevenção de alterações cardíacas.

**Palavras chaves:** Miocárdio, metabolismo energético, estresse oxidativo, saponina, lipoperoxidação.

## INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são freqüentemente associadas com déficit energético e, em muitos casos são acompanhadas por desordens lipídicas e obesidade (Marín-Garcia & Goldenthal, 2002; Christoffersen et al., 2003). Entretanto, a natureza desse déficit permanece obscura. Desde que, no miocárdio, a maior parte da energia é produzida pela mitocôndria, mudanças estruturais e funcionais causadas por desordens metabólicas podem comprometer o estado energético do órgão. De fato, alterações na composição das membranas celulares e mitocondriais podem afetar não somente, as propriedades elétricas do tecido cardíaco, com também a produção de energia (Pepe & McLennan, 2002).

O mecanismo da disfunção cardíaca na ingestão de dietas inadequadas ainda não foi completamente estabelecido. A maior utilização de oxigênio pelo músculo cardíaco relaciona-se a maior quantidade de ATP produzida pela oxidação de ácidos graxos em relação a carboidratos, bem como o fato que ácidos graxos ( $\text{CH}_3\text{-(CH}_2)_n\text{-COOH}$ ), apresentam baixa concentração de oxigênio por molécula, em comparação com carboidratos ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ). Deste modo, o músculo cardíaco necessita de cerca de 12% mais oxigênio, quando utiliza ácido graxo, e não glicose como fonte de energia, para produzir a mesma quantidade de ATP (Neely & Morgan, 1974). Estas observações indicam maior susceptibilidade do músculo cardíaco ao estresse oxidativo (EO) e a importância do metabolismo energético na produção de radicais livres (RL).

Ingestão de dietas inadequadas que induzem dislipidemias constitui importante fator para o aparecimento de alterações

cardiovasculares, podendo induzir estresse oxidativo e alterações no metabolismo energético do tecido cardíaco.

Em sistemas aeróbicos, é essencial o equilíbrio entre agentes oxidantes e o sistema de defesa antioxidante. Os principais componentes do sistema de defesa antioxidante no organismo são as enzimas antioxidantes (catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase) e a glutathione, as quais estão envolvidas na redução das espécies reativas de oxigênio e peróxidos produzidos em organismos vivos assim como na detoxificação de certos compostos de origem exógena, tendo então, ação primária na manutenção da homeostase. Além das enzimas antioxidantes, os antioxidantes dietéticos favorecem o equilíbrio entre a produção e eliminação dos RL (Alía et al., 2003). Entre os principais antioxidantes dietéticos estão as vitaminas C, o tocoferol, e os flavonóides.

Devido ao potencial antioxidante da saponina, seu consumo poderia inibir as alterações cardíacas causadas pelo consumo de dietas ricas em lipídios, colesterol e sacarose. Deste modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ação da saponina na modulação do metabolismo energético e do estresse oxidativo miocárdico em ratos alimentados com dietas ricas em lipídios, colesterol e sacarose.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **1. ANIMAIS**

Foram utilizados 36 ratos machos adultos *Wistar*, de peso médio 240 gramas. Os animais eram provenientes do Biotério Central da UNESP "campus de Botucatu" e foram 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  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , período claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram mantidos em gaiolas de plástico individuais, recebendo dieta e água destilada *ad libitum*, sendo divididos em 6 grupos (P, L, S, FP, FL e FS) com 6 ratos cada. O grupo P foi considerado controle (n=6), recebendo dieta padrão, Purina - Labina (Campinas, SP, Brasil). Os animais do grupo L (n=6) receberam dieta padrão acrescida de óleo de soja, colesterol e ácido cólico (Duarte et al., 1998). O grupo S (n=6) recebeu dieta padrão enriquecida com sacarose e óleo de soja (Chicco et al., 1991). O grupo FP (n=6) recebeu dieta padrão e saponina (4g/L) na água de beber. Animais do grupo FL (n=6) receberam a mesma dieta do grupo L e saponina (4g/L) na água. O grupo FS (n=6) recebeu a dieta do grupo S e saponina (4g/L) na água.

As diferentes rações foram preparadas a partir do farelo da ração basal, como descrito por Rodrigues (2007, Capítulo 1, página 10).

## **2. DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS**

Imediatamente após o sacrifício, o coração foi removido, dissecado e pesado. O ventrículo esquerdo (VE) foi então separado, pesado e as amostras foram lavadas em solução salina gelada (NaCl 0,9%), pesadas e armazenadas em freezer a  $-86^{\circ}\text{C}$ . Amostras de 200mg do VE foram homogeneizadas em Potter Elvehjem,

com pistilo de teflon, com 5 mL de tampão fosfato de sódio 0,1M. pH 7.0. Os homogeneizados foram centrifugados a 10.000 rpm por 15 minutos, em centrífuga refrigerada a -4°C. Os sobrenadantes foram utilizados para análise do estresse oxidativo e metabolismo energético.

### 3. ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO

A análise do estresse oxidativo foi realizada através das atividades das enzimas superóxido dismutase, catalase, glutathiona peroxidase e glutathiona redutase, e do poder redutor (glutathiona total, glutathiona reduzida e oxidada) bem como das concentrações de hidroperóxido de lipídio (HP) e substâncias antioxidantes totais (SAT) no músculo cardíaco.

O hidroperóxido de lipídio foi determinado através da oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  (sulfato ferroso amoniacal). O  $\text{Fe}^{3+}$  formado reage com alaranjado de xilenol formando composto colorido (Jiang et al., 1991). As substâncias antioxidantes totais foram calculadas através da porcentagem de inibição da formação de HP (Mehmetcik et al., 1997).

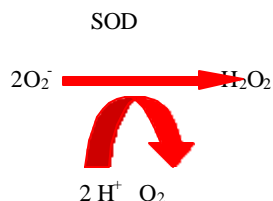
As atividades da catalase (CAT, E.C.1.11.1.6.) foram determinadas em tampão fosfato pH 7,0, utilizando-se 0,5mL de amostra e peróxido de hidrogênio (30%). As leituras espectrofotométricas foram realizadas a 240nm (Aebi, 1974).

Catalase



As atividades da superóxido dismutase (SOD, E.C.1.15.1.1.) foram determinadas através da alteração na redução do nitroblue-tetrazólico (NBT) pelos radicais superóxido, gerados pela

mistura NADH e fenazina metassulfatos em pH fisiológicos (Crouch et al., 1981).



A atividade da glutathiona peroxidase (GSH-Px, E.C.1.11.1.9.) foi determinada através da oxidação em presença de peróxido (Nakamura et al., 1974). A mistura de reação foi formada por tampão fosfato de sódio pH 7,0, NADPH,  $\text{NaN}_3$ , EDTA e glutathiona reduzida.



A concentração de glutathiona total foi determinada através de método cinético, monitorando a redução do DTNB pela glutathiona reduzida (GSH) na presença de NADPH, formando 2-nitro-5-ácido tiobenzóico. A leitura espectrofotométrica foi realizada a 412 nm (Tietze, 1969). A concentração de glutathiona reduzida (grupos SH-não protéicos) foi determinada em tampão tris-HCl pH 8,9 e DTNB, após prévia precipitação com TCA 50%. Como padrão foi utilizada GSH 1mM (Sedlak & Lindsay, 1968). A concentração de glutathiona oxidada (GSSG) foi estimada através da diferença entre GSH total e GSH reduzida, segundo a proporção estequiométrica (2GSH: GSSG) (Okamoto et al., 2001).

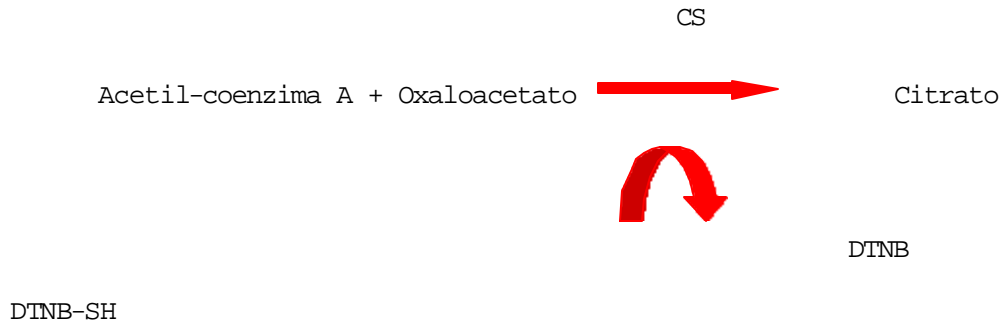
A atividade da glutathiona redutase (GSH-Rd, E.C.1.6.4.2.) foi determinada através da oxidação do NADPH a 340 nm (Miller & Blakely, 1992).

GSH-Rd

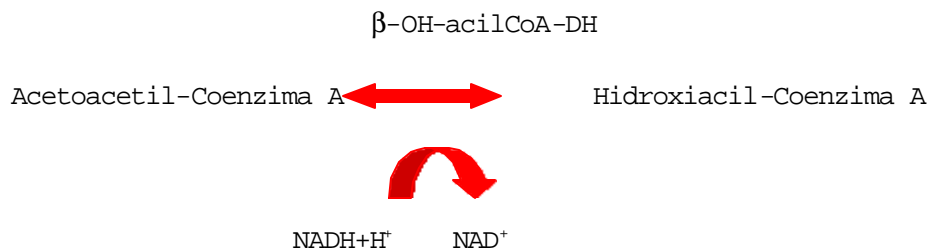


#### 4. ANÁLISE DO METABOLISMO ENERGÉTICO NO MÚSCULO CARDÍACO

A atividade da citrato sintase (CS, E.C.4.1.3.7.) foi determinada a 412nm em tampão tris-HCl 50mM, pH 8,0, contendo acetil CoA, DTBN e oxaloacetato (Bass et al., 1969). A atividade da enzima foi determinada através da transferência do grupo sulfidríla da coenzima A ao DTBN.

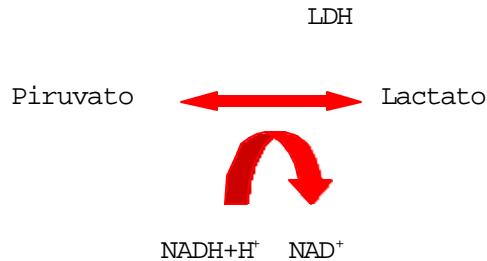


A  $\beta$ -hidroxiacil Coenzima A desidrogenase (OHADH, E.C.1.1.1.35.) foi determinada em meio contendo acetoacetil coenzima A e NADH (Bass et al., 1969). A oxidação do NADH foi determinada em 3 minutos, sendo realizadas leituras à 340nm em intervalos de 1 minuto.





A atividade da lactato desidrogenase (LDH, E.C.1.1.1.27.) foi determinada no coração pela velocidade de oxidação do NADH, medida a 340 nm, tendo como substrato o piruvato (Moura, 1982).



## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. A comparação entre os grupos foi realizada pela técnica de análise de variância (ANOVA) para o esquema de três fatores (colesterol, sacarose e saponina) com dois níveis (ausência e presença) no experimento completamente casualizado (Zar, 1994). O nível de significância foi de 5% para a discussão dos resultados (Norman & Streiner, 1994).

As letras utilizadas nas tabelas e figuras são referentes as seguintes comparações:

- (a) Indica diferença significativa entre os grupos: P x S;  
FP x FS.
- (b) Indica diferença significativa entre os grupos: P x L;  
FP x FL.
- (c) Indica diferença significativa entre os grupos: P x  
FP; L x FL; S x FS.

## RESULTADOS

Não houve diferença significativa no peso do coração e nas concentrações cardíacas de proteínas totais nos grupos estudados. As Figuras 1 e 2 mostram que a diminuição no consumo de proteínas não afetou a concentração de proteína no músculo cardíaco. Quando analisada a relação peso do coração/peso final (PC/PF), somente o grupo FL apresentou diminuição quando comparado ao grupo L (Tabela 1).

A análise do metabolismo energético demonstrou que não foram observadas alterações significantes nas atividades das enzimas CS, LDH, OHADH, bem como de suas relações, nos diferentes grupos experimentais, exceto nos animais do grupo FS que apresentaram elevação na CS, em relação ao grupo FP, e na LDH em relação aos grupos S e FP (Tabela 3). Pode-se observar nas figuras 3, 4 e 5 que a modificação na ingestão dos nutrientes não afetou o metabolismo energético.

A análise do EO permitiu verificar que não houve variação no HP entre os grupos (Tabela 1). Animais do grupo L apresentaram elevação nas atividades da SOD e redução na porcentagem de SAT em relação ao grupo P (Tabela 1). Houve aumento nas atividades da SOD e diminuição na GSH-Px nos animais do grupo S (Tabela 1). Ratos do grupo FP apresentaram elevação na relação HP/SAT, nas atividades da SOD e nas concentrações de GSSG, e redução na GSH, bem como na relação GSH/GSSG, quando comparados aos animais do grupo P (Tabelas 1 e 2). O grupo FL elevou a porcentagem de SAT, as atividades da CAT e reduziu a relação HP/SAT em relação aos grupos L e FP (Tabela 1). Foi observado aumento na relação GSH/GSSG e redução na concentração

de GSSG no grupo FL (Tabela 2). O grupo FS apresentou elevação nas atividades da SOD e da GSH-Px quando comparado aos grupos FP e S. Foi observado aumento na porcentagem de SAT, nas concentrações de GSH, na relação GSH/GSSG e redução nas concentrações de GSSG nos animais do grupo FS em relação ao grupo FP (Tabelas 1 e 2).

**Tabela 1.** Peso do coração (PC), relação peso coração/peso final (PC/PF), concentrações de proteína total (PT), hidroperóxido de lipídio (HP), substâncias antioxidantes totais (SAT), relação HP/SAT e atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GSH-Px) no miocárdio dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em lipídios, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em lipídios, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS).

	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
PC (g)	1,03±0,08	1,15±0,08	1,06±0,08	1,05±0,04	1,13±0,10	1,11±0,12
PC/PF	2,75±0,16	2,86±0,08	2,73±0,1	2,72±0,11	2,65±0,12 <sup>c</sup>	2,63±0,10
PT (g/g tecido)	0,14±0,03	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,13±0,01	0,12±0,01
HP (nmol/mg tecido)	0,10±0,04	0,15±0,04	0,09±0,03	0,15±0,01	0,11±0,02	0,14±0,09
SAT (%)	45,57±13,16	35,43±3,70 <sup>b</sup>	48,13±8,33	35,89±3,11	46,67±11,05 <sup>bc</sup>	46,02±9,94 <sup>a</sup>
HP/SAT	2,19±1,13	3,89±0,79	2,03±1,09	4,14±0,53 <sup>c</sup>	2,56±1,11 <sup>c</sup>	2,76±1,94
CAT (μmol/100mg proteína)	48,98±5,46	60,24±8,60	65,47±17,99	65,32±25,27	92,55±24,34 <sup>bc</sup>	77,10±6,46
SOD (nmol/mg proteína)	16,78±3,49	21,33±1,87 <sup>b</sup>	20,69±0,63 <sup>a</sup>	19,62±2,63 <sup>c</sup>	21,69±1,56	23,76±2,67 <sup>ac</sup>
GSH-Px (nmol/mg proteína)	16,60±3,44	19,27±3,89	10,78±5,75 <sup>a</sup>	12,40±2,43	14,69±5,85	16,43±3,74 <sup>c</sup>

Valores expressos como média±desvio-padrão. (a) indica diferença significante entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significante entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significante entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

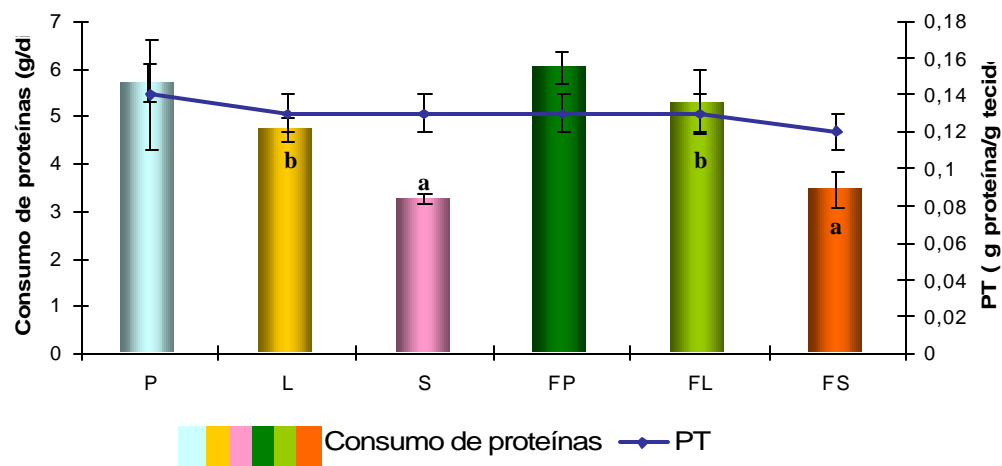
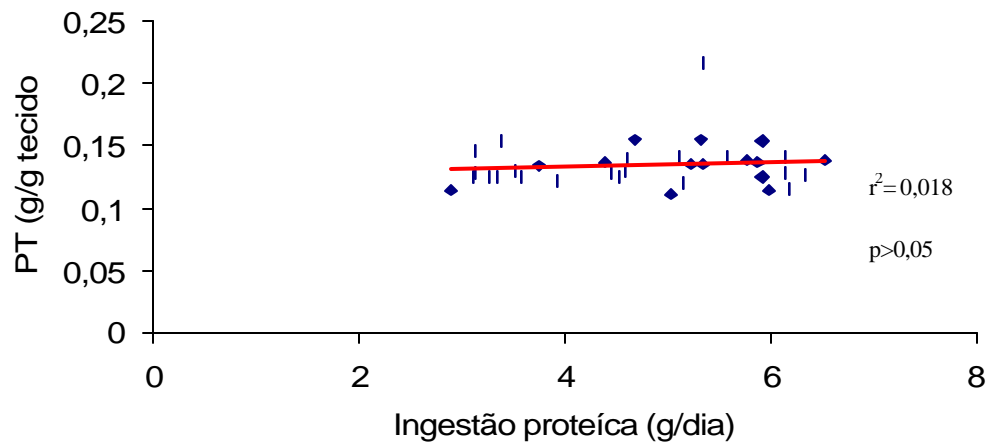


Figura 1. Consumo de proteínas e concentrações de proteínas no miocárdio dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significante entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significante entre os grupos: P x L; FP x FL.



**Figura 2.** Relação linear entre a ingestão de proteínas e as concentrações séricas de proteína total nos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS).

**Tabela 2.** Concentrações glutatona reduzida (GSH), glutatona oxidada (GSSG), relação GSH/GSSG e atividade da enzima glutatona redutase (GSH-Red) no miocárdio dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em lipídios, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em lipídios, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS)

	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
GSH (nmol/mg proteína)	71,15±5,79	70,36±2,65	74,07±4,26	66,48±3,95 <sup>c</sup>	70,19±3,06	75,46±2,25 <sup>a</sup>
GSSG (nmol/mg proteína)	0,52±0,10	0,56±0,08	0,57±0,08	0,73±0,24 <sup>c</sup>	0,57±0,16 <sup>b</sup>	0,56±0,07 <sup>a</sup>
GSH/GSSG (nmol/mg proteína)	140,5±30,9	126,7±21,8	131,0±10,9	97,5±27,3 <sup>c</sup>	129,1±28,8 <sup>b</sup>	135,3±21,3 <sup>a</sup>
GSH-Red) (nmol/mg proteína)	0,54±0,09	0,52±0,27	0,47±0,05	0,42±0,14	0,40±0,05	0,43±0,07

Valores expressos como média±desvio-padrão. (a) indica diferença significante entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significante entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significante entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

**Tabela 3.** Atividade das enzimas citato sintase (CS), lactato desidrogenase (LDH),  $\beta$  hidroxilacil Coenzima A desidrogenase (OHADH) e relações LDH/CS e OHADH/CS no miocárdio dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em lipídios, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em lipídios, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS).

	GRUPOS SEM SAPONINA			GRUPOS COM SAPONINA		
	P	L	S	FP	FL	FS
CS (nmol/mg proteína)	115,73±20,87	124,26±50,54	107,46±18,54	125,31±34,13	152,57±77,74	163,01±34,52 <sup>c</sup>
LDH (nmol/mg proteína)	542,6±85,1	595,2±104,5	506,0±72,0	566,3±112,6	650,8±159,0	708,4±66,0 <sup>ac</sup>
OHADH (nmol/mg proteína)	227,4±28,9	253,3±29,3	219,6±37,0	225,0±18,2	240,6±13,3	239,1±41,1
LDH/CS	4,71±0,37	5,27±1,57	4,74±0,40	4,71±1,10	5,06±2,36	4,44±0,55
OHADH/CS	1,99±0,30	2,28±0,75	2,06±0,26	1,90±0,48	2,01±1,08	1,53±0,47

Valores expressos como média±desvio-padrão. (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.



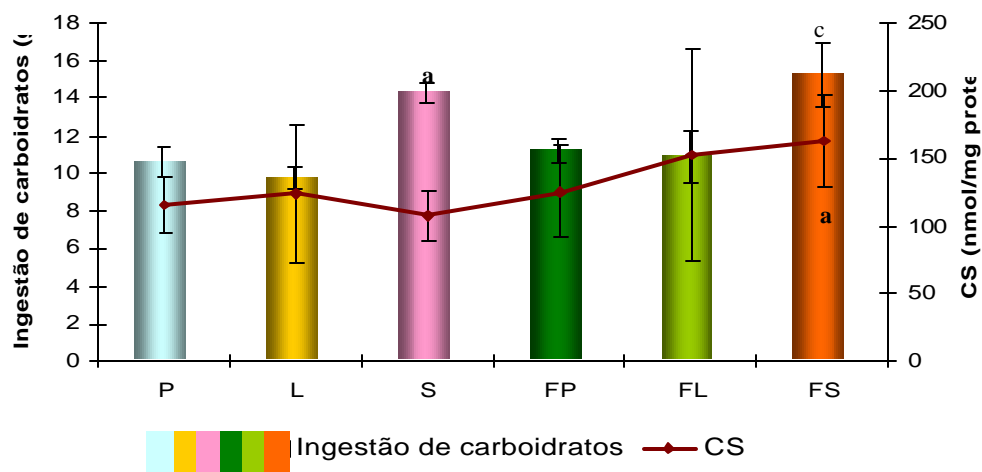
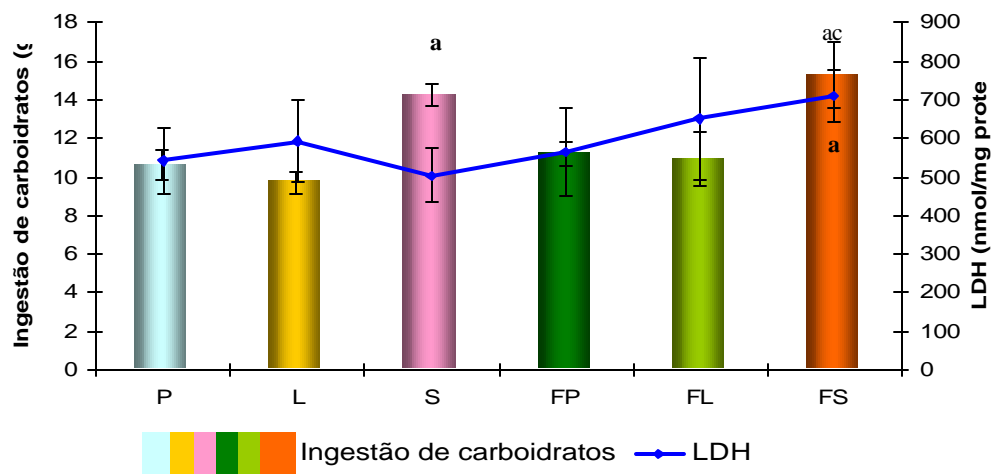
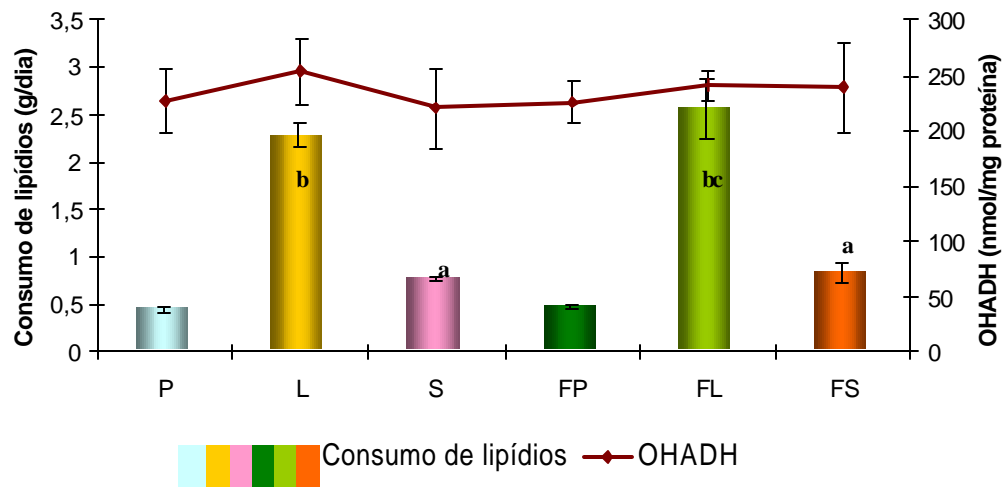


Figura 3. Ingestão de carboidratos e atividade da enzima citrato sintase (CS) no miocárdio dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido fólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido fólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.



**Figura 4.** Ingestão de carboidratos e atividade da enzima lactato desidrogenase no miocárdio dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.



**Figura 5.** Ingestão de lipídios e atividade da enzima  $\beta$  hidroxilacil Coenzima A desidrogenase (OHADH) no miocárdio dos animais alimentados com dieta padrão (P), com dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico (L), dieta rica em sacarose (S), dieta padrão, recebendo saponina na água de beber (FP), dieta rica em óleo de soja, colesterol e ácido cólico, recebendo saponina (FL) e dieta rica em sacarose, recebendo saponina na água de beber (FS). (a) indica diferença significativa entre os grupos: P x S; FP x FS. (b) indica diferença significativa entre os grupos: P x L; FP x FL. (c) indica diferença significativa entre os grupos: P x FP; L x FL; S x FS.

## DISCUSSÃO

Espécies reativas de oxigênio (ERO) induzem danos funcionais e estruturais no tecido cardíaco e podem favorecer o desenvolvimento da insuficiência cardíaca. Evidências recentes têm sugerido associação entre a produção excessiva de ERO e o desenvolvimento da insuficiência e remodelação cardíacas (Stanley et al., 2005). ERO podem afetar diversos componentes celulares como proteínas, lipídios e DNA.

Tendo em vista os efeitos adversos da ingestão de dietas desbalanceadas no músculo cardíaco, faz-se necessária a pesquisa da ação de antioxidantes dietéticos sobre essas alterações.

Pode-se observar, na Tabela 1, que apesar do grupo FL ter apresentado redução na relação PC/PF, não foram observadas alterações no peso do coração e nas concentrações de proteínas no miocárdio dos animais estudados. As Figuras 1 e 2 demonstram que não houve correlação significativa entre o consumo e as concentrações cardíacas de proteínas, indicando que os tratamentos não induziram modificações estruturais no tecido cardíaco. Estes fatos estariam associados à manutenção do metabolismo energético. Dieta rica em lipídios e colesterol não alterou as atividades das enzimas das vias metabólicas. Entretanto a elevada ingestão de sacarose, bem como o consumo de saponina, modificaram o metabolismo energético cardíaco.

A manutenção do metabolismo energético nos grupos L, S, FP e FL foi associada à normalidade do HP nos diferentes grupos experimentais. Durante o metabolismo energético, a cadeia respiratória mitocondrial é a principal fonte intracelular de radicais livres (RL) (Chen et al., 2003). Os RL são espécies

muito reativas, capazes de induzir oxidação nos fosfolipídios e proteínas das membranas, resultando em modificação da função celular e morte das células (Droge, 2002). Desta forma, alterações no metabolismo energético podem resultar em elevação na produção de RL e EO (Faine et al., 2003). A manutenção do HP miocárdico demonstraria a integridade das membranas mitocondriais, indicando que a despeito da ingestão de dietas inadequadas (Rodrigues, 2007, Capítulo 1) e da dislipidemia (Rodrigues, 2007, Capítulo 2) não houve redução do metabolismo aeróbico miocárdico nos diferentes grupos experimentais.

A manutenção do HP ocorreu através de diferentes respostas antioxidantes nos grupos experimentais.

No grupo L houve elevação na SOD, o que resultaria em aumento na concentração de  $H_2O_2$ . Entretanto, houve redução na SAT, que foi utilizada para impedir a elevação no HP (Tabela 1). Sabe-se que a ingestão lipídica e a presença de colesterol na dieta afetam a composição das membranas celulares (Stepp & Tulenko, 1994; Chen et al., 1995). Quando ocorre aumento no consumo de ácidos graxos (AG) insaturados as membranas incorporam esses AG. Maior proporção de lipídios insaturados e colesterol nas membranas predispõem à ação dos RL (Mehta et al., 1994). A dieta rica em lipídios e colesterol foi obtida pela adição de óleo de soja, AG insaturado, na ração padrão.

A formação de ERO pode ocorrer através da redução incompleta do  $O_2$  na cadeia respiratória mitocondrial, com a formação do radical superóxido ( $O_2^-$ ). A ação da enzima antioxidante SOD sobre o  $O_2^-$  resulta na produção de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio. O  $H_2O_2$  participa da formação do

radical hidroxil (OH), e é altamente tóxico. As enzimas catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GSH-Px) são responsáveis pela transformação do  $H_2O_2$  em água e oxigênio (Novelli, 2005). Como, no presente trabalho não foram observadas alterações nas atividades da CAT, bem como da GSH-Px, os animais do grupo L utilizaram a SAT para neutralizar a ação tóxica do  $H_2O_2$  produzido. As SAT incluem os antioxidantes não enzimáticos, lipofílicos e aquosos (Novelli, 2005).

No grupo FL o efeito da saponina elevando a catalase e a SAT foi associado a suas propriedades antioxidantes. Os polifenóis podem exercer atividades antioxidantes diretas através do seqüestro de ERO, como  $O_2^-$  e  $H_2O_2$  (Pannala et al., 1997). O núcleo fenólico pode atuar como tampão e capturar os elétrons das ERO para torná-los menos reativos (Cotelle et al., 1996). Além disso, os polifenóis podem quelar metais como o ferro, envolvidos na formação dos RL (Korkina & Afanas'ev, 1997; Nijveldt et al., 2001). Indiretamente, os polifenóis podem interferir nos sistemas de detoxificação celular, como as enzimas SOD, CAT e GSH-Px (Sies, 1991; Krinsky, 1992). Tem sido observada inibição nas enzimas geradoras de ERO como a xantina oxidase e a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (Nijveldt et al., 2001; Orallo et al., 2002). A saponina também pode atuar no poder redutor. A glutathiona é um tripeptídeo contendo grupo sulfidríla presente na cisteína, que confere a esta molécula grande capacidade redutora (Meister & Anderson, 1983). Sua forma varia entre o tiol reduzido (GSH) e o oxidado (GSSG), na qual dois tripeptídeos estão unidos por uma ligação dissulfeto (Novelli, 2005). Diminuições nas concentrações de GSH

têm sido observadas no envelhecimento (Rebrin et al., 2003) e na isquemia cardíaca (Ceconi et al., 2003). A associação saponina-colesterol induziu efeitos benéficos, pois reduziu a concentração de GSSG e elevou a relação GSH/GSSG (Tabela 2). Evidências recentes têm indicado que o EO pode causar mudanças no estado redox de diferentes tecidos, aumentando a concentração de GSSG. Elevação nas concentrações de GSSG no interior das células pode sugerir oxidação de GSH para impedir o EO.

No grupo S o HP foi mantido na normalidade, porém houve elevação na SOD e redução na GSH-Px, sugerindo elevação no  $H_2O_2$ , embora não suficiente para alterar a integridade da membrana mitocondrial e induzir mudança metabólica. Quando o grupo FS foi comparado ao grupo S, foi observada elevação na LDH e manutenção nas atividades das demais enzimas metabólicas. O aumento nas atividades da LDH isolado é prejudicial para o músculo cardíaco devido à diminuição no pH e na produção de trifosfato de adenosina (ATP) (Stanley & Rydén, 2003). Houve elevação na cetonemia nestes animais (Rodrigues, 2007, Capítulo 2, página 15), e conseqüente aumento na utilização de corpos cetônicos, como fonte energética pelo miocárdio. Não houve alteração na OHADH nos animais dos grupos S e FS, indicando que a despeito da resistência à insulina, e conseqüente lipólise, disponibilizando maior concentração de AG, não houve elevação na utilização de AG como fonte energética nos animais do grupo S.

O principal efeito da insulina nos tecidos é a elevação na captação e utilização de glicose enquanto reduz o metabolismo dos AG. A redução na resposta à insulina ocorre em diversas condições patológicas incluindo diabetes tipo 2, hipertensão e

insuficiência cardíaca. Na resistência à insulina não é observada supressão da lipólise nas células adiposas. Assim, ocorre elevação nas concentrações de AG, resultando em aumento na captação de AG pelo músculo cardíaco, com subsequente redução na captação e oxidação de glicose e lactato (Stanley & Rydén, 2003). Entretanto, estudo com animais e indivíduos diabéticos não demonstraram que o diabetes resulta em maior oxidação de AG no miocárdio, quando as concentrações de corpos cetônicos estavam elevadas (Stanley & Rydén, 2003).

No grupo FS o HP foi mantido na normalidade, havendo elevação nas atividades da SOD, GSH-Px, bem como no poder redutor, indicando que em relação ao grupo S, a saponina induziu desequilíbrio dos sistemas antioxidantes:oxidantes favorecendo uma situação de proteção contra o EO. Este efeito benéfico da saponina foi evidenciado no metabolismo energético miocárdico.

Como demonstrado por Rodrigues (2007, Capítulo 2, página 15) animais com dieta rica em sacarose na presença de saponina apresentaram elevação na cetonemia. Nestas condições, os corpos cetônicos constituem importantes fontes energéticas para o coração (Novelli, 2005). Houve elevação nas atividades da CS no miocárdio desses animais (Tabela 3), indicando que na presença de saponina houve melhora na ação da insulina, permitindo maior captação de glicose pelo tecido cardíaco. A normalização da glicemia pode ser vista no grupo FS em relação ao grupo S (Rodrigues, 2007, Capítulo 2, página 15). A elevação na degradação da glicose, evidenciada pelo aumento nas atividades da LDH, forneceu substrato metabólico para o ciclo do citrato, assim elevando a oxidação da glicose. O aumento da glicólise,



no tecido cardíaco, ocorre durante o trabalho cardíaco súbito, com o intuito de fornecer energia adicional, como no exercício intenso, antes da elevação do lactato muscular. A glicólise é também responsável pela manutenção da integridade da membrana dos miócitos, tanto em condições de isquemia como em condições normais de oxigenação (Weiss & Lamp, 1987). Embora em condições normais o tecido cardíaco utilize preferencialmente AG como fonte energética, a elevação na oxidação da glicose tem sido considerada um mecanismo eficaz na terapia metabólica.

A regulação do metabolismo cardíaco é complexa, e está relacionada com concentrações hormonais, fluxo coronariano e estados inotrópico e nutricional (Stanley & Rydén, 2003). Em indivíduos saudáveis grande parte da síntese de ATP, no coração, é proveniente dos AG (60-80%), 10-30% da glicose e o lactato é responsável pelos 10-30% restantes. Corpos cetônicos também podem ser rapidamente oxidados pelo músculo cardíaco (Stanley & Rydén, 2003).

Em conclusão, os resultados obtidos demonstraram que as dietas induziram desequilíbrio no estado oxidante/antioxidante, reduzindo as defesas antioxidantes. Entretanto, apenas a elevada ingestão de sacarose foi capaz de promover alterações no metabolismo energético cardíaco. A saponina melhorou o metabolismo energético, e provou suas atividades antioxidantes, demonstrando sua ação na prevenção de alterações miocárdicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

\* International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to journals. *N Engl J Med* 1997; 336: 309-315.

Aebi, H. Methods of enzymatic analysis. 2. ed. (New York): Bergmeyer H. V. Editor Verlag Chemie Weinheim, 1974. 1-4.

Alía M, Horcajo C, Bravo L, Goya L. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats. *Nutr Res* 2003; 23:1251-2167.

Bass A, Brdicka PE, Eyer P, Hofer S, Pette D. Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *Eur J Biochem* 1969; 10:198-206.

Ceconi C, Boraso A, Cargnoni A, Ferrari R. Oxidative stress in cardiovascular disease: myth or fact? *Arch Biochem Biophys* 2003; 420:217-221.

Chen K, Thomas SR, Keaney Jr JF. Beyond LDL oxidation: ROS in vascular signal transduction. *Free Rad Biol Med* 2003; 35:117-132.

Chen M, Mason RP, Tulenko TN. Atherosclerosis alters composition, structure and function of arterial smooth muscle plasma membrane. *Biochem Biophys Acta* 1995; 1272:101-112.

Chicco A, Gutman R, Lombardo YB. Biochemical abnormalities in the heart of rats fed a sucrose-rich diet is the low activity

- of pyruvate dehydrogenase complex a result of increased fatty acid oxidation? *Metabolism* 1991; 40:15-21.
- Christoffersen C, Bollano E, Lindergaard MLS, Bartels ED, Goetze JP, Andersen CB, Nielsen LB. Cardiac lipid accumulation associated with diastolic dysfunction in obese mice. *Endocrinology* 2003; 144:3483-3490.
- Cotelle N, Bernier JL, Catteau JP, Pommery J, Wallet JC, Gaydou EM. Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Rad Biol Med* 1996; 20:35-43.
- Crouch RK, Gandy SE, Kimsey G. The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. *Diabetes* 1981; 35: 235 - 241.
- Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82:47-95.
- Duarte HS, Costa NMB, Leal PFG, Oliveira TT. Avaliação do efeito de sopas desidratadas ricas em fibra na redução do colesterol sanguíneo em ratos, *Rev Nutr* 1998; 11:149-161.
- Faine LA, Cicogna AC, Diniz YS, Almeida JA, Burneiko RC, Rodrigues HG, Novelli ELB. Dietary restriction: metabolic shifting for cardiovascular health. *J Nutr Environ Med* 2003; 13:25-31.
- Jiang ZY, Woollard ACS, Wolf S. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange. Comparison with TBA assay and on iodometric method. *Lipids* 1991; 26:853-856.
- Korkina IG, Afanas'ev IB. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Adv Pharmacol* 1997; 38:151-163.

- Krinsky NI. Mechanism of action of biological antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200:248-254.
- Marín-García J, Goldenthal MJ. Fatty acid metabolism in cardiac failure: biochemical, genetic and cellular analysis. *Cardiovasc Res* 2002; 54:516-527.
- Mehmetcik G, Toker G, Uysal M. Endogenous and copper-induced lipid hyperperoxidation and antioxidant activity of serum in hypercholesterolemic subjects. *Horm Metab Res* 1997; 29:63-65.
- Mehta RS, Gunnet CA, Harris SR, Bunes OR, Hartle DK. High fish diet increases oxidative stress potential in mammary gland of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharm Physiol* 1994; 21:881-890.
- Meister A, Anderson ME. Glutathione metabolism. *Ann Rev Biochem* 1983; 52:711-760.
- Miller A, Blakely WF. Inhibition of glutathione reductase activity by a carbamylating nitrosurea: effect on cellular radiosensitivity. *Free Rad Biol Med* 1992; 12:53-62.
- Moura RA. *Técnicas de laboratório*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1982. 822 p.
- Nakamura W, Hojoda S, Hayashi K. Purification and properties of rat liver glutathione peroxidase. *Biochem Biophys Acta* 1974; 358:251-261.
- Neely JR, Morgan HE. Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and the energy balance of heart muscle. *Ann Rev Physiol* 1974; 36:413-459.
- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms

- of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:418-425.
- Norman GR, Streiner DL. *Biostatistic - the base essentials*. St. Louis: Mosby Book, 1994. 260p.
- Novelli ELB, *Nutrição e vida saudável: estresse oxidativo e metabolismo energético*. Ribeirão Preto, SP: tecmed, 2005. 288p.
- Okamoto OK, Pinto E, Latorre LR, Bechara EJH, Colepicolo P. Antioxidant modulation in response to metal-induced oxidative stress in algal chloroplasts. *Arch Environ Contamin Toxicol* 2001; 40:18-24.
- Orallo F, Alvarez E, Camina M, Leiro JM, Gomez E, Fernandez P. The possible implication of trans-resveratrol in the cardioprotective effects of long-term moderate wine consumption. *Mol Pharmacol* 2002; 61:294-302.
- Pannala AS, Rice-Evans CA, Halliwell B, Singh S. Inhibition of peroxynitrite-mediated tyrosine nitration by catechin polyphenols. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232:164-168.
- Pepe S, McLennan PL. Mitochondrial function. Cardiac membrane fatty acid composition modulates myocardial oxygen consumption and post-ischemic recovery of contractile function. *Circulation* 2002; 105:2303-2308.
- Rebrin I, Kamzalov S, Sohal R. Effects of age and caloric restriction on glutathione redox state in mice. *Free Rad Biol Med* 2003; 35:626-635.
- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent *Anal Biochem* 1968; 25:192-205.

- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 91:31S-38S.
- Stanley WC, Recchia FA, Lopaschuk GD. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. *Physiol Rev* 2005; 1093-1129.
- Stanley WC, Rydén L. The diabetic coronary patient. 2.ed. London: Science Pres, 2003. 76p.
- Stepp D, Tulenko TN. Alterations in basal and secretion-stimulated calcium movements and vasoconstriction in atherosclerotic aorta. *Artheroscler Thromb* 1994; 14:1854-1859.
- Tietze F. Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal Biochem* 1969; 27:502-522.
- Weiss JN, Lamp ST. Glycolysis preferential inhibits ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in isolated guinea pig myocytes. *Science* 1987; 238:67-69.
- Zar JH. Biostatistical analysis. 4.ed. New Jersey: Practice-Hall, 1994. 663p.

# *CAPÍTULO 4*

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Os resultados deste estudo permitiram concluir que as alterações nos componentes das dietas induziram modificações no consumo de macronutrientes.

As dietas ofertadas induziram mudanças nos parâmetros nutricionais, mesmo na ausência de obesidade. Foram observados efeitos deletérios sobre a lipidemia e o estresse oxidativo séricos, após a ingestão das dietas experimentais durante 35 dias.

A dieta rica em lipídios e colesterol favoreceu o desenvolvimento da hipercolesterolemia isolada e do estresse oxidativo sérico. Contudo, não alterou o estado oxidante/antioxidante, bem como o metabolismo energético miocárdico.

A dieta rica em sacarose induziu alterações relacionadas à resistência à insulina, com decorrente desenvolvimento da hiperlipidemia mista. Aumento na ingestão de sacarose não afetou o equilíbrio do sistema oxidante/antioxidante sérico, mas, exerceu efeito pró-oxidante no miocárdio. O metabolismo energético cardíaco sofreu ação deletéria da sacarose, com elevação do metabolismo anaeróbio. Desta forma, podemos concluir que a dieta rica em sacarose induziu efeitos adversos mais significativos, uma vez que afetou a lipidemia, o estresse oxidativo e o metabolismo energético no miocárdio.

A ingestão de saponina, flavonóide encontrado na soja, proporcionou melhor aproveitamento dos nutrientes dietéticos, sem induzir excesso de peso. O seu consumo foi associado à normalização do perfil lipídico e do estresse oxidativo sérico. No miocárdio, a saponina preveniu o estresse oxidativo através



de ações diretas e indiretas, modificando as atividades das enzimas antioxidantes.

Quando administrada a animais que ingeriram dieta rica em sacarose durante 35 dias, a saponina induziu efeitos benéficos no metabolismo energético, favorecendo a oxidação da glicose.