

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS

FIBRA KONJAC
E NÍVEIS SÉRICOS E HEPÁTICOS DE LIPÍDIOS

Sandra Regina Gregorio
Nutricionista
(Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos)

Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes
(Orientador)

Prof. Dr. Miguel Arcanjo Areas
(Co-orientador)

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Sandra Regina Gregório**, aprovada pela Comissão Julgadora em 26 de setembro de 2001.

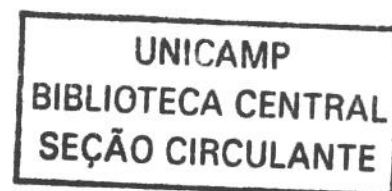
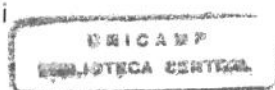
Campinas, 26 de setembro de 2001


Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos,
da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Doutor em Ciência de Alimentos

Campinas - SP

2001

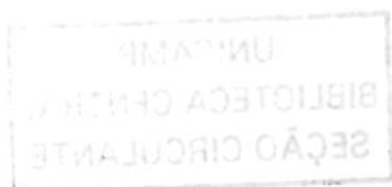


UNIDADE BC
 N.º CHAMADA: T/ UNICAMP
G861f
 V. Es.
 TOMBO BC/ 47212
 PROC. 16-837/02
 C ☐ D ☒
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 15-01-2002
 N.º CPD

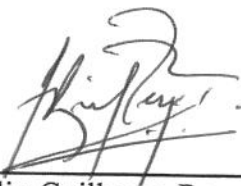
CM00162397-2

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA FEA - UNICAMP

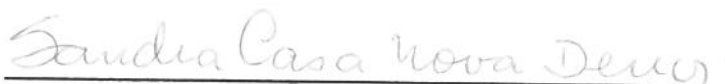
~~G821~~
 G861f Gregorio, Sandra Regina
 Fibra konjac e níveis séricos e hepáticos de lipídios / Sandra
 Regina Gregorio – Campinas, SP: [s.n.], 2001.
 Orientador: Felix Guillermo Reyes Reyes
 Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Engenharia de Alimentos.
 1.Fibra em nutrição humana. 2.Konjak. 3.Diabetes 4.Ratos
 5.Hipercolesterolemia. I. Reyes Reyes, Felix Guillermo.
 II.Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia
 de Alimentos. Título.



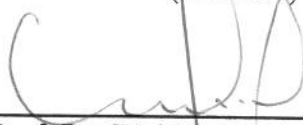
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes
(Orientador)



Prof.ª Dra. Sandra Casa Nova Derivi
(Membro)



Prof. Dr. Waldemiro Carlos Sgarbieri
(Membro)



Prof.ª Dra. Maria Cristina C. Gomes Marcondes
(Membro)



Prof.ª Dra. Hélia Harumi Sato
(Membro)

Prof. Dr. Yong Kun Park
(Membro)

Prof. Dr. José Roberto Moreira de Azevedo
(Membro)

*“Quando desejamos alguma coisa,
a vida nos guiará até ela,
às vezes por caminhos que não esperamos
e quase sempre,
nos deixamos confundir,
por que estes caminhos nos surpreendem
e então, achamos que estamos indo na direção errada
Deus eu te agradeço
por iluminar o meu caminho”.*

*A vida nos permite ter uma infinidade de experiências,
as quais compartilhamos com pessoas especiais.
O apoio, o incentivo e o carinho recebidos a cada momento
em que buscamos algo importante na nossa vida,
são indicadores de que o amor é capaz de fazer com que sejamos vitoriosos,
mesmo que o caminho a percorrer seja o mais longo e tenha mais obstáculos.
Edmar, com você eu partilho mais esta vitória,
certamente, esta conquista é nossa.
O seu apoio e amor
me fizeram subir mais um degrau da grande escada da vida.
Muito obrigada.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Felix G. R. Reyes pela confiança, colaboração, compreensão e amizade.

Ao professor Miguel A. Areas, demais professores e funcionários do Instituto de Biologia da UNICAMP que contribuíram para realização deste trabalho.

A todos os professores da FEA pela oportunidade na ampliação na minha formação profissional.

Aos amigos Mirian R. Moura, Lúcia Cruz Neyra, Neura Lúcia, Luiz Contado e Massaharu pela amizade, incentivo, apoio e companherismo ao longo do curso.

Aos amigos que muito colaboraram na elaboração experimental deste projeto: Maria Cristina Freitas, Silvia Regina M. Couto, Wagner, Gislaine e Ana.

Ao apoio, incentivo, amizade e colaboração técnica de Haydeé Lanzillotti, Regina Lanzillotti e Rosângela Tostes.

E ainda, a todos aqueles que de certa forma contribuíram para a execução deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO GERAL.....	1
INTRODUÇÃO GERAL.....	5
 CAPÍTULO 1	
Fibras alimentares e doenças cardiovasculares.....	9
 Resumo.....	11
Abstract.....	11
Revisão Bibliográfica.....	12
Referências Bibliográficas.....	22
 CAPÍTULO 2	
Avaliação da indução do diabetes neonatal com streptozotocina em ratos Wistar.....	31
 Resumo.....	33
Abstract.....	34
Introdução.....	35
Materiais e Métodos.....	37
Resultados e Discussão.....	39
Conclusões.....	43
Referências Bibliográficas.....	43

CAPÍTULO 3**Indução de hipercolesterolemia em ratos Wistar com diabetes neonatal 47**

Resumo.....	49
Abstract.....	50
Introdução.....	51
Materiais e Métodos.....	53
Resultados e Discussão.....	55
Conclusões.....	61
Referências Bibliográficas.....	62

CAPÍTULO 4**Efeito da fibra konjac sobre os lípides plasmáticos em ratos Wistar com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida..... 65**

Resumo.....	67
Abstract.....	68
Introdução.....	70
Materiais e Métodos.....	72
Resultados e Discussão.....	75
Conclusões.....	85
Referências Bibliográficas.....	85

TABELAS

CAPÍTULO 2- Avaliação da indução do diabetes neonatal com streptozotocina em ratos Wistar

Tabela 1- Número (n) e médias do peso ($g \pm DP$) dos animais utilizados no teste de tolerância à glicose (TTG).....	39
Tabela 2- Valores de peso, glicemia (jejum e pós-prandial) em ratos Wistar, machos e fêmeas, diabéticos (Dn-STZ) e controle.....	41

CAPÍTULO 3- Indução de hipercolesterolemia em ratos Wistar com diabetes neonatal

Tabela 1- Distribuição dos animais (machos e fêmeas) nos grupos experimentais, assim como peso (g) e glicemia (mg/dL) de jejum e pós-prandial, no início do experimento.....	55
Tabela 2- Valores de colesterol total (mg/dl) em ratos Wistar, machos e fêmeas, não diabéticos (C) e diabéticos (D), alimentados com dieta adicionada (Hc) ou não de colesterol (2 %).....	60

CAPÍTULO 4- Efeito da fibra konjac sobre os lípides plasmáticos em ratos Wistar com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida

Tabela 1- Distribuição dos animais por grupos experimentais, sexo, peso (g) e colesterol total (CT) plasmático (mg/dl) no início do tratamento.....	73
---	----

FIGURAS

CAPÍTULO 2- Avaliação da indução do diabetes neonatal com streptozotocina em ratos Wistar

- Figura 1- Curva glicêmica obtida no teste de tolerância à glicose (TTG), em ratos machos e fêmeas controle e Dn-STZ..... 42

CAPÍTULO 3- Indução de hipercolesterolemia em ratos Wistar com diabetes neonatal

- Figura 1- Valores médios de ingestão de dieta (g/dia) por ratos machos e fêmeas nos grupos experimentais (C-controle; CHc-controle hipercolesterolêmico; D-diabético; DHc-diabético hipercolesterolêmico)..... 57
- Figura 2- Evolução do peso corpóreo (g) dos animais controle e diabéticos (ambos os sexos) na indução da hipercolesterolemia (M: machos; F: fêmeas; C-controle; CHc-controle hipercolesterolêmico; D-diabético; DHc-diabético hipercolesterolêmico)..... 58

CAPÍTULO 4- Efeito da fibra konjac sobre os lípides plasmáticos em ratos Wistar com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida

- Figura 1- Média da ingestão de dieta (g/dia) nos grupos estudados, durante o período experimental de 4 semanas (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac)..... 76

Figura 2-	Curva de evolução de peso corpóreo para ratos machos e fêmeas, nos grupos estudados, durante o período experimental de 4 semanas (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac; Prav.: pravastatina; Colestir.: colestiramina).....	77
Figura 3-	Valores de colesterol total (CT) plasmático (mg/dl) no início e final do período experimental (4 semanas) em que os ratos Wistar foram submetidos a tratamento da hipercolesterolemia (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac; Prav.: pravastatina; Colestir.: colestiramina).....	79
Figura 4-	Valores percentuais da redução do colesterol após o tratamento dos animais (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac;).....	80
Figura 5-	Níveis plasmáticos de TG, HDL-c e LDL-c (mg/dl) em ratos machos e fêmeas (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac), no final do período experimental de 4 semanas.....	81
Figura 6-	Valores de colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) (mg/dl) hepáticos (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac; Prav.: pravastatina; Colestir.: colestiramina).....	83

ANEXOS

Anexo I -	Efeito da farinha de konjac sobre a tolerância à glicose em ratos	95
Anexo II -	Effect of konjac flour (<i>Amorphophallus konjac</i>) on glucose tolerance in non diabetic and diabetic rats.....	99
Anexo III -	The effect of konjac flour on the blood lipid profile in diabetic rats.	103
Anexo IV -	Efeito da farinha de konjac e da polpa de laranja sobre a tolerância à glicose em ratos.....	107
Anexo V -	Neonatal diabetes induction with streptozotocin (n-STZ) in Wistar rats (males and females).....	111

RESUMO GERAL

O aumento na ingestão de fibras alimentares solúveis proporciona importante efeito no metabolismo da glicose e dos lipídios. A farinha de konjac (*Amorphophallus konjac* c. koch) por formar soluções aquosas de alta viscosidade, apresenta efeitos fisiológicos compatíveis aos das fibras solúveis. Assim, o objetivo deste estudo foi: a) avaliar um modelo de diabetes não insulino dependente em ratos Wistar recém nascidos, induzido pela administração de streptozotocina (STZ); b) avaliar a indução da hipercolesterolemia nos ratos Wistar com diabetes neonatal induzido por streptozotocina (Dn-STZ), e c) verificar o efeito da farinha de konjac sobre os lípides plasmáticos [colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c)], e hepáticos (CT e TG), assim como comparar o efeito hipocolesterolêmico da fibra konjac com aquele induzido por dois fármacos hipolipemiantes que atuam através de diferentes mecanismos de ação (colestiramina e pravastatina), utilizando, para tanto, ratos Wistar com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida. Para a avaliação da indução do diabetes não insulino dependente os ratos Wistar, machos e fêmeas, após dois dias do nascimento, receberam, por via intraperitoneal, 100 mg/kg pc de STZ em tampão citrato pH 4,5. O grupo controle recebeu volume equivalente de tampão citrato. A confirmação da indução do diabetes foi realizada através da determinação da glicemia de jejum e pós prandial, a qual foi avaliada 45 min após o recebimento de solução de glicose (2,0 g/kg pc) por sonda oro-gástrica, através do método glicose-oxidase. A glicemia em jejum dos animais diabéticos (Dn-STZ) não diferiu ($p \leq 0,05$) do grupo controle, em ambos os sexos. Todavia, a glicemia pós-prandial foi mais elevada no grupo Dn-STZ, diferindo ($p \leq 0,05$) do controle, tanto nos ratos machos quanto nas fêmeas. Assim, o Dn-STZ caracteriza-se como um modelo de diabetes não insulino dependente, podendo, assim, ser utilizado como modelo experimental para a avaliação de patologias nas quais o diabetes mellitus constitui um importante fator de risco a saúde. Para induzir a hipercolesterolemia, os ratos diabéticos Dn-STZ, machos e fêmeas, com 7

semanas de idade, receberam dieta semi-purificada (AIN-93/M), sem e com suplementação de colesterol (2 g%), por 8 semanas. O nível de colesterol plasmático total (CT) foi determinado após jejum de 18 horas, por método enzimático. Verificou-se a ingestão de dieta e ganho de peso durante o período experimental. Os valores de CT foram mais elevados ($p \leq 0,05$) no grupo de animais diabéticos que recebeu dieta com colesterol (DHc) do que nos demais grupos [controle (C), diabéticos (D) e controle com dieta com colesterol (CHc)], tanto para os ratos machos quanto para as fêmeas. Os grupos sem adição de colesterol (C e D) não diferiram entre si ($p \leq 0,05$), em ambos os sexos. Assim, a hipercolesterolemia pode ser induzida em ratos Wistar, com diabetes neonatal, quando alimentados com dieta suplementada com colesterol, possibilitando a utilização destes animais como modelo experimental para estudos de hiperlipidemia associada ao diabetes. Para a verificação do efeito da farinha de konjac sobre os lípides plasmáticos foram utilizados os ratos diabéticos hipercolesterolêmicos, machos e fêmeas, com 15 semanas de idade, os quais foram mantidos em gaiolas metabólicas, com acesso a água e dieta *ad libitum*, recebendo, por 4 semanas, dieta semi-purificada (AIN-93/M) com adição de 5% de gordura de coco e 2 g% de colesterol em substituição ao óleo de milho. Todos os animais diabéticos hipercolesterolêmicos apresentaram redução significativa ($p \leq 0,05$) no nível de CT plasmático como consequência dos diversos tratamentos (konjac 2,5 % e 10,0 %; pravastatina 0,1 % e colestiramina 2,5%), sendo que o grau de redução devido à farinha konjac variou entre 28 % a 35 %. Todos os tratamentos diminuíram ($p \leq 0,05$) os níveis de LDL-c, sendo que os grupos tratados com a farinha de konjac não diferiram entre si ($p \leq 0,05$). Ainda, nos ratos machos os tratamentos não interferiram ($p \leq 0,05$) nos níveis de HDL-c plasmático, enquanto que nas fêmeas, todos os tratamentos reduziram ($p \leq 0,05$) os níveis plasmáticos de HDL-c em relação ao grupo DHc, com exceção do grupo tratado com konjac a 2,5 %, o qual apresentou os maiores níveis ($p \leq 0,05$) dessa fração do colesterol. Em relação aos triglicerídeos plasmáticos, a farinha de konjac apresentou elevada capacidade hipotrigliceridêmica. Quanto ao colesterol e

triglicerídeos hepáticos, com exceção do grupo que recebeu konjac a 2,5 %, todos os tratamentos propiciaram redução ($p \leq 0,05$) tanto dos níveis de CT como de TG em relação ao grupo DHc. Assim, os resultados obtidos indicaram elevado potencial terapêutico para a farinha konjac no controle e tratamento do perfil lipídico em animais diabéticos hiperlipidêmicos consequentes da ingestão de dieta aterogênica.

INTRODUÇÃO GERAL

As doenças cardiocirculatórias são as principais responsáveis pela morbimortalidade no mundo ocidental. Entre elas, tem papel de destaque, pela sua elevada prevalência e gravidade, a doença aterosclerótica coronária (DAC). Indivíduos com taxas de colesterol sérico elevadas, apresentam alto índice de morte por DAC, sendo que a redução do colesterol e, especialmente do LDL-colesterol, reduz tanto a morbidade quanto a taxa de mortalidade.

O diabetes, por alterar fatores tais como colesterolemia, trigliceridemia, função plaquetária, morfologia vascular e concentrações de insulina, pode contribuir para o aumento do risco da doença cardiovascular.

A modificação de hábitos alimentares deve representar a medida inicial para a prevenção das doenças cardiovasculares, principalmente da redução de colesterol dietético. Todavia, o tratamento dietético oferece limitações que o tornam insuficiente, requerendo, em muitos casos, intervenção farmacológica associada e, ainda, mudanças de outros hábitos, tais como um maior controle do tabagismo e redução do sedentarismo.

O aumento na ingestão de fibras alimentares promove efeitos benéficos à saúde do homem. Assim, tem sido verificado que as fibras solúveis apresentam importantes efeitos fisiológicos, diminuindo a velocidade de esvaziamento gástrico e reduzindo a elevação da glicemia pós-prandial e do colesterol sérico, enquanto que as fibras insolúveis, por outro lado, diminuem o tempo de trânsito intestinal, aumentam o volume fecal e reduzem a absorção da glicose.

A farinha de konjac obtida por moagem do tubérculo da planta *Amorphophallus konjac* (c. kock), também conhecido como inhame elefante, contém aproximadamente 60 a 80% de glicomanana, polissacarídeo de alto peso molecular que se caracteriza pela presença de cadeias de D- manose e D- glicose em uma proporção de 1,6:1,0, com ligações β 1-4, e apresenta baixa concentração de proteínas, lipídeos e vitaminas. O konjac sendo uma fibra alimentar solúvel, aumenta o tempo de esvaziamento gástrico e reduz a absorção intestinal da glicose e do colesterol.

Indivíduos diabéticos podem apresentar, ao longo da vida, um quadro de aterosclerose, com níveis plasmáticos elevados de LDL-colesterol e VLDL-colesterol e níveis baixos de HDL-colesterol, como consequência de alterações no metabolismo do colesterol. Assim, para uma melhor avaliação da morfologia específica, assim como de parâmetros bioquímicos e metabólicos, faz-se necessário a realização de estudos de dislipoproteinemia associadas ao diabetes em modelos animais. Embora as respostas metabólicas verificadas nesses animais possam diferir daquelas encontradas no homem, para que possa ocorrer uma extrapolação segura quanto ao uso de compostos químicos, quer seja pela dieta ou por outra via de administração, é de suma importância que modelos animais sejam disponibilizados para atender às características específicas dos estudos experimentais. Sabe-se que coelhos, hamsters e ratos respondem de forma diferente a hipercolesterolemia induzida pela dieta, sendo que os níveis de colesterol total plasmático são mais facilmente alterados em coelhos e hamsters do que em ratos. Entretanto, muitos estudos sugerem que os níveis plasmáticos de colesterol em ratos com diabetes induzido são elevados, quando alimentados com dieta rica em colesterol, e que estão diretamente relacionados com o grau de hiperglicemia. Por outro lado, a indução do diabetes em ratos adultos através da administração de streptozotocina (STZ) ou aloxana, promove o desenvolvimento do diabetes mellitus insulino dependente (DMID), com níveis de glicemia plasmática muito elevados, sendo que os animais apresentam-se mais sensíveis aos efeitos deletérios da doença, impossibilitando estudos de média e longa duração. Por outro lado, diferentemente dos ratos adultos, o diabetes neonatal induzido por streptozotocina (Dn-STZ) caracteriza-se por uma deficiência transitória das células β , com o desenvolvimento do diabetes mellitus não insulino dependente (DMNID), com níveis normais de glicemia plasmática no estado de jejum e elevação moderada dos níveis da glicemia após a ingestão de alimentos. Estes animais apresentam uma maior sobrevida, permitindo o estudo de outras patologias associadas ao diabetes mellitus.

A associação entre o diabetes neonatal e a hipercolesterolemia induzida tem sido pouco explorada, entretanto, tem sido sugerido que os níveis plasmáticos

de colesterol, em ratos com diabetes induzido, são mais elevados do que em ratos não diabéticos, os quais estão diretamente relacionados com o grau de hiperglicemia. Todavia, no que se refere ao efeito hipocolesterolêmico de fibras alimentares em modelo experimental com diabetes neonatal induzido, verifica-se que os dados disponíveis na literatura são praticamente inexistentes. Assim, o presente trabalho objetivou:

1. Avaliar um modelo de diabetes não insulino dependente em ratos Wistar, machos e fêmeas, recém nascidos, com a administração de streptozotocina (STZ);
2. Avaliar a indução da hipercolesterolemia em ratos Wistar, adultos, com diabetes neonatal induzida por streptozotocina (Dn-STZ) e;
3. Verificar o efeito da farinha de konjac sobre os lípides plasmáticos [colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c)], e hepáticos (CT e TG), assim como comparar seu efeito hipocolesterolêmico com aquele induzido por dois fármacos que atuam através de mecanismos diferentes de ação hipolipemiantes (colestiramina e pravastatina), utilizando os ratos Wistar, adultos, com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida.

CAPÍTULO 1

FIBRAS ALIMENTARES E DOENÇA CARDIOVASCULAR

FIBRAS ALIMENTARES E DOENÇA CARDIOVASCULAR

RESUMO

A modificação dos hábitos alimentares deve representar a medida inicial para a prevenção das doenças cardiovasculares. Todavia, em muitos casos, o tratamento dietético, oferece limitações que o tornam insuficiente requerendo intervenção farmacológica associada. Alimentos ricos em fibras apresentam importante efeito no metabolismo lipídico, sendo as fibras solúveis bastante efetivas na redução do colesterol sérico. O efeito hipocolesterolêmico primário dessas fibras é mediado pela redução na absorção intestinal de lípidos, colesterol e de ácidos biliares, com conseqüente aumento da excreção fecal interferindo na biossíntese hepática de colesterol a partir da inibição da hidroximetilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase) através do ácido propiônico formado pela fermentação no cólon. Assim, é importante o conhecimento da relação entre as fibras alimentares e a hipercolesterolemia, no sentido de promover benefícios à saúde do homem.

Palavras chaves: fibra solúvel, hipercolesterolemia, doenças cardiovasculares

ABSTRACT

The changes of dietary habits could represent the initial step to prevent cardiocascular diseases. However, in many cases the dietetic treatment is limited, making it necessary to associate pharmacological treatment. Fiber rich diets bring important effects on the lipid metabolism, being the soluble fibers very effective in the reduction of serum cholesterol. The hypocholesterolemic primary effect of these fibers is mediated by the reduction of lipids, cholesterol and bile acids, the effect on intestinal absorption with consequent increase of fecal excretion. Also, dietary fibers interfere on the cholesterol hepatic biosynthesis by the inhibition of HMG-CoA reductase, through the propionic acid formed by the fermentation on the

gut. So, it is important to know the relationship among dietary fibers and hypercholesterolemia, in order to promote benefits on human health.

Index terms: soluble fiber, hypercholesterolemia, cardiovascular diseases.

INTRODUÇÃO

A doença coronariana é um dos principais problemas de saúde apresentados, principalmente, pelos países industrializados (Zock, 1998). O aumento no risco da doença cardiovascular, correlaciona-se com elevações do colesterol e triglicerídeos séricos (Anderson et al., 1990b; Kramer et al., 1994; Bertolami & Faludi, 1996).

O diabetes pode contribuir para o aumento do risco da ocorrência de doença cardiovascular por induzir a hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, alteração da função plaquetária, alteração na morfologia vascular e redução na concentração plasmática de insulina (Steiner, 1981).

A modificação dos hábitos alimentares é fator essencial para a prevenção das doenças cardiovasculares. O tratamento dietético, todavia, oferece limitações que o tornam insuficiente em muitos casos, requerendo intervenção farmacológica associada (Hegsted & Ausman, 1988; Guimarães, 1992; Santos, 1994).

Dietas ricas em fibras alimentares promovem efeitos benéficos para a saúde do homem, tendo sido verificado que alimentos ricos em fibras solúveis apresentam importante efeito no metabolismo da glicose e de lipídios (Cavalcanti, 1989; Periago et al., 1993; Anderson et al., 1994; Areas & Reyes, 1995).

A relação entre fibra e dislipidemia tem sido relatada como um fator importante sobre os níveis de colesterol, os quais são reduzidos a partir da adição de fibra na dieta (Arvill & Bodin, 1995; Kritchevsky, 1997; Jenkins, et al., 1998). A redução na absorção de ácidos biliares, devido à ligação dos mesmos com a fibra no lúmen intestinal, é um possível mecanismo pelo qual as fibras alimentares reduzem os níveis de lipídios séricos (Kritchevsky & Story, 1986). Ainda, estudos sugerem que o propionato, produzido pela fermentação bacteriana das fibras no

cólon, pode exercer um controle na síntese do colesterol (Hillman et al., 1988; Bergman, 1990).

A farinha de konjac obtida do tubérculo de *Amorphophallus konjac* (c. koch) (com 60-80% de glicomanana), conhecida como konjac manana, é freqüentemente utilizada como ingrediente em produtos alimentares japoneses (Cheng-Yu, et al., 1990; Fujiwara et al., 1991). Atualmente, devido às suas propriedades físico-químicas, vem sendo utilizada em uma gama de produtos alimentícios para melhorar ou potencializar algumas propriedades relacionadas com a textura destes (Fujiwara et al., 1991; Barry & Bigner, 1996; Nishinari et al., 1992; Kohyama & Nishinari, 1997; Yoshimura et al., 1998; Miyoshi et al., 1998; Jantararat, et al. 1998; Chin, et al., 1999; Yoshimura & Nishinari, 1999). Quando hidratada, em temperatura ambiente, a farinha de konjac forma soluções aquosas de alta viscosidade (Tye, 1991; Shelso et al., 1996), apresentando efeitos fisiológicos compatíveis aos das fibras solúveis, destacando-se os efeitos hipoglicêmicos e hipocolesterolêmicos (Kiriyaama et al., 1974; Aoyama et al., 1988; Shimizu et al., 1991; Arvill & Bodin, 1995; Min et al., 1997). O presente artigo tem como objetivo apresentar os principais efeitos das fibras alimentares e em particular o konjac na prevenção e tratamento de determinadas cardiopatias.

DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As doenças cardiocirculatórias são as principais responsáveis pela morbimortalidade no mundo ocidental. Entre elas, a doença aterosclerótica coronária (DAC) tem papel de destaque, pela sua elevada prevalência e gravidade (Guimarães, 1992). Cabe destacar que, na mulher, a doença coronariana começou a se manifestar, aproximadamente, uma década mais tarde do que no homem, estando associada com diabetes e hipertensão e tendo índice de mortalidade, após o infarto do miocárdio, mais elevado do que nos homens (Walter et al., 1995).

Os fatores de risco da doença coronariana diferem na mulher e no homem, em alguns aspectos importantes. Na mulher, os níveis de HDL-colesterol são

elevados e de LDL-colesterol são baixos até a menopausa, porém, esses níveis são mais elevados na pós-menopausa do que no homem (Guimarães, 1992; Walter et al., 1995). Em geral, indivíduos com taxas de colesterol sérico elevadas (maiores do que 250 mg/dL), apresentam alto índice de morte por DAC, sendo que a redução do colesterol e, especialmente do LDL-colesterol, reduz tanto a morbidade quanto a taxa de mortalidade (De França & Korolkovas, 1995). Conseqüentemente, o controle do nível de LDL-colesterol é o principal objetivo da terapêutica hipolipemiante (Anderson et al., 1990b; Kramer et al., 1994; Bertolami & Faludi, 1996). Assim, a modificação de hábitos dietéticos deve representar a medida inicial para a prevenção das doenças cardiovasculares, sendo recomendado a redução na ingestão de gorduras saturadas e aumento das insaturadas, bem como a redução de colesterol dietético. Essas modificações dietéticas são responsáveis por aproximadamente 10 a 20 % da redução da colesterolemia (Santos, 1994), contribuindo com a redução na mortalidade por doença cardiovascular (Guimarães, 1993). Todavia, o tratamento dietético, oferece limitações que o tornam insuficiente em muitos casos, requerendo, portanto, intervenção farmacológica associada (Guimarães, 1992). Ainda, mudanças de hábitos tais como um maior controle do tabagismo e redução do sedentarismo, também contribuem para a redução da doença cardiovascular (Giannini, 1992).

Os níveis séricos elevados de colesterol aumentam a taxa de mortalidade. A relação entre a taxa de mortalidade e níveis séricos de colesterol, levou comitês oficiais americanos, canadenses e europeus a estabelecerem uma faixa de risco moderado entre 200 a 239 mg/dL de colesterol e para risco elevado valores iguais ou superiores a 240mg/dL para os americanos e 250 mg/dL para os europeus. No Brasil, o Grupo de Estudos e Pesquisas em Aterosclerose-GEPA, recomendou a adoção dos valores americanos (Consenso, 1996).

Fatores de risco na doença cardiovascular

A identificação dos fatores de risco através de estudos populacionais, constitui um marco na medicina clínica e na epidemiologia. A hiperlipidemia, hipertensão arterial e tabagismo compõem a linha de frente destes fatores,

secundados pelo diabetes, sedentarismo, obesidade, estresse psicológico e comportamento, sexo masculino e hereditariedade (Guimarães, 1992; Guimarães, 1993.).

O aumento do risco da doença cardiovascular, ocorre com elevações do colesterol sérico, assim como dos triglicerídeos (TG), sendo que os níveis de HDL-colesterol são inversamente relacionados ao risco da doença cardiovascular (DCV). Sua função protetora está relacionada com o transporte do colesterol dos tecidos extra-hepáticos para o fígado. Enquanto que LDL-colesterol tem mostrado ser um grande fator de risco (Aberg et al., 1985) pelo aumento da formação de placas de gordura aórtica sendo assim, precursor de complicações de lesões ateroscleróticas (Durrington et al., 1988; Anderson et al., 1990a).

A dieta é um fator de risco independente sobre os níveis séricos de lipídios. A ingestão de colesterol, tal como a hipertensão e o tabagismo, são relatadas como risco independente no aumento de colesterol sérico, sendo que a ingestão diária de 200 mg de colesterol está associada com 30% do aumento da doença cardiovascular. (Hegsted & Ausman, 1988).

A obesidade também é um dos fatores de risco na doença cardiovascular. Especificamente, a distribuição da gordura corpórea é considerado um importante prognóstico. A obesidade também está associada à hipertensão e intolerância à glicose (Hubert et al., 1983; Anderson et al., 1990b).

O diabetes, por alterar fatores tais como colesterolemia, trigliceridemia, função plaquetária, morfologia vascular e concentrações de insulina, pode contribuir para o aumento do risco da doença cardiovascular (Steiner, 1981).

Mecanismos para o tratamento das dislipidemias

De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (Consenso, 1996), a terapêutica de comprovada eficiência contra cardiopatias decorrentes das dislipidemias é a prevenção.

A terapêutica deve iniciar-se com mudanças no estilo de vida que compreendem hábitos alimentares adequados, busca e manutenção do peso

ideal, atividade física regular, combate ao tabagismo e promoção do equilíbrio emocional. Quando os objetivos propostos não são atingidos, deve ser considerada a introdução de drogas isoladas ou associadas.

Os fármacos utilizados na terapia das DCV incluem os hipocolesterolêmicos, antilipidêmicos, anti-hiperlipoproteinêmicos e reguladores de lipídeos. Podem atuar promovendo redução da síntese de VLDL-c e de LDL-c redução da síntese endógena de colesterol por inibição da hidroximetilglutaril CoA-redutase (HMG-CoA redutase), aumento da excreção de colesterol e de ácidos biliares e interrupção do seu ciclo entero-hepático e inibição da acil-colesteril-acil-transferase (ACAT), enzima responsável pelo depósito de colesterol nas células (De França & Korolkovas, 1995). Entre as substâncias que atuam sobre a redução do nível sanguíneo de colesterol e sua fração LDL-colesterol, encontram-se resinas seqüestrantes de ácidos biliares e antioxidante do LDL-c (Guimarães, 1992).

Excreção de ácidos biliares - A principal via para a eliminação do colesterol no organismo de mamífero, é através da conversão hepática do colesterol em ácidos biliares. Essa regulação representa um importante papel na manutenção da homeostase do colesterol e ácidos biliares. Para a conversão do colesterol em ácidos biliares, a principal via é através da catálise pela enzima colesterol 7 α -hidroxilase microssomal hepática (Myant & Mitropoulos, 1977).

A ação hipocolesterolêmica é aumentada quando soluções viscosas encontram-se no intestino adsorvendo os ácidos biliares e, assim, reduzindo a reabsorção dos mesmos (Aoyama et al., 1988; Moundras, et al., 1995; Smit et al., 1995). A colestiramina, resina sintética de troca aniônica, é um conhecido inibidor da absorção de ácidos biliares, que interfere na circulação entero-hepática de ácidos biliares (Aoyama et al., 1988; Smit et al., 1995).

Inibição da síntese de colesterol- A inibição da síntese de colesterol, pela ação de inibidores específicos da HMG-CoA redutase tais como as estatinas, constitui uma via importante para reduzir o colesterol sérico, bem como os triglicerídeos

promovendo, ainda, um aumento moderado do HDL- colesterol (Bradford et al., 1991; Kramer et al., 1994; De França & Korolkovas, 1995; Vanhanen & Miettinen, 1995; Pau et al., 1995; Hasler-Rapacz et al., 1996).

EFEITO HIPOCOLESTEROLÊMICO DAS FIBRAS ALIMENTARES

O grau de solubilidade das fibras alimentares é uma característica que influencia nas suas propriedades funcionais. As fibras solúveis aumentam o tempo de trânsito intestinal, diminuem a velocidade de esvaziamento gástrico e reduzem a elevação da glicemia pós-prandial e do colesterol sérico. As fibras insolúveis, por outro lado, diminuem o tempo de trânsito intestinal, aumentam o volume fecal e reduzem a absorção da glicose (Cavalcanti, 1989; Anderson et al., 1990a; Hughes, 1991; Periago, et al., 1993; Areas & Reyes, 1995).

As características físico-químicas das fibras alimentares contribuem para a modificação de alguns fatores de risco da doença coronariana. Tem sido verificado que os níveis de colesterol sérico são reduzidos pela adição de fibra solúvel na dieta (Arvill & Bodin, 1995; Kritchevsky, 1997; Jenkins, et al., 1998).

Componentes da dieta como fibras de legumes e outros vegetais apresentam resposta na alteração do metabolismo lipídico, em humanos e animais de experimentação, com redução dos lipídios circulantes e aumento da excreção fecal de ácidos biliares. Estas mesmas fibras reduzem os níveis de glicose pós-prandial, insulina e outros hormônios (Vahouny, 1982; ; Arvill & Bodin, 1995; Kritchevsky, 1997; Jenkins, et al., 1998; Hyun et al, 1998; Feldman, 2001).

Estudos epidemiológicos realizados com 68.782 mulheres, com idade entre 37 e 64 anos e 43.757 homens, com idade entre 40 e 75 anos, com diagnóstico prévio de angina, infarto do miocárdio, câncer, hipercolesterolemia ou diabetes, sugeriram que a ingestão de fibra constitui um fator importante na prevenção da doença coronariana (Rimm et al., 1996; Wolk et al., 1999).

Muitos estudos com animais e humanos procuram comprovar o efeito hipocolesterolêmico das fibras alimentares solúveis de diferentes fontes de

alimentos como por exemplo a fibra de aveia, konjac manana, pectina, quitosana, goma guar, farelo de arroz (Aoyama et al. ;1988; Labell, 1992; Fernandez et al., 1992; Matheson et al., 1994; Winblad, 1995) e ainda, os possíveis mecanismos com que essas fibras reduzem os níveis de colesterol plasmáticos, quer seja pela sua alta viscosidade atuando como adsorvente, captura de ácidos biliares e colesterol, ou, ainda, por interferência com a formação de micelas que é essencial para a absorção do colesterol. Esse efeito é mediado pela interferência com a absorção de ácidos biliares, por adsorção ou seqüestro no lúmen intestinal bem como a depressão na absorção do colesterol no intestino, resultando no aumento da excreção fecal. A redução da reabsorção no intestino e conseqüente aumento na excreção fecal, traduz-se no aumento do desvio do colesterol para a síntese de ácidos biliares no fígado, aumentando a regulação dos receptores de lipoproteínas, ao mesmo tempo em que reduz as concentrações plasmáticas de colesterol (Kritchevsky & Story, 1986; Anderson et al., 1990a; Truswell & Beynen, 1992; Moundras et al., 1994; Kritchevsky, 1997).

Fermentação das fibras e hipercolesterolemia

O grau de fermentação das fibras alimentares depende da solubilidade, estrutura e grau de lignificação das mesmas (Nyman et al., 1989).

Alimentos com teores elevados de fibra solúvel e um baixo grau de lignificação são usualmente mais susceptíveis à degradação bacteriana. Dessa forma, fibras alimentares de farelo e alguns grãos integrais de cereais são bastante resistente à degradação bacteriana (Nyman et al., 1985; Nyman et al., 1986).

No intestino grosso, as fibras podem ser fermentadas por ação de bactérias anaeróbicas, produzindo ácidos graxos de cadeia curta, com predominância dos ácidos propiônico, butírico e acético, assim como dióxido de carbono, hidrogênio e metano. Ainda, o tipo de fibra solúvel utilizada poderá produzir concentrações diferentes de acetato e propionato. Assim, Moundras et al. (1994) verificaram, em ratos, cuja dieta foi adicionada de pectina e goma arábica, que a produção de propionato é baixa e a captura hepática de acetato é relativamente alta com essas

fibras, enquanto que na dieta contendo goma guar e β -ciclodextrina, a produção de propionato é elevada e a captura hepática de acetato é baixa.

Estudos têm sugerido que o propionato, produzido pela fermentação das fibras por bactérias no cólon, pode exercer um controle na síntese do colesterol (Hillman et al., 1988; Bergman, 1990). Possivelmente, o abaixamento do pH pelos ácidos graxos de cadeia curta, produzidos pela fermentação no cólon, diminui a solubilidade e a reabsorção dos ácidos biliares (Rémésy et al., 1993).

Ainda, cabe destacar que o propionato é o principal ácido graxo de cadeia curta metabolizado pelo fígado, sendo, particularmente, um substrato da gliconeogênese, enquanto que uma grande fração de acetato é metabolizada pelos tecidos extra hepáticos. Assim, outro mecanismo para a redução dos níveis séricos de colesterol pode ser explicado através da ação do propionato no fígado, o qual atua diminuindo a síntese de colesterol a partir da inibição da enzima hidroximetilglutaril CoA- redutase (HMG-CoA redutase) (Hillman et al., 1988; Bergman, 1990;). O efeito no metabolismo do colesterol pode ocorrer por ser o propionato um inibidor na síntese de ácidos graxos com conseqüente produção de VLDL pelas células hepáticas. Todavia, qualquer que seja o mecanismo de ação do propionato, sua concentração portal parece não ser um fator determinante para a redução de colesterol, visto que quando da introdução de pectina, que produz na fermentação colônica maior concentração de acetato, mostrou-se também efetiva na redução do colesterol sérico (Moundras et al., 1994).

Efeito da fibra konjac na redução do colesterol

A farinha de konjac é obtida por moagem do tubérculo seco da planta *Amorphophallus konjac* c. kock, também conhecido como inhame elefante, contendo aproximadamente 60 a 80% de glicomanana, polissacarídeo de alto peso molecular, que se caracteriza pela presença de cadeias de D- manose e D- glicose em uma proporção de 1,6:1,0, com ligações β 1-4 (Min et al., 1997). Possui cadeias laterais curtas e grupos acetil dispostos na posição C-6 das moléculas de monossacarídeos. O grau de hidratação é controlado pelo tamanho das partículas,

enquanto que o grau de gelificação é controlado pela presença de grupos acetil (Nishinari, et al.1992). A farinha apresenta baixa concentração de proteínas, lipídeos e vitaminas (Cheng-Yu, 1990; Tye, 1991; Ohya et al., 1994; Min, et al., 1997).

O konjac sendo uma fibra alimentar solúvel, diminui o tempo de esvaziamento gástrico e reduz a absorção intestinal da glicose e do colesterol (Doi, 1982; Cheng-Yu, 1990). A sua degradação pela fermentação bacteriana no cólon produz ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico, sendo que a produção desses ácidos graxos varia de 17 a 48 % da concentração inicial do konjac manana (Matsuura, 1998). Assim, a ação do propionato na síntese hepática de colesterol pode ser considerada como um outro mecanismo para a redução dos níveis séricos de colesterol (Hillman et al., 1988; Bergman, 1990;). A efetividade das fibras solúveis na prevenção da hipercolesterolemia foi descrito por Aoyama et al. (1988) utilizando konjac manana, pectina, quitosana e goma guar em ratos hipercolesterolêmicos.

Quando hidrolisado, a atividade hipocolesterolêmica do konjac manana é perdida, o que indica que esse efeito está relacionado com a estrutura do polímero. Efeito semelhante foi verificado com pectina e carragena (Ide et al., 1991).

A hipercolesterolemia induzida pela dieta com colesterol e ácido cólico, em ratos, foi prevenida pela inclusão de konjac manana (Shimizu et al., 1991), sendo a sua atividade hipocolesterolêmica atribuída a uma combinação de efeitos inibidores quais sejam: diminuição da absorção do colesterol no jejuno e da reabsorção de ácidos biliares no íleo (Kiriyaama et al., 1974).

Shimizu et al (1991), verificaram que a atividade do konjac manana na dieta, reduz a ação do colesterol, observado não somente em hamsters com dieta enriquecida com colesterol, como também naqueles em que a dieta controle possuía baixa concentração de colesterol (menor que 0,02%). Esses resultados indicaram que a inibição na absorção intestinal do colesterol não é o principal mecanismo para o esclarecimento da redução da atividade do colesterol pelo konjac manana, em hamsters. A proporção de ácidos biliares nesses hamsters

com suplementação de konjac manana, tende a diminuir, mas não significativamente, em relação ao controle. Possivelmente, o konjac manana suprime a atividade da 7 α -dihidroxição do ácido cólico por microorganismos intestinais. Ainda, os autores verificaram um aumento na relação dos ácido quenodeoxicólico e cólico na vesícula biliar nos hamsters com dieta suplementada com konjac manana, deste modo, o tratamento reduziu a concentração de ácidos biliares que retornariam ao fígado pela circulação entero-hepática.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças cardiovasculares são importante causa de óbitos em todo o mundo, tanto para homens quanto para mulheres. No Brasil, nos últimos anos, tem sido observado um aumento na participação da mulher na percentagem dos óbitos em decorrência das doenças coronarianas, sendo a hipercolesterolemia um dos principais fatores de risco dessas doenças. Entretanto, indivíduos portadores de níveis elevados de colesterol e doença arterial coronariana (DAC), quando submetidos a tratamento dietético e farmacológico hipolipemiantes, apresentam menor recorrência de eventos coronários.

Cabe destacar que a dieta constitui um importante fator para a redução da hipercolesterolemia, através da redução na ingestão de gorduras saturadas e aumento no consumo de fibra alimentar. As fibras, especialmente as solúveis, apresentam resposta positiva na alteração do metabolismo lipídico, melhorando o perfil lipídico dos indivíduos portadores de doenças cardiovasculares podendo, ainda, ser utilizadas na prevenção dessas alterações metabólicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABERG, H.; LITHELL, H.; SELINUS, I.; HEDSTRAND, H.. Serum triglycerides are a risk factor for myocardial infarction but not for angina pectoris. **Atherosclerosis**, v. 54, n.1, p.89-97, 1985.

ANDERSON, J. W.; SMITH, B. M.; GUSTAFSON, N. J.. Health benefits and practical aspects of high-fiber diets. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 59, s.5, p.1242s-1247s, 1994.

ANDERSON, J.W.; DEAKINS, D.A.; BRIDGES, S.R.. Soluble fiber: hypocholesterlemic effects and proposed mechanisms. In: **Dietary Fiber: Chemistry, Physiology and Health Effects** (KRITCHEVSKY, D.; BONFIELD, C.; ANDERSON, J.W. eds) New York: Plenum Press, p. 339 – 363, 1990a.

ANDERSON, J.W.; DEAKINS, D.A.; FLOORE, T.L.; SMITH, B.M.; WHITIS, S.E.. Dietary fiber and coronary heart disease. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 29, i. 2, p. 95 - 146, 1990b.

AOYAMA, Y.; MATSUMOTO, H.; TSUDA, T.; OHMURA, E.; YOSHIDA, A.. Effect on liver and serum lipids in rats of dietary additions of fibers and choletyramine to a cystine - excess diet. **Agriculture Biological Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 2811 - 2816, 1988.

AREAS, M. A.; REYES, F. G. R.. Fibras alimentares. **International Life Sciences – Seção Regional- Brasil**, v. IV, n. 3, p. 1-2, 1995.

ARVILL, A.; BODIN, L.. Effect of short - term ingestion of konjac glucomannan on serum cholesterol in healthy men. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 61, p. 585 - 589, 1995.

BARRY, B. W.; BIGER, M.E.. Use of carragenn and konjac flour gel in low-fat restructured pork nuggets. **Food Research International**, n.29, v.3-4, p.355-362, 1996.

BERGMAN, E.N.. Energy contribution of volatile fatty acids in the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, p. 567 - 590, 1990.

BERTOLAMI, M.C.; FALUDI, A.A.. Estudos clínicos de doença arterial coronária novas perspectivas com relação à mortalidade pelos ensaios clínicos mais recentes. **Atheros**, v.7, n.2, p. 5 - 10, 1996.

BRADFORD, R.H.; SHEAR, C.L.; CHREMOS, A.N.; DUJOVNE, C.; DOWNTON, M.; FRANKLIN, F.A.; GOULD, A.L.; HESNEY, M.; HIGGINS, J; HURLEY, D.P.; LANGENDORFER, A.; NASH, D.T.; POOL, J.L.; SCHNAPER, H. Expanded clinical evaluation of lovastatin (EXCEL) study results. I: Efficacy in modifying plasma lipoproteins and adverse event profile in 8245 patients with moderate hypercholesterolemia. **Archives of Internal Medicine**, v. 151 p. 43 - 49, 1991.

CAVALCANTI, M.L.F.. Fibras Alimentares. **Revista de Nutrição PUCCAMP**, v. 2, n. 1, p. 88 – 97, 1989.

CHENG-YU H.; MAO-YU Z.; SHU-SHENG P.; JUN-RONG H.; XU W.; HUIJUN J.; FULIN Z.; YUNXIANG B.; JINZHONG L.; YERONG Y.; ZHAOTIAN L.; XIANGXUN Z.; ZANCHENG Z. Effect of konjac food on blood glucose level in patients with diabetes. **Biomedical and Environmental Science**, v.3, p.123-131, 1990.

CHIN, K.B.; KEETON, J.T.; LONGNECKER, M.T.; LAMKEY, J.W.. Utilization of soy protein isolate and konjac blends in a low-fat bologna (model system). **Meat Science**, v.53, n.1, p. 45-57, 1999.

CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DISLIPIDEMIAS. Detecção, Avaliação e Tratamento. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.67, p.1-16, 1996.

CROGHAN, M.. Novelose, almidón resistente: una novedad en el sector de las fibras funcionales. **Alimentária**, v. 261, p. 37-41, 1995.

DE FRANÇA, F.F..A.C.; KOROLKOVAS, A.. Fluvastatina, novo inibidor da HMG - CoA redutase. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 52, n. 8, p.85-89, 1995.

DOI K.; MATSUURA M.; KAWARA A.; UENOYAMA R.; BABA S. Effect of glucomannan (konjac fiber) on glucose and lipid metabolism in non diabetic and diabetic subjects. **Excerpta Medica (Gert. Environ. Interact Diabetes Mellitus)**. v.549, p.306-312, 1982.

DURRINGTON P.N.; ISHOLA, M.; HUNT, L.; ARROL, S.; BHATNAGAR, D.. Apolipoproteins (a), Al an B and parental history in men with early onset ischaemic heart disease. **Lancet**, v. 1, p. 1070-1073, 1988.

FERNANDEZ, M.L.; LIN, E.C.K.; TREJO, A.; McNAMARA, D.J.. Prickly pear (*Opuntia* sp) pectin reverses low-density lipoprotein receptor suppression induced by a hypercholesterolemic diet in guinea pigs. **Journal of Nutrition**, v. 122, p. 2330 - 2340, 1992.

FELDMAN, E.B.. Fruits and vegetables and the risk of stroke. **Nutrition Reviews**, v.59, n.1, p. 24-27, 2001.

FUJIWARA, S.; HIROTA, T.; NAKAZATO, H.; MUZUTANI, T.; MITSUOKA, T.. Effect of konjac mannan on intestinal microbial metabolism in mice bearing human flora and in conventional F344 rats. **Food Chemical Toxicology**, v. 29, n. 9, p. 601 - 606, 1991.

GIANNINI, S.D.. Mudanças de estilo de vida podem reverter a cardiopatia coronariana? **Atheros**, v.3, n.1, p. 5 - 6, 1992.

GUIMARÃES, A.. Fatores de risco da doença cardiovascular. **Atheros**, v. 3, n.2, p. 5, 1992.

GUIMARÃES, A.C.. Hipercolesterolemia e Hipertrigliceridemia - Implicações como Fatores de Risco de Doença Arterial Aterosclerótica. **Revista do Seminário Brasileiro de Nutrição e Doenças Cardiovasculares**, v.sd, p.14, 1993.

HASLER - RAPACZ, J.; KEMPEN, H.J.; PRINCEN, H.M.G.; KUDCHODKAR, B.J.; LACKO, A.; RAPACZ, J.. Effects of simvastatin on plasma lipids and apolipoproteins in familial hypercholesterolemic swine. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v.16,n. 1, p. 137 - 143, 1996.

HEGSTED D.M.; AUSMAN, L. M.. Diet, alcohol, and coronary heart disease. **Journal of Nutrition**, v. 118, p. 1184-1189, 1988.

HILLMAN, R.J.; TOPPING, D.L.; MCINTOSH, G.M.; TRIMBLE, R.P.; STORER, G.B.; TAYLOR, M.N.; CHENG, B.Q.. Hypocholesterolaemic effects of dietary

propionate: studies in whole animals and in perfused rat liver. **Annals of Nutrition & metabolism**, v. 32, p. 97 - 107, 1988.

HUBERT, H.B.; FEINLEIB, M.; McNAMARA, P.; CASTELLI, W.P.. Obesity as an impendent risk factor for cardiovascular disease: a 26 - year follow - up of participants in the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 67, p. 968, 1983.

HUGHES, J. S.. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Technology**, v. 45, n. 9, p. 122, 124-126, 1991.

HYUN, I. O.; SUN, Y. L., A study on nutritional characteristics of common Korean dietary fiber rich foods. **Journal of the Korean Society of Food Science an Nutrition**, v.27, n.2, p.296-304, 1998.

IDE, T.; MORIUHI, H.; NIHIMOTO, K.. Hypolipidemic effects of guar gum and its enzyme hydrolysate in rats fed highly saturated fat diets. **Ann. Nutrition Metabolism**, v. 35, p. 34 - 44, 1991.

JANTARAT, J.; JARUNATEWILAS, E.; NOISUWAN, S.. Reduction of fat in cake and cookie products made with konjac flour. **Food**, v. 28, n.2, p.111-124, 1998.

JENKINS, D.J.A.; KENDALL, C.W.C.; RANSOM, T.P.P., Dietary fiber, the evolution of the human diet and coronary heart disease. **Nutrition Research**, v.18, n.4, p.633-652, 1998.

KIRIYAMA, S.; ENISHI,A.; YURA, K.. Inhibitory effect of konjac mannan on bile acid transport in the averted sacs from rat ileum. **Journal of Nutrition**, v. 104, p. 69 - 78, 1974.

KOHYAMA, K.; NISHINARI, K.. New application of konjac glucomannan as a texture modifier. **JARQ- Japan Agricultural Research Quarterly**, v.31, n.4, p. 301-306, 1997.

KRAMER, W.; WESS, G.; ENHSEN, A.; BOCK, K.; FALK, E.; HOFFMANN, A.; NECKERMANN, G.; GANTZ, D.; SCHULZ, S.; NICKAU, L.; PETZINGER, E.; TURLEY, S.; DIETSCHY, J.M.. Bile acid derived HMG-CoA redutase inhibitors. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1227, p. 137 - 154, 1994.

KRITCHEVSKY, D., Cereal fiber and lipidemia. **Cereal Foods World**, v.42, n.2, p.80-85, 1997.

KRITCHEVSKY, D.; STORY, J.A.. Influence of dietary fiber on cholesterol metabolism in experimental animals. In: **CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition**, CRC Press: SPILLER, G.A. ed., p. 129 - 142, 1986.

LABELL, F.. Oat fiber has high beta-glucans level. **Food Processing**, v.53, n.7, p.86, 86, USA, 1992.

LEVY, R.I.; TROENDLE, A.J.; FATTU, J.M.. A quarter century of drug treatment of dyslipoproteinemia, with a focus on the new HMG - CoA reductase inhibitor fluvastatin. **Circulation**, v.87, suppl.III, p. 45 - 53, 1993.

MATHESON, H.B.; COLÓN, I.S.; STORY, J.A.. Cholesterol 7 α - hydroxylase activity is increased by dietary modification with psyllium hydrocolloid, pectin, cholesterol and cholestyramine in rats. **Biochemical and Molecular Roles of Nutrients**, p. 454 - 458, 1994.

MATSUURA, Y.. Degradation of konjac glucomannan by enzymes in human feces and formation of short-chain fatty acids by intestinal anaerobic bacteria. **Journal of Nutrition Science and Vitaminology**, v.44, n.3, p.423-436, 1998.

MIN, H.Y.; HYU, G.L.; SEUNG, T.L.. Physical properties of the films prepared with glucomannan extracted from *Amorphophallus konjac*. **Korean Journal of Food Science and Technology**, v.29, n.2, p.255-260, 1997.

MIYOSHI-E.; TAKAYA-T.; NISHINARI-K.. Effects of glucose, mannose and konjac glucomannan on the gel-sol transition in gellan gum aqueous solutions by rheology and DSC. **Polymer-Gels-and-Networks**, v.6, n.3-4, p.273-290, 1998.

MOUNDRAS, C.; BEHR, S.R.; DEMIGNÉ, C.; MAZUR, A.; RÉMÉSY, C.. Fermentable polysaccharides that enhance fecal bile acid excretion lower plasma cholesterol and apolipoprotein E - rich HDL in rats. **Nutrient Metabolism**, p. 2179-2188, 1994.

MOUNDRAS, C.; DEMIGNÉ, C.; MAZUR, A.; RÉMÉSY, C.. The cholesterol lowering effect of steroid sequestrants is modulated by large intestine fermentations. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 6, n 3, p. 158 - 162, 1995.

MYANT, N.B.; MITROPOULOS, K.A.. Cholesterol 7 α - hydroxylase. **Journal of Lipid Research**, v.18, p. 135 - 153, 1977.

NISHINARI, K.; WILLIAMS, P.A.; PHILLIPS, G.O. Review of the physico-chemical characteristics and properties of konjac mannan. **Food Hydrocolloids**, v.6, n.2, p.199-222, 1992.

NYMAN, M.; ASP, N-G.; CUMMINGS, J.H.; WIGGINS, H.. Fermentation of dietary fibre in the intestinal tract : comparasion between man and rats. **British Journal of Nutrition**, v. 55, p. 487 - 496, 1986.

NYMAN, M.; ASP, N-G.; PEDERSEN, B.; EGGUM, B.O.. Fermentation of dietary fibre in the intestinal tract of rats - a comparasion of flours with different extraction rates from six cereals. **Journal Cereal Science**, v. 3, p. 207 - 219, 1985.

NYMAN, M.; SCHWEIZER, T.F.; TYRÉN, S.; REIMANN, S.; ASP, N-G.. Fermentation of vegetable fiber in the intestinal tract of rats and effects on fecal bulking and bile acid excretion. **Carbohydrate and Fiber**, p. 459 - 466, 1989.

PAU, E.; LOUGHEED, M.; STEINBRECHER, U.P.. Inhibition of hydroxymethylglutaryl coenzyme A redutase activity does not affect the secretion rate of apolipoproteins B and AI by CaCo-2 cells. **Biochemistry Cell Biology**, v.73, p. 81 - 90, 1995.

PERIAGO, M. J.; ROS, G.; LÓPEZ, G.; MARTINEZ, M. C.; RINCÓN, F.. Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. **Revista Espanhola de Ciência Y Tecnologia de alimentos**, v. 33, n. 3, p. 229-247, 1993.

RÉMÉSY, C.; LEVRAT, M.A.; GAMET, L.; DEMIGNÉ, C.. Cecal fermentations in rats fed oligosaccharides (inulin) are modulated by dietary calcium levels. **American Journal of Physiological**, v.264, p. 855 - 862, 1993.

RIMM, E. B.; ASCHERIO, A.; GIOVANNUCCI, E.; SPIEGELMAN, D.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W. C., Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. **Journal of American Medical Association**, v.275, n.6, p.447-451, 1996.

SANTOS, J.E.. Modificações de lesões coronarianas pela mudança no estilo de vida. **Atheros**, v. 5, n. 3, p.28 - 29, 1994.

SHELSON, G.J.; KOPECKY, R.; THOMAS, W.R.; ROBINSON, F.L.. Rapidly hydratable konjac flour. **United States Patent N. US 5536521 FMC Corp., Philadelphia, PA, USA**, 1996.

SHIMIZU, H.; YAMAUCHI, M.; KURAMOTO, T.; KUBOTA, N.; MATSUDA, M.; HOSHITA, T.. Effects of dietary konjac mannan on serum and liver cholesterol levels and biliary bile acid composition in hamsters. **Journal Pharmacobio - DYN.**, v.14, p. 371 - 375, 1991.

SMIT, J.W.A.; VAN ERPECUM, K. J.; PORTINCASA, P.; RENOOIJ, W.; ERKELENS, D.W.; VAN BERGE - HENEGOUWEN, G.P.. Effects of simvastatin and cholestyramine on bile lipid composition and gall bladder motility in patients with hypercholesterolaemia. **Gut**, v.37, p. 654 - 659, 1995.

STEINER, G.. Diabetes and atherosclerosis : an overview. **Diabetes**, v. 30, suppl. 2, p.1 -7, 1981.

TRUSWELL, A.S.; BEYNEN, A.C.. Dietary fibre and plasma lipids: potential for prevention and treatment of hyperlipidaemias. In: Dietary Fibre - A component of food - Nutritional Function in Health and Disease. (SCHWEIZER, T.F.; EDWARDS, C.A., **ILSI Human Nutrition Reviews**. Series Editor, p.295-332, 1992.

TYE, R.J.. Konjac flour: properties and applications. **Food Technology**, v.45, n.3, p.82, 84, 86, 88, 90, 92, 1991.

VANHANEN, H. T.; MIETTINEN, T.A.. Cholesterol absorption and synthesis during pravastatin, gemfibrozil and their combination. **Atherosclerosis**, v.115, p. 135 - 146, 1995.

VAHOUNY, G. V.. Dietary fiber, lipid metabolism and atherosclerosis. **Federation Proceedings Fed of Am Societies for Experimental Biology USA**, v. 11, n.41, p. 2801-2806, 1982.

WALTER, D.; HIGGINSON, L.; GLADSTONE, P.; BOCCUZZI, S.J.; COOK, T.; LESPÉRANCE, J.. Effects of cholesterol lowering on the progression of coronary atherosclerosis in women. **Circulation**, v.92, n.9, p. 2404 - 2410, 1995.

WINBLAD, I.; JOENSUU, T.; KORPELA, H., Effect of oat bran supplemented diet on hypercholesterolemia. **Scandinavian Journal of Primary Health Care**, v.13, n.2, p. 118-121, 1995.

WOLK, A.; MANSON, J. E.; STAMPFER, M. J.; HU, F. B.; SPEIZER, F. E.; HENNEKENS, C. H.; WILLETT, W. C.. Long-term intake of dietary fiber and decrease risk of coronary heart disease among women. **Journal of the American Medical Association**, v.281, n.21, p.1988-2004, 1999.

YOSHIMURA-M.; NISHINARI-K.. Dynamic viscoelastic study on the gelation of konjac glucomannan with different molecular weights. **Food Hydrocolloids**, v.13, n.3, p.227-233, 1999.

YOSHIMURA-M.; TAKAYA-T.; NISHINARI-K.. Reological studies on mixtures of cornstarch and konjac-glucomannan. **Carbohydrate Polymers**, v.35, n.1/2, p. 71-79, 1998.

ZOCK, P., Dietary fat and coronary heart disease. In: HEALTHY LIFESTYLES Nutrition and physical activity,, **ILSI Europe Concise Monograph Series**, p.12-19, 1998.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA INDUÇÃO DO DIABETES NEONATAL COM STREPTOZOTOCINA EM RATOS WISTAR

AVALIAÇÃO DA INDUÇÃO DE DIABETES NEONATAL COM STREPTOZOTOCINA EM RATOS WISTAR

RESUMO

O propósito do presente trabalho foi avaliar o modelo de diabetes não insulino dependente em ratos Wistar recém nascidos, com a administração de streptozotocina (STZ). Para tanto, ratos Wistar, machos e fêmeas, foram submetidos a indução do diabetes, após dois dias do nascimento, recebendo, por via intraperitoneal, 100 mg/kg pc de streptozotocina (STZ) em tampão citrato pH 4,5. O grupo controle recebeu volume equivalente de tampão citrato. Os animais foram desmamados após 21 dias, passando a receber ração comercial. A confirmação da indução do diabetes neonatal (Dn-STZ) foi verificada na sexta semana de idade dos animais. Para comprovar a indução do diabetes foi avaliada a glicemia em jejum e pós-prandial, a qual foi determinada 45 min após o recebimento de solução de glicose (2,0 g/kg pc) por sonda oro-gástrica. Foi realizado o teste de tolerância à glicose (TTG) nos ratos machos (C,n=9; Dn-STZ, n=8) e fêmeas (C,n=8; Dn-STZ, n=6), em jejum de 18 horas, sendo a glicose plasmática determinada após 30, 60, 90 e 120 minutos da administração da solução de glicose (2,0 g/kg pc), pelo método glicose-oxidase. O índice de mortalidade foi de 4,6 %, ocorrendo morte somente nos animais Dn-STZ (machos e fêmeas). Ao final do experimento, somente os ratos machos apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) no peso corpóreo, sendo maior no grupo controle do que no Dn-STZ. A glicemia em jejum dos animais Dn-STZ não diferiu ($p \leq 0,05$) do grupo controle, em ambos os sexos. Todavia, a glicemia pós-prandial foi mais elevada no grupo Dn-STZ, diferindo ($p \leq 0,05$) do controle, tanto nos ratos machos quanto nas fêmeas. No TTG a glicemia plasmática foi mais elevada no grupo Dn-STZ, com diferença ($p \leq 0,05$) a partir de 30 min, para ambos os sexos. A curva glicêmica foi similar nos grupos Dn-STZ e controle, para ambos os sexos. Assim, a Dn-STZ é um modelo de diabetes não insulino dependente, permitindo que os animais tenham uma elevada sobrevida podendo, conseqüentemente, ser

utilizado como modelo experimental para a avaliação de patologias nas quais o diabetes mellitus constitui um importante fator de risco à saúde.

Palavras chaves: diabetes, diabetes neonatal, ratos diabéticos, streptozotocina.

ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the model of induction of non-insulin dependent diabetes in neonatal Wistar rats, using streptozotocin (STZ). Wistar rats, males and females, two days old received 100 mg/kg bw streptozotocin in 0,1 M citrate buffer, pH 4,5, intraperitoneally. The control group received the equivalent volume of citrate buffer. After 21 days old, the animals were fed with commercial diet. To corroborate the diabetes induction, the fasting and postprandial glycemia were evaluated on the 6 th week of age. The postprandial glycemia was measured 45 min after the animals received 2 g/kg bw of glucose solution by oral (intragastric) tube. The glucose tolerance test (GTT) was applied on the males (C, n=9; Dn-STZ, n=8) and females (C, n=8; Dn-STZ, n=6). After 18 hour of food deprivation, glucose solution (2 g/kg bw) was administered orally, and the plasmatic glucose, measured after 0, 30, 60, 90 and 120 min, by the glucose oxidase method. The mortality rate was 4,6 %, and death were observed in the Dn-STZ groups only (males and females). At the end of the experiment, differences ($p \leq 0,05$) in body weight occurred only in the male rats, which presented lower body weight than the control group. The fasting glycemia was similar in the Dn-STZ and control groups, for both sexes. The postprandial glycemia was significantly higher in the Dn-STZ groups, than in the control group for both, males and females rats. Plasmatic glycemia in the GTT was significantly higher ($p \leq 0,05$) in the Dn-STZ groups, at 30 min, for both sexes. The glycemic curve was equivalent in Dn-STZ groups and controls for both sexes. So, the non-insulin dependent diabetes in neonatal Wistar rats model allow the animals to have

a longer life expectancy, and showed to be an useful experimental model to evaluate diseases in which diabetes mellitus seems to be a health risk factor.

Index terms: diabetes, neonatal diabetes, diabetes rats, and streptozotocin.

INTRODUÇÃO

A relação entre o número de células β no pâncreas e a sua capacidade de regeneração é um fator importante na expressão do diabetes mellitus, sendo que, a redução do número de células β tem importância primária no diabetes insulino dependente (DMID; tipo I). Entretanto, tal fato é pouco esclarecido no diabetes não insulino dependente (DMNID; tipo II) (Bonner-Weir et al., 1981).

Streptozotocina (STZ) é um derivado nitroso da glicosamina, utilizada para induzir o diabetes mellitus em animais de laboratório. É um composto citotóxico para as células β do pâncreas (Roos et al. 1998), produzindo diabetes quando utilizada em ratos adultos, em doses a partir de 25 mg/kg pc. Aumentando-se a dose de STZ, obtém-se um aumento da severidade do diabetes. Em ratos recém nascidos, um período transitório de hiperglicemia é verificado somente por alguns dias (3 a 5 dias), após o que a glicemia, no estado de jejum, retorna aos valores normais. A maioria dos animais sobrevive chegando à fase adulta, com índice de mortalidade inferior a 30%. Assim, diferentemente dos ratos adultos, o diabetes neonatal induzido por streptozotocina (Dn-STZ) caracteriza-se por uma deficiência transitória das células β (Bar-On et al., 1976a; Bonner-Weir et al., 1981; Portha & Picon, 1982; Portha, & Blondel, 1988; Portha et al., 1989; Kodama et al., 1993).

Muitos autores têm utilizado modelos experimentais de diabetes mellitus em ratos adultos, geralmente caracterizando-se como diabetes insulino dependente (DMID), com a indução do diabetes com streptozotocina (STZ), em concentrações que variaram de 25 a 100 mg/kg pc (Bar-On et al., 1976a; Bar-On et al., 1976b; Bhandaru et al., 1982; Holmgren & Brown, 1993; Omoruyi & Adamson, 1994; Garg et al., 1996; McLean et al., 1995; Hashitani & Suzuki, 1996;

Shi et al., 1996; Tong et al., 1996; Tuitoeck et al., 1996; Weber et al., 1996; Liu et al., 1997; Cameron-Smith et al., 1997; Lee et al., 1998). Todavia, os animais com diabetes insulino dependente (DMID) apresentam uma sobrevida baixa, dificultado estudos de médio e longo prazo.

Junod et al., citado por Portha et al. (1989), reportaram a resistência de ratos recém nascidos à STZ. Com 3 a 4 semanas de idade, os valores de glicemia pós-prandial, insulina plasmática e ganho de peso corpóreo não diferiram em relação ao grupo controle. Contudo, com 8 semanas de idade, os animais tratados com STZ apresentaram glicemia pós-prandial mais elevada em resposta ao teste de tolerância à glicose (TTG).

Portha et al. (1989), descreveram um modelo de diabetes neonatal, em ratos Wistar, com indução por STZ no dia de nascimento. Neste modelo, foi mostrado que a hiperglicemia plasmática retorna aos níveis normais após a primeira semana do nascimento, com recuperação da produção de insulina pancreática e da massa de células β . Isto caracteriza um modelo de diabetes, em ratos, não insulino dependente (DMNID), no qual os animais experimentais apresentam uma maior sobrevida.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o modelo de indução de diabetes mellitus não insulino dependente (DMNID), em ratos Wistar recém nascidos, através da administração de streptozotocina.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes

Para a indução do diabetes foi utilizada Streptozotocina (N-[metilnitrosocarbamoil]-D-glicosamina) (Sigma). A glicose plasmática foi determinada pelo método da glicose-oxidase utilizando o analisador de glicose Dia-Screen.

Animais

Ratos Wistar adultos, machos e fêmeas, foram obtidos do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil.

Procriação dos animais

Os animais [machos (n=4) e fêmeas (n=16)] foram mantidos em gaiolas coletivas com acesso, *ad libitum*, a água e ração comercial (Labina, São Paulo). A temperatura do biotério foi mantida a 22 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 horas (iluminação das 6:00 as 18:00 h).

Para a procriação, foi utilizado o método de harém (quatro fêmeas para cada macho), mantidos por 48 horas em gaiolas coletivas. As fêmeas que se encontravam no período gestacional, foram separadas em gaiolas individuais, sendo monitoradas até o nascimento dos filhotes.

Indução do diabetes neonatal

Após 48 h do nascimento, os ratos (n=86) receberam, por injeção intraperitoneal, 100 mg/kg pc de streptozotocina (STZ) em tampão citrato pH 4,5. O grupo controle (n=34) recebeu volume equivalente de tampão citrato (Bonner-Weir et al., 1981; Portha et al., 1989). Todos os animais foram mantidos, em gaiolas coletivas, em amamentação, até completarem 21 dias. Após o desmame, os animais foram separados por sexo (grupos Dn-STZ n= 43 e grupos controle

n=17 para cada sexo) e mantidos em gaiolas coletivas recebendo, *ad libitum*, água e ração comercial para crescimento (Labina, São Paulo) até completarem seis semanas de idade.

Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal do Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil.

Índice de mortalidade após a indução do diabetes neonatal

Os animais foram monitorados diariamente, durante o período de amamentação e até completarem 6 semanas de idade, para que pudessem ser identificados aqueles que apresentassem um quadro clínico de diabetes mais severa, promovendo a morte do animal durante o período experimental.

Avaliação da indução do diabetes neonatal

A confirmação da indução do diabetes neonatal, foi verificada após os animais completarem seis semanas de idade, procedendo-se a avaliação da glicemia em jejum de 18 horas e pós-prandial. A glicemia pós-prandial, foi determinada após 45 min do recebimento de solução de glicose (2,0 g/kg pc) por sonda oro-gástrica (Bonner-Weir et al., 1981). O grupo experimental com diabetes induzido Dn-STZ, foi constituído por ratos machos (n=42) e fêmeas (n=40). O grupo controle foi constituído por 34 ratos (n= 17 para cada sexo).

Teste de tolerância à glicose (TTG)

A distribuição dos animais, machos e fêmeas, com 6 semanas de idade, em grupos experimentais que foram submetidos ao TTG, é apresentada na Tabela 1. A glicemia plasmática foi determinada no estado de jejum de 18 horas e após 30, 60, 90 e 120 min da administração de solução de glicose (2,0g/Kg pc) por sonda oro-gástrica (Bonner-Weir et al., 1981).

Tabela 1- Número (n) e médias do peso (g $\pm$ DP) dos animais utilizados no teste de tolerância à glicose (TTG).

GRUPOS	machos		fêmeas	
	n	peso (g)	n	peso (g)
Controle (C)	9	260,22 $\pm$ 35,86	8	158,75 $\pm$ 19,98
Diabético (Dn-STZ)	8	200,38 $\pm$ 23,05	6	158,00 $\pm$ 13,72

Análise estatística

As médias e os desvios padrão para cada grupo foram calculadas, sendo realizada a comparação entre os grupos por one-way ANOVA. O nível de significância de 5% foi considerado indicativo de diferença entre os grupos. Para efeito dos cálculos foi utilizado o programa estatístico Graph Pad (San Diego, CA) PRISM^R.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do índice de mortalidade

Durante o período experimental (6 semanas), não foram verificadas mortes no grupo controle. Entretanto, no grupo de animais diabéticos (Dn-STZ) verificou-se 01 morte para machos e 03 mortes para as fêmeas. A autópsia dos animais indicou que as mortes ocorreram por consequência do diabetes induzido, a qual se manifestou de forma severa, com redução acentuada de peso. Assim, o índice total de mortalidade foi de 4,6 % o qual se encontra na faixa do índice relatado por Portha et al. (1989), qual seja menor que 30% em ratos Wistar e menor do que o descrito por Portha et al. (1979) em ratos Sherman (30 a 50%).

Avaliação da indução do diabetes

Conforme apresentado na Tabela 2, o peso das fêmeas diabéticas (Dn-STZ), após 6 semanas, não apresentou diferença ($p \leq 0,05$), enquanto que o peso dos ratos machos Dn-STZ foi menor ($p \leq 0,05$), em relação ao grupo controle. Entretanto, apesar dos animais machos apresentarem maior interferência no crescimento pela indução do diabetes neonatal do que as fêmeas, prevaleceu a característica de maior crescimento para os animais machos, tendo sido verificada diferença ($p \leq 0,05$) entre o peso dos animais machos e fêmeas tanto para os grupos controle como diabéticos. Estes resultados diferem daqueles descritos por Portha et al. (1979), que verificaram em ratos Sherman machos com diabetes induzido por streptozotocina, o mesmo crescimento observado no grupo controle, sendo que as fêmeas apresentaram uma redução de 10% do peso corpóreo em relação ao controle. Entretanto, corroboram os resultados de Hemmings & Spafford (2000), que verificaram resistência no desenvolvimento do diabetes induzido por STZ em ratos Fischer fêmeas, assim como com aqueles relatados por Cortright et al. (1996), os quais postularam que ratos machos são mais sensíveis aos efeitos deletérios do diabetes sobre o crescimento, do que as fêmeas.

A glicemia plasmática de jejum nos animais Dn-STZ não diferiu ($p \leq 0,05$) do grupo controle, tanto para machos quanto para fêmeas (Tabela 2). Entretanto, a glicemia pós-prandial foi mais elevada ($p \leq 0,05$) nos grupos Dn-STZ do que nos respectivos controles. A glicemia pós-prandial não diferiu entre os sexos do grupo controle, entretanto, no grupo Dn-STZ, a glicemia foi maior ($p \leq 0,05$) nas fêmeas. Cabe mencionar, que os valores de glicemia plasmática pós-prandial verificados no presente estudo, foram maiores do que os reportados por Portha et al. (1989), que relataram valores de 150 a 180 mg/dL para ratos Wistar Dn-STZ com 8 semanas, bem como por Portha et al (1979) que verificaram valores de 117 mg/dL para fêmeas Sherman, com 10 semanas de idade. Entretanto, foram menores do que os valores descritos por Bonner-Weir et al.(1981) em ratos fêmeas Sprague-

Dawley Dn-STZ, com 6 semanas, nos quais os valores da glicemia pós-prandial foram de 304 mg/dL.

Tabela 2- Valores de peso, glicemia (jejum e pós-prandial) em ratos Wistar, machos e fêmeas, diabéticos (Dn-STZ) e controle

Parâmetros	Controle		Diabéticos (Dn-STZ)	
	machos (n=17)	fêmeas (n=17)	machos (n=42)	fêmeas (n=40)
Peso (g)	245,35 ^{Aa} ± 33,77	153,35 ^{Ba} ± 21,76	192,50 ^{Ab} ± 29,93	143,62 ^{Ba} ± 25,83
Glicemia em jejum (mg/dL)	87,82 ^{Aa} ± 8,14	79,94 ^{Ba} ± 9,74	84,33 ^{Aa} ± 9,85	85,30 ^{Aa} ± 9,64
Glicemia pós-prandial (mg/dL)	137,00 ^{Ab} ± 12,44	135,23 ^{Ab} ± 16,44	223,55 ^{Ba} ± 58,51	255,52 ^{Ba} ± 60,13

As letras "A e B" indicam comparação de médias entre machos e fêmeas controle e Dn-STZ, e as letras "a, b" indicam comparação de médias entre o grupo controle e o Dn-STZ para cada sexo. Médias com mesma letra não são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Teste de tolerância à glicose (TTG)

Na Figura 1, pode ser verificado que, no teste de tolerância à glicose (TTG), os valores de glicemia plasmática em jejum dos animais Dn-STZ não diferiram ($p \leq 0,05$) dos respectivos controles. Todavia, após o recebimento da solução de glicose (2,0 g/kg pc), a glicemia plasmática foi muito mais elevada nos animais Dn-STZ do que nos controles, com diferença ($p \leq 0,05$) a partir dos 30 min. O pico glicêmico nos dois grupos, Dn-STZ e controle, foi verificado aos 60 min. Nos grupos Dn-STZ, após 90 min, os valores de glicemia pós-prandial nos ratos machos foram mais elevados ($p \leq 0,05$) do que nas fêmeas. Conforme verificado na Figura 1, as fêmeas apresentaram menor elevação da glicemia plasmática e retorno mais rápido da glicemia para valores próximos aos níveis do início do

teste, resultado semelhante aquele relatado por Hemmings & Spafford (2000) e Cortright et al. (1996).

Foi verificado que ratos Wistar, machos ou fêmeas, com diabetes neonatal induzido por streptozotocina, após 6 semanas de idade apresentaram valores de glicemia plasmática de jejum semelhantes ao controle. Sendo que a manifestação do diabetes nos ratos tratados foi confirmada pelo elevado nível de glicose plasmática pós-prandial, em relação aos seus respectivos controles. Esta característica de diabetes não insulino dependente (DMNID) permitiu que os animais tivessem uma maior sobrevida, resistindo aos efeitos da doença, sendo assim, um modelo experimental adequado para ser utilizado em estudos de média e longa duração na avaliação de patologias nas quais o diabetes mellitus constitui um importante fator de risco à saúde, sem que ocorra alto índice de mortalidade dos animais no período experimental.

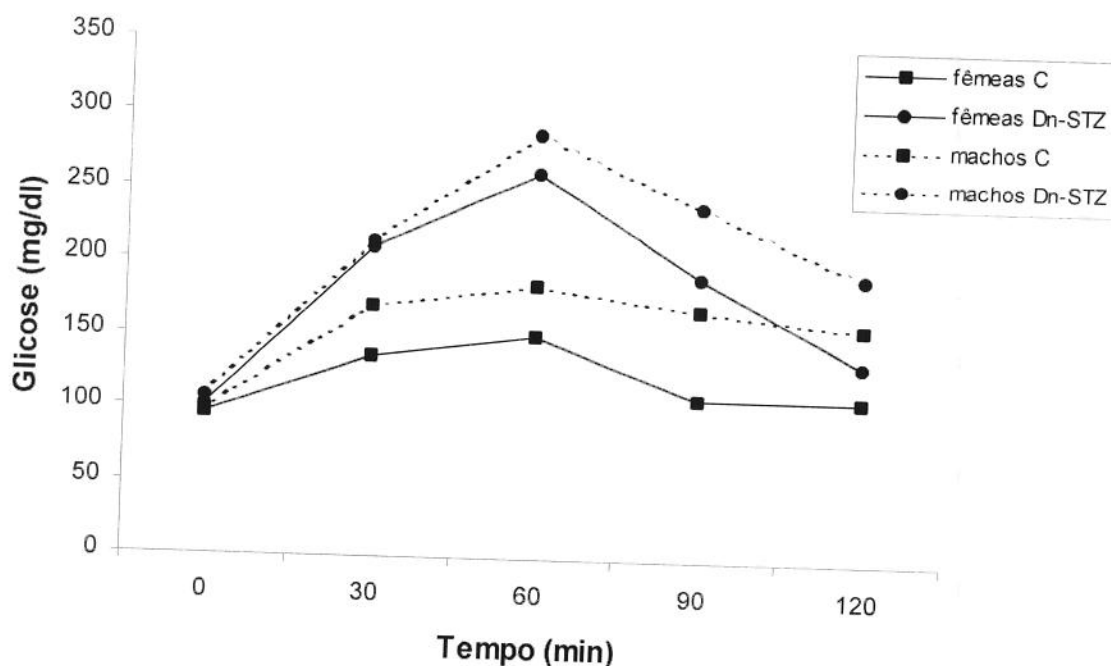


Figura 1- Curva glicêmica obtida no teste de tolerância à glicose (TTG), em ratos machos e fêmeas controle e Dn-STZ.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos permitem concluir que a indução de diabetes neonatal por streptozotocina (Dn-STZ) é um modelo de diabetes não insulino dependente, que permite que aos animais maior sobrevida podendo, assim, ser utilizado como modelo experimental para a avaliação de patologias nas quais o diabetes mellitus constitui um importante fator de risco à saúde.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP e CNPq pelo apoio recebido para a realização do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAR-ON, H.; ROHEIN, P.S.; EDER, H.A., Hyperlipoproteinemia in streptozotocin-treated rats. **Diabetes**, v.25, n.6, p.509-515, 1976(a).
- BAR-ON, H.; ROHEIN, P.S.; EDER, H.A., Serum lipoprotein and apolipoproteins in rats with streptozotocin-induced diabetes, **The Journal of Clinical Investigation**, v.57, p.714-721, 1976(b).
- BHANDARU, R.; SRINIVASAN, S.R.; RADHAKRISHNAMURTHY, B.; BERENSON, G.S., Effects of diabetes and high fat-high cholesterol diet on plasma lipid levels and on erythrocyte membrane composition. **Atherosclerosis**, v.42, n.2, p.263-27, 1982.
- BONNER-WEIR, S.; TRENT, D.F.; HONEY, R.N.; WEIR, G.C., Responses of neonatal rat islet to streptozotocin - Limited B-Cell regeneration and hyperglycemia. **Diabetes**, v.30, p.64-69, 1981.
- CAMERON-SMITH, C.; HABITO, R.; BARNETT, M.; COLLIER, G.R., Dietary guar gum improves insulin sensitivity in streptozotocin-induced diabetic rats. **The Journal of Nutrition**, v.127, n.2, p.359-364, 1997.
- CORTRIGHT, R.N.A.; COLLINS, H.L.A.; CHANDLER, M.P.A.; LEMON, P.W.R.B.; DICARLO, S.E.A., Diabetes reduces growth and body composition more in male than in female rats. **Physiology & Behavior**, v.60, I.5, p.1233-1238, 1996.

- GARG, M.C.; SINGH, K.P.; BANSAL, D.D., Effect of vitamin E supplementation on antioxidant status of diabetic rat., **Medical Science Research**, v.24, n.5, p.325-326, 1996.
- HASHITANI, H.; SUZUKI, H., Altered electrical properties of bladder smooth muscle in streptozotocin-induced diabetic rats., **British Journal of Urology**, v.77, n.6, p.798-804, 1996.
- HEMMINGS, S.J.; SPAFFORD, D., Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors. **International Journal of Biochemistry Cell Biology**, v.32, n. 8, p. 905-919, 2000.
- HOLMGREM, P.R.; BROWN, A.C., Serum cholesterol levels of nondiabetic and streptozotocin-diabetic rats fed a high cholesterol diet. **Artery**, v.20, n.6, p. 337-345, 1993.
- KODAMA, T.; IWASE M.; NUNOI, K.; MAKI, Y.; YOSHINARI, M.; FUJISHIMA, M., A new diabetes model induce by neonatal alloxan treatment in rats. **Diabetes Research Clinical Practice**, v.20, n.3, p.183-189, 1993.
- LEE, K. S.; SEO, J.S.; CHOI, Y.S., Effect of sea tangle and hypoglycemic agent on lipid metabolism in diabetic rats., **Journal of the Korean Society of Food Science an Nutrition**, v.27, n.5, p.712-749, 1998.
- LIU, X.; TAKEDA, N.; DHALLA, N.S., Myosin light-chain phosphorylation in diabetic cardiomyopathy in rats. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.46, n.1, p.71-75, 1997.
- McLEAN, M.P.; BILLHEIMER, J.T.; WARDEN, K.J.; IRBY, R.B., Differential expression of hepatic sterol carrier proteins in the streptozotocin-treated diabetic rat. **Endocrinology**, v.136, n.8, p.3360-3368, 1995.
- OMORUYI, F.; ADAMSON, I., Effect of supplements of dikanut (*Irvingia gabonensis*) and cellulose on plasma lipids and composition of hepatic phospholipids in streptozotocin-induced diabetic rat., **Nutrition Research**, v.14, n.4, p.537-544, 1994.

- PORTHA, B.; BLONDEL, O., Insulin resistance in rats with non-insulin-dependent diabetes induced by neonatal (5 days) streptozotocin: evidence for reversal following phlorizin treatment. **Diabetologia**, v.31, n.7, p.532A, 1988.
- PORTHA, B.; BLONDEL, O.; SERRADAS, P.; Mc EVOY, R.; GIROIX, M.H.; KERGOAT, M.; BAILBE, D., The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. **Diabetes & Metabolisme**, v.15, n. p. 61-75, 1989.
- PORTHA, B.; PICON, L.; ROSSELIN, G., Chemical diabetes in the adult rat as the spontaneous evolution of neonatal diabetes. **Diabetologia**, v.17, n.6, p.371-377, 1979.
- PORTHA, B.; PICON, L., Insulin treatment improves the spontaneous remission of neonatal streptozotocin diabetes in the rat. **Diabetes**, v.31, n.2, p.165-169, 1982.
- ROOS, M.D.; XIE, W.; SU, K.H.; CLARK, J.A.; YANG, X.Y.; CHIN, E. PATERSON, A J.; KUDLOW, J.E.. Streptozotocin, an analog of N-acetylglucosamine, blocks the removal of O-GlcNAc from intracellular proteins. **Proceedings of the Association of American Physicians**, v.110, n.5, p.422-432, 1998.
- SHI, Z.Q.; RASTOGI, K.S.; LEKAS, M.; EFENDIC, S.; DRUCKER, D.J.; VRANIC, M., Glucagon response to hypoglycemia is improved by insuli-independent restoration of normoglycemia in diabetic rats., **Endocrinology**, v.137, n.8, p.3193-3199, 1996.
- TONG, Y.C.; HUNG, Y.C.; LIN, S.N.; CHENG, J.T., Dark-cycle video surveillance of sexual performances of normal and diabetic rats., **Urologia Internationalis**, v.56, n.4, p.207-210, 1996.
- TUITOEK, P.J.; ZIARI, S.; TSIN, A.T.C.; RAJOTTE, R.V.; SUH,M.; BASU, T.K., Streptozotocin-induced diabetes in rats is associated with impaired metabolic availability of vitamin A (retinol), **British Journal of Nutrition**, v.75, n.4 p. 615-622, 1996.
- WEBER, L.P.; CHOW, W.L.; ABEBE, W.; McLEOD, K.M., Enhanced contractile responses of arteries from streptozotocin diabetic rats to sodium fluoride. **British Journal of Pharmacology**, v.118, n.1, p.115-122, 1996.

CAPÍTULO 3

INDUÇÃO DE HIPERCOLESTEROLEMIA EM RATOS WISTAR COM DIABETES NEONATAL

INDUÇÃO DE HIPERCOLESTEROLEMIA EM RATOS WISTAR COM DIABETES NEONATAL

RESUMO

O objetivo deste estudo foi o de avaliar a indução da hipercolesterolemia em ratos Wistar com diabetes neonatal induzido por streptozotocina (STZ). Para tanto, ratos, machos e fêmeas com 7 semanas de idade, diabéticos e não diabéticos, foram submetidos à indução de hipercolesterolemia através da ingestão de dieta semi-purificada (AIN-93/M), sem e com suplementação de colesterol (2 %) durante 8 semanas. Os níveis de colesterol plasmático total (CT) foram determinados após jejum de 18 horas, por método enzimático. Determinou-se a ingestão de dieta e ganho de peso durante o período experimental. A ingestão de dieta pelos animais dos grupos controle [controle sem colesterol (C) e controle hipercolesterolêmico (CHc)] foi menor ($p \leq 0,05$) do que nos diabéticos [diabético sem colesterol (D) e diabético hipercolesterolêmico (DHc)]. Quando os animais do mesmo sexo foram comparados entre os diversos grupos, todos apresentaram ganho de peso semelhante, com exceção dos animais machos do grupo C, os quais apresentaram maior ganho de peso ($p \leq 0,05$). Os valores de CT foram mais elevados ($p \leq 0,05$) no grupo DHc do que nos demais grupos (C, D e CHc), tanto para os ratos machos quanto para as fêmeas. Os grupos de animais diabéticos e não diabéticos (C e D), que receberam dieta sem adição de colesterol, não diferiam entre si ($p \leq 0,05$) nos níveis de CT, para ambos os sexos. Assim, a hipercolesterolemia pode ser induzida em ratos Wistar, com diabetes neonatal, quando alimentados com dieta suplementada com colesterol, possibilitando a utilização destes animais como modelo experimental para estudos de hiperlipidemia associada ao diabetes.

Palavras chaves: colesterolemia, hiperlipidemia, diabetes neonatal, ratos diabéticos.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the induction of hypercholesterolemia on Wistar rats with neonatal diabetes induced by streptozotocin (STZ). For this purpose, male and female rats, 7 weeks old, diabetics and non-diabetics were given semi-purified diet (AIN-93/M), with and without cholesterol supplementation (2 %) for 8 weeks. The plasmatic total cholesterol level (TC) was measured by enzymatic method, after 18 hours of fasting. The diet intake and weight gain were verified during the experimental period. The diet intake of the control group animals [control without cholesterol (C) and hypercholesterolemic control (CHc)] was smaller ($p \leq 0,05$) than the diabetic groups [diabetic without cholesterol (D) and diabetic hypercholesterolemic (DHc)]. When comparing animals of the same sex, it was verified that all the groups showed similar weight gain, with the exception of the male animals of the group C that showed higher weight gain ($p \leq 0,05$). The TC plasmatic level was higher ($p \leq 0,05$) in the DHc group than on the others (C, D and CHc), for both males and females animals. The groups of diabetic and non diabetic animals (C and D), with no cholesterol supplementation, did not show difference ($p \leq 0,05$) between them in relation to TC, for both sexes. In summary, hypercholesterolemia can be induced on Wistar rats with neonatal diabetes, when fed a diet supplemented with cholesterol, making it possible to use these animals as an experimental model to study hypercholesterolemia associated to diabetes.

Index terms: cholesterolemia, hypercholesterolemia, neonatal diabetes, diabetic rats.

INTRODUÇÃO

Tem sido relatado que o diabetes mellitus aumenta o risco da doença vascular apresentando, em geral, elevada relação com a hiperlipidemia, hipertensão e aumento da aderência de plaquetas no endotélio vascular (Holmgren & Brown, 1993).

A hiperlipidemia é uma característica importante em pacientes com diabetes não insulino dependente (DMNID) (Durlach et al., 1996). Embora o diabetes esteja associado a um estado anormal do metabolismo de carboidratos, alterações no metabolismo de lipoproteínas são características apresentadas na síndrome diabética (Mathé, 1995). Ainda, nos indivíduos com diabetes insulino dependente (DMID), com glicemia não controlada, os valores de colesterol estão aumentados (Feingold, 1989).

A maioria das manifestações da doença cardiovascular, da coronariana, do infarto e das doenças vasculares periféricas são mais comuns em pacientes com diabetes mellitus não insulino dependente (DMNID) do que nos não diabéticos. Assim, o diabetes contribui para o aumento da morbidade e mortalidade por essas doenças (Reaven & Greenfield, 1981; Howard, 1987; Feingold, 1989; Guimarães, 1992; Mathé, 1995, Laakso, 1999;). Ainda, os fatores de risco convencionais, em particular a dislipidemia (níveis elevados de LDL, TG e níveis baixos de HDL), bem como a hiperglicemia contribuem, também, para as complicações cardiovasculares nos pacientes com DMNID (Feingold, 1989; Semenkovich & Heinecke, 1997).

Indivíduos diabéticos têm mostrado, ao longo da vida, aumento da aterosclerose decorrente dos níveis plasmáticos muito elevados de LDL-colesterol e VLDL e níveis baixos de HDL-colesterol, o que indica que o diabetes altera o metabolismo do colesterol (Bar-On et al., 1976a; Bar-On et al., 1976b; Steiner, 1981; Young et al., 1988; Feingold, 1989; Holmgren & Brown, 1993; McLean et al., 1995; Mathé, 1995). Assim, para a realização de estudos de dislipoproteinemia associadas ao diabetes são necessários modelos animais que facilitem a avaliação da morfologia específica, assim como de parâmetros

bioquímicos e metabólicos não acessíveis em humanos (Mathé, 1995). Ratos e coelhos respondem de forma diferente a hipercolesterolemia induzida pela dieta. Os níveis de colesterol plasmático em coelhos são mais facilmente alterados do que em ratos (Xu et al., 1995). Tem sido sugerido que os níveis plasmáticos de colesterol em animais com diabetes induzido são elevados, e que estão diretamente relacionados com o grau de hiperglicemia (McLean et al., 1995; Feingold, 1989; Walter et al., 1995; Semenkovich & Heinecke, 1997; Laakso, 1999).

Bar-On et al., (1976 a) descreveram um modelo experimental para induzir a hiperlipidemia em ratos Sprague-Dawley, machos, adultos. Neste modelo, os animais foram capazes de desenvolver considerável hiperlipidemia quando mantidos em dieta com elevada concentração de sacarose. Por outro lado, a hiperfagia apresentada pelos ratos diabéticos tem sido associada com a hipercolesterolemia, devido ao aumento da ingestão e da absorção do colesterol ingerido (Young, et al., 1988; Feingold, 1989; Holmgren & Brown, 1993; McLean et al., 1995; Mathé, 1995). Em geral, ratos adultos com diabetes induzido por streptozotocina (STZ), um modelo animal para o estudo do diabetes insulino dependente, apresentam elevação nos níveis de triglicerídeos plasmáticos e de LDL e redução de HDL (Arbeeny et al., 1980; McLean et al., 1995).

Assim, o objetivo deste estudo foi o de avaliar um modelo de indução da hipercolesterolemia em ratos Wistar, machos e fêmeas, a partir de animais com diabetes neonatal induzido por streptozotocina.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais e Dieta

Ratos Wistar, machos e fêmeas, com sete semanas de idade, com diabetes neonatal induzido por streptozotocina (STZ) após 2 dias do nascimento, foram procriados a partir de matrizes do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, conforme descrito por Gregorio et al. (2001).

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas com acesso, *ad libitum*, a água e dieta semi-purificada, preparada conforme AIN-93/M (Reeves et al., 1993), sendo que, em todas as dietas 5 % do óleo de milho foi substituído por gordura de coco. A dieta hipercolesterolêmica foi preparada com o acréscimo de 2 % de colesterol p.a. em substituição ao óleo de milho (VETEC art. 967) (Holmgren & Brown, 1993; Bertolotti et al., 1995; Kamata et al., 1996; Ness et al., 1996). Os animais foram mantidos nas respectivas dietas por 8 semanas. A temperatura do biotério foi mantida a 22 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 horas (iluminação das 6:00 às 18:00h). Os grupos experimentais são apresentados na Tabela 1.

Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal do Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil.

Avaliação da glicemia de jejum e pós-pandrial

A glicemia plasmática foi determinada pelo método da glicose-oxidase utilizando-se o analisador de glicose Dia-Screen, no estado de jejum de 18 horas e após 45 min do recebimento de solução de glicose (2,0 g/kg pc) por sonda orogástrica (Bonner-Weir et al., 1981).

Avaliação da ingestão de dieta e ganho de peso

O consumo de alimentos foi medido diariamente, procedendo-se o cálculo da média de consumo da dieta em função dos animais encontrarem-se em gaiolas coletivas. Para a avaliação de peso, procedeu-se a pesagem dos animais, semanalmente, durante o período experimental.

Avaliação da Indução da Hipercolesterolemia

Os valores de colesterol plasmático total foram determinados ao final do período experimental. Para tanto, após jejum de 18 horas, procedeu-se a coleta de sangue, pela cauda dos animais, em tubos heparinizados. O sangue foi imediatamente centrifugado (2000 x g; 5 min) para separação do plasma e determinação do colesterol total por método enzimático (Boehringer Mannheim, art. 1 497 448).

Análise Estatística

As médias e o desvio padrão para cada grupo foram calculados, sendo realizada a comparação entre os grupos por one-way ANOVA. O nível de significância de 5 % foi considerado indicativo de diferença entre os grupos. Para efeito de cálculos foram utilizados os programas estatísticos Microcal Origin (versão 3,5, 1994) e Grafic Pad (San Diego, CA) PRISM^R (1996).

Tabela 1- Distribuição dos animais (machos e fêmeas) nos grupos experimentais, assim como peso (g) e glicemia (mg/dL) de jejum e pós-prandial, no início do experimento.

Grupos	Machos				Fêmeas			
	n	Peso (g)	Glicemia (mg/dL)		n	Peso (g)	Glicemia (mg/dL)	
			jejum	pós - prandial			jejum	pós - prandial
Controle (C)	9	260,22 ± 35,86	89,11 ^a ± 7,39	139,44 ^b ± 14,01	8	158,75 ± 19,98	83,37 ^a ± 9,56	137,00 ^b ± 22,37
Controle hipercolesterolemico (CHc)	8	228,62 ± 23,07	86,37 ^a ± 9,19	134,25 ^b ± 10,63	9	148,55 ± 23,29	76,89 ^a ± 9,36	133,67 ^b ± 9,86
Diabético (D)	8	202,62 ± 20,13	88,00 ^a ± 10,21	259,75 ^a ± 67,62	6	158,00 ± 13,72	80,83 ^a ± 7,57	230,50 ^a ± 27,45
Diabético hipercolesterolemico (DHc)	34	190,65 ± 31,33	83,68 ^a ± 8,98	215,03 ^a ± 53,76	34	141,09 ± 26,75	82,53 ^a ± 8,60	259,94 ^a ± 63,44

As letras "a e b" indicam comparação de médias entre os grupos para cada sexo e para cada parâmetro. Médias com a mesma letra não são diferentes entre si ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, cabe mencionar que, até o presente, a indução de hipercolesterolemia em ratos com diabetes induzido por streptozotocina tem sido descrita somente para animais adultos. Assim sendo, os resultados do presente estudo, quanto a indução da hipercolesterolemia em ratos Wistar com diabetes neonatal, serão comparados com aqueles descritos na literatura para ratos adultos.

Avaliação da glicemia de jejum e pós-prandial

A glicemia plasmática de jejum nos animais diabéticos não diferiu ($p \leq 0,05$) do grupo controle, tanto para machos quanto para fêmeas (Tabela 1). Entretanto, a glicemia pós-prandial foi mais elevada ($p \leq 0,05$) nos grupos diabéticos do que os seus respectivos controles, conforme descrito por Gregorio et al. (2001), os animais, nesta fase experimental, mantiveram as mesmas características do diabetes neonatal.

Avaliação da ingestão de dieta e ganho de peso

No presente estudo a ingestão de dieta pelos animais diabéticos machos e fêmeas (Grupos D e DHc) foi maior ($p \leq 0,05$) do que nos respectivos controles (Grupos C e CHc). Entretanto, não foi verificada diferença ($p \leq 0,05$) na ingestão de alimentos entre os grupos de animais diabéticos (Grupos D e DHc), assim como entre os animais dos grupos controle (Grupos C e CHc) (Figura 1). Ainda, apesar dos ratos machos terem ingerido maior quantidade de dieta do que as fêmeas, essa diferença não foi significativa ($p \leq 0,05$).

Estes resultados reforçam a hipótese de que a hiperfagia associada ao diabetes seja um dos fatores importantes para o aumento da absorção do colesterol, da síntese e da secreção de colesterol endógeno no intestino. Certamente, o aumento na ingestão de dieta promove o aumento de colesterol exógeno disponível para absorção (Young et al., 1988; McLean et al., 1995; Mathé, 1995; Feingold, 1989).

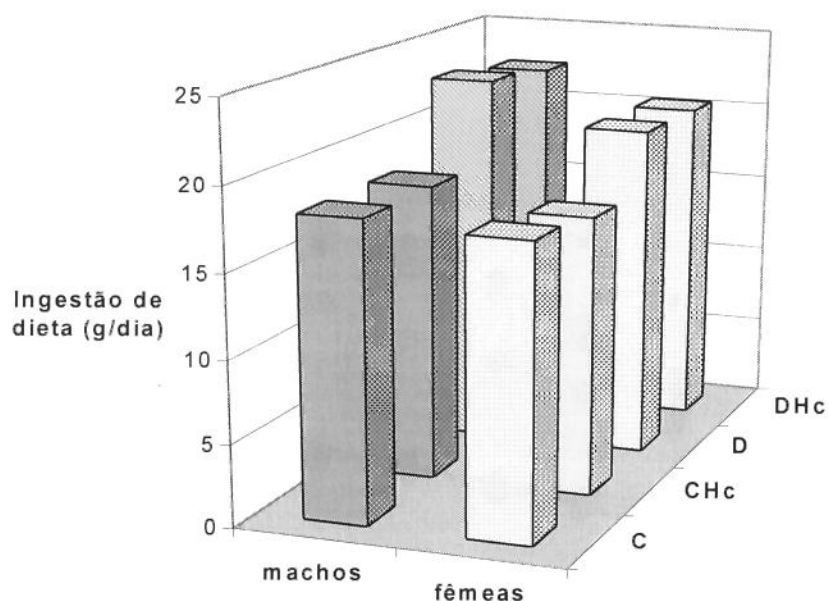


Figura1 - Valores médios de ingestão de dieta (g/dia) por ratos machos e fêmeas nos grupos experimentais (C-controle; CHc-controle hipercolesterolêmico; D-diabético; DHc-diabético hipercolesterolêmico)

Conforme apresentado na Figura 2, o ganho de peso das fêmeas não diferiu ($p \leq 0,05$) entre os grupos controle e diabéticos, durante as 8 semanas em que foram alimentados com dieta com ou sem suplementação de colesterol. Nos ratos machos, apesar de ter sido verificado um maior ganho de peso no grupo controle (MC), essa diferença ($p \leq 0,05$) dos demais grupos foi observada durante todo o período experimental, qual seja desde o início do ensaio, sendo que a tendência de ganho de peso foi similar à dos demais grupos. Os animais dos grupos machos diabéticos que receberam colesterol (MCHc e MDHc) não diferiram ($p \leq 0,05$) entre si durante todo o período experimental. Entretanto, a partir da 6ª semana, o ganho de peso desses grupos diferiu ($p \leq 0,05$) do grupo de animais diabéticos que não receberam colesterol (MD).

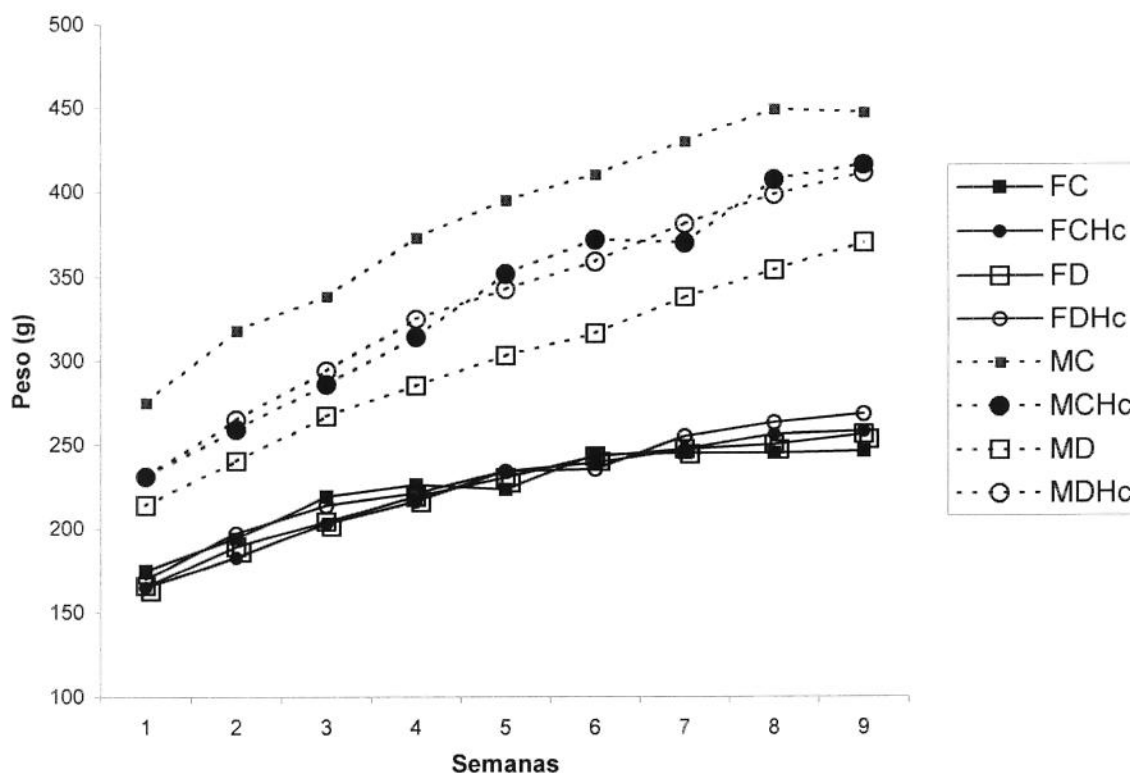


Figura 2- Evolução do peso corpóreo (g) dos animais controle e diabéticos (ambos os sexos) na Indução da hipercolesterolemia (M:machos; F:fêmeas; C-controle; CHc-controle hipercolesterolêmico; D-diabético; DHc-diabético hipercolesterolêmico)

Holmgren & Brown (1993) verificaram em ratos Sprague-Dawley machos adultos, não diabéticos e com diabetes induzido por STZ, que receberam dieta com ou sem adição de 2 % de colesterol por um período de 8 semanas, que o ganho de peso dos animais diabéticos foi menor do que nos não diabéticos, resultados esses semelhantes àqueles verificados no presente estudo unicamente para os ratos machos que não receberam dieta suplementada com colesterol (grupos MC e MD), visto que os animais diabéticos e não diabéticos que receberam dieta suplementada com colesterol (MCHc e MDHc) não diferiram entre si ($p \leq 0,05$) (Figura 2).

Indução da Hipercolesterolemia

Os níveis de colesterol plasmático total são apresentados na Tabela 2. Em geral, os animais que receberam dieta suplementada com colesterol (CHc e DHc) apresentaram níveis de colesterol mais elevados ($p \leq 0,05$) do que aqueles que receberam dieta sem colesterol (C e D). Os animais não diabéticos e diabéticos que receberam dieta sem colesterol (grupos C e D, respectivamente) não diferiram entre si ($p \leq 0,05$). Entretanto, os animais não diabéticos e diabéticos que receberam dieta adicionada de colesterol (CHc e DHc, respectivamente) apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) entre si, sendo que os animais do grupo DHc foram aqueles que apresentaram os maiores níveis de colesterol plasmático, seguidos do grupo CHc. Os valores de CT plasmático foram mais elevados nas fêmeas em relação aos machos, tendo sido verificada diferença ($p \leq 0,05$) entre os sexos nos grupos C e DHc.

Resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo têm sido relatados por diversos autores (Bar-On et al., 1976a; McLean et al., 1995; Holmgren & Brown, 1993) utilizando, como modelo experimental para indução da hiperlipidemia, ratos Sprague-Dawley adultos, com diabetes induzido por streptozotocina (STZ). Esses autores reportaram que os níveis de colesterol plasmáticos nos animais diabéticos, com dieta hipercolesterolêmica foram mais elevados em relação ao controle. Por outro lado, nos estudos de Heyde (1991) com ratos Wistar fêmeas não diabéticas, adultas jovens, com dieta hipercolesterolêmica à base de ovo desidratado, os valores de colesterol total relatados foram mais elevados (132,0 mg/dL) do que os verificados neste estudo para o grupo CHc, enquanto que para o grupo controle (C) os valores foram similares.

Tabela 2 - Valores de colesterol total (mg/dL) em ratos Wistar, machos e fêmeas, não diabéticos (C) e diabéticos (D), alimentados com dieta adicionada (Hc) ou não de colesterol (2 %).

Grupos de Tratamentos	Colesterol total (mg/dL)	
	machos	Fêmeas
Controle (C)	64,45 ^{cdB} ± 5,61	76,93 ^{cdA} ± 5,33
Controle (CHc)	81,37 ^{bAB} ± 5,73	89,03 ^{bAB} ± 11,84
Diabético (D)	65,71 ^{cdAB} ± 6,03	70,12 ^{cdAB} ± 7,60
Diabético (DHc)	141,20 ^{aB} ± 23,89	188,97 ^{aA} ± 47,61

Letras a,b,c e d indicam comparação de médias entre os grupos controles (C e CHc) e os diabéticos (D e DHc) para cada sexo e as A e B indicam comparação de médias entre os sexos para cada grupo. Médias com a mesma letra não diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Cabe mencionar que Arbeeny et al. (1980), Nakai et al. (1985) e Bhandaru et al. (1982), relataram níveis de CT plasmático extremamente elevados (acima de 1000 mg/dL), em ratos diabéticos, adultos, discordando dos valores verificados neste estudo, possivelmente, esta diferença pode estar relacionada com o modelo de diabetes utilizado.

Finalmente, cabe destacar que o diabetes induzido em ratos adultos é manifestado como diabetes mellitus insulino dependente (DMID), cujos valores de glicemia são, geralmente, extremamente elevados, tornando os animais mais susceptíveis às manifestações clínicas da doença, com alterações fisiológicas, que interferem no ganho de peso e na manutenção da estabilidade glicêmica, reduzindo sobremaneira a sobrevivência durante o período experimental. Entretanto, quando o diabetes neonatal é induzido, conforme realizado nos animais utilizados no presente estudo, os ratos apresentaram características clínicas do diabetes mellitus não insulino dependente (DMNID), com valores glicêmicos mais baixos (Gregorio et al., 2001) e com alterações clínicas menos acentuadas, o que permite

uma maior sobrevivência para os animais. Conforme verificado (Tabela 2), este modelo animal mostrou-se adequado para a indução da hipercolesterolemia, apresentando-se apropriado para ser utilizado em estudos de média e longa duração proporcionando, assim, a possibilidade da realização de experimentações relacionadas com tratamentos dietéticos ou farmacológicos associadas às desordens lipídicas.

CONCLUSÕES

O diabetes neonatal induzido em ratos com STZ, permitiu que os animais desenvolvessem hipercolesterolemia quando alimentados com dieta suplementada com colesterol. Tal fato proporcionou níveis de colesterol sérico total muito mais elevados nos animais diabéticos do que nos não diabéticos que recebem a mesma dieta. A hiperfagia verificada nos animais diabéticos contribuiu para o aumento na ingestão do colesterol dietético. Esta ingestão, provavelmente, proporcionou o aumento significativo dos valores de colesterol plasmático total dos ratos, quando comparados com os animais não diabéticos que também ingeriram colesterol.

Assim, ratos Wistar com diabetes neonatal induzido por STZ e com hipercolesterolemia induzida pela dieta, podem ser utilizados como modelo experimental para estudos de hiperlipidemias associadas ao diabetes mellitus.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, CNPq, Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos / Departamento de Nutrição Humana e Refinações de Milho Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARBEENY, C.M.; EDELSTEIN, D.; FREEDMAN, S.R.; EDER, H.A., Serum lipoproteins of diabetic rats fed a high cholesterol diet. **Diabetes**, v.29, p.774-777, 1980.
- BAR-ON, H.; ROHEIN, P.S.; EDER, H.A, Hyperlipoproteinemia in streptozotocin-treated rats. **Diabetes**, v.25, n.6, p.509-515, 1976 (a).
- BAR-ON, H.; ROHEIN, P.S.; EDER, H.A, Serum lipoprotein and apolipoproteins in rats with streptozotocin-induced diabetes, **The Journal of Clinical Investigation**, v.57, p.714-721, 1976 (b).
- BERTOLOTI, M.; SPADY, D.K.; DIETSCHY, J.M.. Regulation of hepatic cholesterol metabolism in the rat in vivo: effect of a synthetic fat-free diet on sterol synthesis and low-density lipoprotein transport. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1255, n.3, p.293-300, 1995.
- BHANDARU, R.; SRINIVASAN, S.R.; RADHAKRISHNAMURTHY, B.; BERENSON, G.S., Effects of diabetes and high fat-high cholesterol diet on plasma lipid levels and on erythrocyte membrane composition. **Atherosclerosis**, v.42, n.2, p.263-27, 1982.
- BONNER-WEIR, S.; TRENT, D.F.; HONEY, R.N.; WEIR, G.C., Responses of neonatal rat islet to streptozotocin – Limited B-Cell regeneration and hyperglycemia. **Diabetes**, v.30, p.64-69, 1981.
- DURLACH, V.; GILLERY, P.; BERTIN, E.; TAUPIN, J.M.; GRULET, H.; GROSS, A.; LEUTENEGGER, M., Serum lipoprotein(a) concentrations in a population of 819 non-insulin-dependent diabetic patients. **Diabetes & Metabolisme**, v.22, n.5, p.319-323, 1996.
- FEINGOLD, K. R., Importance of small intestine in diabetic hypercholesterolemia. **Diabetes**, v.38, n.2, p.141-145, 1989.

- GREGORIO, S.R.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R.. Avaliação da indução de diabetes neonatal com streptozotocina em ratos Wistar. 2001 (Artigo a ser submetido para publicação)
- GUIMARÃES, A.. Fatores de risco da doença cardiovascular. **Atheros**, v. 3, n.2, p. 5, 1992.
- HEYDE, R.V.D., **Relação entre fibras alimentares, lipídios sangüíneos e excreção fecal de ácidos biliares. Um estudo experimental em ratos.** Londrina (PR), 1991. 69p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) Centro de ciências Agrárias - Universidade Estadual de Londrina.
- HOLMGREM, P.R.; BROWN, A.C., Serum cholesterol levels of nondiabetic and streptozotocin-diabetic rats fed a high cholesterol diet. **Artery**, v.20, n.6, p. 337-345, 1993.
- HOWARD, B.V., Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. **Journal of Lipid Research**, v.28, n.6, p.613-628, 1987.
- KAMATA, K.; SUGIURA, M.; KOJIMA, S.; KASUYA, Y.. Restoration of endothelium-dependent relaxation in both hypercholesterolemia and diabetes by chronic taurine. **European Journal of Pharmacology**, v.303, n.1/2, p.47-53, 1996.
- LAAKSO, M., Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. **Diabetes**, v.48, n.5, p. 937-942, 1999.
- MATHÉ, D., Dyslipidemia and diabetes: animal models. **Diabetes & Metabolisme**, v.21, n. 2, p.106-111, 1995.
- McLEAN, M.P.; BILLHEIMER, J.T.; WARDEN, K.J.; IRBY, R.B., Differential expression of hepatic sterol carrier proteins in the streptozotocin-treated diabetic rat. **Endocrinology**, v.136, n.8, p.3360-3368, 1995.
- NAKAI, T.; OIDA, K.; KUTSUMI, Y.; HAYASHI, T.; MIYABA, S.; TAKEDA, R.; YAMADA, N.; MURASE, T., Effects of insulin on hipercholesterolemia in the

streptozotocin-induced diabetic rats fed a high cholesterol diet. **Arteriosclerosis**, v.13, n.2, p.61-76, 1985.

NESS, G.C.; ZHAO, Z.; LOPEZ, D.. Inhibitors of cholesterol biosynthesis increase hepatic low-density lipoprotein receptor protein degradation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.325, n.2, p.242-248, 1996.

REAVEN, G.M.; GREENFIELD, M.S., Diabetic hypertriglyceridemia: Evidence for three clinical syndromes., **Diabetes**, v.30, suppl.2, p.66-75, 1981.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY Jr, G.C.. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v.123, p.1939-195, 1993.

SEMENKOVICH, C.F.; HEINECKE, J.W., The mystery of diabetes and atherosclerosis. **Diabetes**, v.46, n.3, p.327-334, 1997.

STEINER, G.. Diabetes and atherosclerosis : an overview. **Diabetes**, v. 30, suppl. 2, p.1-7, 1981.

WALTER, D.; HIGGINSON, L.; GLADSTONE, P.; BOCCUZZI, S.J.; COOK, T.; LESPÉRANCE, J.. Effects of cholesterol lowering on the progression of coronary atherosclerosis in women. **Circulation**, v.92, n.9, p. 2404 - 2410, 1995.

XU, G.; SALEN, G.; SHEFER, S.; NESS, G.C.; NGUYEN, L.B.; PARKER, T.S.; CHEN, T.S.; ZHAO, Z.; DONNELLY, T.M.; TINT, G.S., Unexpected inhibition of cholesterol 7 α -hydroxylase by cholesterol in New Zealand White and Watanabe Heritable hyperlipidemic rabbits. **The Journal of Clinical Investigation**, Inc. v.95, n.4, p.1497-1504, 1995.

YOUNG, N.L.; LOPEZ, D.R.; McNAMARA, D.J., Contributions of absorbed dietary cholesterol and cholesterol synthesized in small intestine to hypercholesterolemia in diabetic rats. **Diabetes**, n.8, v.37, 1988.

CAPÍTULO 4

**EFEITO DA FARINHA DE KONJAC SOBRE OS LÍPIDES
PLASMÁTICOS EM RATOS WISTAR COM DIABETES
NEONATAL E HIPERCOLESTEROLEMIA INDUZIDA**

EFEITO DA FIBRA KONJAC SOBRE OS LÍPIDES PLASMÁTICOS EM RATOS WISTAR COM DIABETES NEONATAL E HIPERCOLESTEROLEMIA INDUZIDA

RESUMO

Este estudo teve como objetivo verificar o efeito da farinha de konjac sobre os lípides plasmáticos [colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c)] e hepáticos (CT e TG), assim como comparar seu efeito hipocolesterolêmico com aquele induzido por dois fármacos que atuam através de mecanismos diferentes de ação hipolipemiantes (colestiramina e pravastatina) em modelos de diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida. Foram utilizados ratos, machos e fêmeas, com 15 semanas de idade, mantidos em gaiolas metabólicas com acesso a água e dieta, *ad libitum*, recebendo dieta semi-purificada (AIN-93/M) com adição de 5 % de gordura de coco e 2 % de colesterol, por 4 semanas. Os animais diabéticos hipercolesterolêmicos (DHc) foram divididos nos seguintes grupos: DHc konjac 2,5 %; DHc konjac 10,0 %; DHc pravastatina 0,1 % e DHc colestiramina 2,5 %. Os grupos controle não diabéticos e diabéticos receberam dieta sem colesterol (C e D) e com adição de colesterol (CHc e DHc). A determinação do CT plasmático foi realizada no início do experimento, após jejum de 18 horas. Assim como, após o sacrifício dos animais, no final do experimento, procedendo-se a determinação de TG; CT; LDL-c e HDL-c plasmáticos, e de TG e CT hepáticos, por métodos enzimáticos. Apesar da hiperfagia apresentada pelos animais diabéticos, esta não se manifestou em ganho de peso relevante em relação aos ratos não diabéticos. Todos os animais diabéticos hipercolesterolêmicos apresentaram redução significativa ($p \leq 0,05$) no nível de CT plasmático como consequência dos diversos tratamentos (konjac 2,5 % e 10,0 %; pravastatina 0,1 % e colestiramina 2,5%). Sendo que, o grau de redução devido à farinha konjac variou entre 28 % a 35 %. Todos os tratamentos diminuíram ($p \leq 0,05$) os níveis de LDL-c, sendo que os grupos tratados com a farinha de konjac não diferiram entre si ($p \leq 0,05$). Ainda,

nos ratos machos os tratamentos não interferiram ($p \leq 0,05$) nos níveis de HDL-c plasmático, enquanto que nas fêmeas, todos os tratamentos reduziram ($p \leq 0,05$) os níveis plasmáticos de HDL-c em relação ao grupo DHc, com exceção do grupo tratado com konjac a 2,5 %, o qual apresentou os maiores níveis ($p \leq 0,05$) dessa fração do colesterol. Em relação aos triglicerídeos plasmáticos, a farinha de konjac apresentou elevado efeito hipotrigliceridêmico. Quanto ao colesterol e triglicerídeos hepáticos, com exceção do grupo que recebeu konjac a 2,5 %, todos os tratamentos propiciaram redução ($p \leq 0,05$) tanto dos níveis de CT como de TG em relação ao grupo DHc. Assim, os resultados obtidos indicaram elevado potencial terapêutico para a farinha konjac no controle e tratamento do perfil lipídico em indivíduos diabéticos hiperlipidêmicos que apresentem consumo de dieta aterogênica.

Palavras chaves: konjac, fibra konjac, fibra solúvel, colesterol, hipercolesterolemia, ratos diabéticos, ratos hipercolesterolêmicos.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effect of konjac flour on the plasmatic lipids [total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-c), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-c)], as well as on the hepatic lipids (TC and TG) and to compare its hypocholesterolemic effect with two drugs that act through different hypolipidemic mechanism (cholestyramine and pravastatin), using Wistar rats with neonatal diabetes and induced hypercholesterolemia. So, Wistar rats, males and females, 15 weeks old were kept in metabolic cages, with access to water and food *ad libitum*. The animals received semi-purified diet (AIN-93/M) containing 5 % of coconut fat and 2 % of cholesterol, for 4 weeks. The diabetic hypercholesterolemic animals (DHc) were divided in the following groups: DHc konjac 2.5%, DHc konjac 10%, DHc pravastatin 0.1% and DHc cholestyramine 2.5%. The control groups of non-diabetics and diabetics

animals received diet without (D and C) and with (CHc and DHc) cholesterol. Total cholesterol (TC) was measured at the beginning of the experiment, after 18 h fasting. At the end of the experiment, the animals were killed, and plasmatic TC, TG, LDL-c, and HDL-c, as well as CT and TG hepatic were determined by enzymatic method. In spite of the hyperphagia shown by the diabetic rats, it was not verified a relevant difference on body weigh gain of those animals in relation to the non-diabetic rats. All the diabetic hypercholesterolemic animals showed a reduction on the level of plasmatic TC, as a consequence of the different treatments. In this regard the degree of reduction due to the konjac flour varied between 28 % and 35 %. Similarly, the LDL-c levels were reduced due to the different treatments, with no difference found among the groups treated with konjac, for both males and females rats. Also, for the male animals the treatments did not interfere on the HDL-c plasmatic levels, however for the females all the treatments reduced the HDL-c plasmatic levels in relation to the DHc group, with the exception of the group treated with konjac at 2.5 %, which showed the highest level of this cholesterol fraction. In relation to the plasmatic triglycerides, konjac flour showed a high hypotriglyceridemic capacity. With regards to cholesterol and hepatic triglycerides, with exception of the group that received 2.5 %, konjac flour all the treatments induced a reduction in relation to the DHc group. So, the results indicated a elevated therapeutical potential of konjac flour on the control and treatment of the lipids in diabetic hyperlipidemic individuals consuming of atherogenic diet.

Index terms: konjac, konjac fiber, soluble fiber, cholesterol, hypercholesterolemia, diabetics rats, hypercholesterolemic rats.

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), anualmente em todo o mundo, as doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis por 12 milhões de óbitos causando, aproximadamente, metade dos óbitos em diversos países desenvolvidos e sendo a principal causa de óbito em vários países em desenvolvimento, principalmente na população adulta (Nicolau, et al., 1998; Manfroí, et al., 1998; Da Silva, et al., 1998; Rabelo, et al., 1999).

No Brasil, as doenças cardiovasculares constituem importante causa de mortalidade, tanto em homens quanto em mulheres (Santos & Maranhão, 1998). Comparando as taxas de mortalidade de algumas cidades mais populosas do Brasil com a de outros países, foram verificados no Brasil valores elevados para o conjunto das doenças cardiovasculares, sendo que, a participação das mulheres na composição dos óbitos foi bastante elevada (Lotufo, 1998; Zock, 1998; Jorge, et al., 1998; Haddad & Da Silva, 2000). Isso pode ser explicado pela alta incidência dos fatores de risco na população feminina brasileira associada a um inadequado controle desses fatores, dentre os quais destacam-se a hipertensão arterial, o tabagismo, a obesidade e a hipercolesterolemia (Santos & Maranhão, 1998).

Dentre esses eventos, a elevação sangüínea de colesterol e outros lípidos são elementos preponderantes no processo da aterogênese e suas manifestações clínicas (Rosa et al., 1998 a, b; Zock, 1998; Manfroí, et al., 1999), sendo que o colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c) atua como agente atenuador do processo da aterosclerose, enquanto que o da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) atua como agente acelerador do processo e da instabilidade clínica. Portanto, medidas de redução do colesterol total (CT), do LDL-c e o aumento do HDL-c, com ou sem o uso de medicamentos, tem demonstrado redução nos eventos clínicos e possibilidade de redução da placa aterosclerótica (Manfroí et al., 1999).

Portadores de hipercolesterolemia e doença arterial coronariana (DAC), quando submetidos a tratamento dietético e farmacológico hipolipemiante, apresentam menor recorrência de eventos coronários (Novazzi, et al., 1998; Jorge,

et al., 1998). A dieta constitui um fator importante para a redução da hipercolesterolemia, através da redução na ingestão de gorduras saturadas, assim como do aumento no consumo de fibra alimentar (Clevidence, et al., 1992; Pados, 1993; Asp, 1998; Zock, 1998; Fernandez, 2001) ou, ainda, utilizando-se de alimentos que apresentem algum efeito sobre os níveis de colesterol.

Muitos estudos têm sugerido que as fibras dietéticas apresentam resposta na alteração do metabolismo lipídico em humanos e animais experimentais, (Vahouny, 1982), reduzindo o risco da doença coronariana (Rimm et al., 1996; Wolk et al., 1999). A relação entre fibra e dislipidemia é particularmente referendada sobre os efeitos nos níveis de colesterol que é reduzido a partir da adição de fibra na dieta (Arvill & Bodin, 1995; Kritchevsky, 1997; Jenkins, et al., 1998). Introduzindo fibra solúvel e reduzindo as gorduras saturadas, ocorre uma melhoria da hipercolesterolemia moderada. A alteração na viscosidade intestinal promovida pela fibra solúvel é importante no controle do colesterol, reduzindo os níveis de LDL-c (Fernandez, 2001). É atribuído as fibras dietéticas solúveis em água, que apresentam elevada viscosidade, o efeito na redução da hipercolesterolemia, bem como da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), trazendo benefícios para indivíduos que apresentam desordens no metabolismo lipídico (Gallaher et al., 1993a; Gallaher et al., 1993b; Jensen, et al., 1993; Pados, 1993; Fernandez et al., 1995; Asp, 1998).

Tem sido proposto que hidrocolóides reduzem os níveis de colesterol, porém, a viscosidade destes compostos limitam seu uso na dieta humana (Levrat-Verny, et al., 2000). Konjac manana, também conhecida como farinha de konjac, obtida do tubérculo de *Amorphophallus konjac (c.koch)*, é constituída de glicomanana, um polissacarídeo de alta viscosidade, caracterizado como fibra solúvel (Doi, 1982; Cheng-Yu, 1990; Min et al., 1997), tem demonstrado ser efetivo na redução dos níveis do colesterol, devido a sua alta viscosidade (Gallaher, et al., 2000). Konjac manana quando usada no tratamento convencional do diabetes não insulino dependente, melhora tanto o controle glicêmico quanto o perfil lipídico (Vuksan, et al., 1999).

Assim, este estudo teve como objetivo verificar o efeito da farinha de konjac sobre os lípides plasmáticos [colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c), lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c)] e hepáticos (CT e TG) e, ainda, comparar seu efeito hipocolesterolêmico com aquele induzido por dois fármacos, que atuam através de diferentes mecanismos de ação hipolipemiantes (colestiramina e pravastatina), utilizando-se ratos Wistar com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

A farinha de konjac utilizada neste estudo foi doada pela FMC do Brasil Ind. Com. Ltda / Divisão de Ingredientes e Alimentos.

A pravastatina sódica e a colestiramina foram doadas pela Bristol-Myers Squibb Brasil S.A. / Divisão Médica Cardiovascular.

Animais e Dieta

Foram utilizados ratos Wistar adultos, machos e fêmeas, com 15 semanas de idade, diabéticos e não diabéticos, hipercolesterolêmicos e não hipercolesterolêmicos, com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida conforme descrito por Gregorio et al., (2001a, b).

Os animais foram mantidos, durante 4 semanas, em gaiolas metabólicas com acesso a água e dieta *ad libitum*. Foram utilizadas dietas semi-purificadas, conforme AIN-93/M (Reeves et al., 1993) com adição de 5% de gordura de coco em substituição ao óleo de milho, sendo que a dieta hipercolesterolêmica foi adicionada de 2 % de colesterol (Vetec, ref. 967) (Holmgren & Brown, 1993; Bertolotti, et al., 1995; Kamata et al., 1996; Ness, et al., 1996). Os grupos de animais diabéticos hipercolesterolêmicos que foram submetidos ao tratamento, receberam dieta adicionada de farinha de konjac, pravastatina e colestiramina, em

substituição à sacarose, e os grupos controles (não diabéticos e diabéticos) receberam dieta com e sem adição de colesterol.

Os grupos experimentais são apresentados na Tabela 1. Os animais foram mantidos nas respectivas dietas por 4 semanas. A temperatura do biotério foi mantida a 22 ± 2 °C, com ciclo claro/escuro de 12 horas (iluminação das 6:00 às 18:00 h).

Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Experimentação Animal do Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil.

Tabela1- Distribuição dos animais por grupos experimentais, sexo, peso (g) e colesterol total (CT) plasmático (mg/dL) no início do tratamento

Grupos	Fêmeas			Machos		
	n	Peso (g)	CT (mg/dL)	n	Peso (g)	CT (mg/dL)
Controle (C)	8	251,25 ± 17,52	76,93 ± 5,33	9	426,78 ± 31,56	64,45 ± 5,61
Controle hipercolesterolêmico (CHc)	9	240,89 ± 13,71	89,03 ± 11,83	8	442,12 ± 32,45	81,55 ± 5,73
Diabético (D)	6	256,67 ± 14,67	70,12 ± 7,60	8	404,37 ± 40,67	65,71 ± 6,03
Diabético hipercolesterolêmico (DHc)	6	259,17 ± 27,04	205,11 ± 21,25	6	390,17 ± 48,74	116,43 ± 14,00
Diabético hipercolesterolêmico Konjac 2,5% (DHc K 2,5%)	7	242,28 ± 49,84	240,54 ± 41,86	9	381,22 ± 49,86	146,92 ± 26,67
Diabético hipercolesterolêmico Konjac 10,0% (DHc K 10%)	6	250,83 ± 23,76	191,59 ± 41,55	6	386,67 ± 48,40	142,29 ± 19,58
Diabético hipercolesterolêmico Pravastatina 0,1% (DHc Pravastatina)	7	228,43 ± 21,34	151,05 ± 18,41	7	374,14 ± 43,15	162,26 ± 18,76
Diabético hipercolesterolêmico Colestiramina 2,5% (DHc Colestiramina)	7	220,00 ± 25,38	171,95 ± 43,06	6	356,17 ± 26,76	131,73 ± 10,03

Ingestão de dieta e Ganho de peso

Foi medida a ingestão diária de dieta dos animais. Para a avaliação de peso, procedeu-se a pesagem dos animais a cada semana durante o período experimental.

Lipídios Plasmáticos

Os níveis de colesterol total (CT) plasmático no início do experimento foram determinados por método enzimático (Boehringer Mannheim, art. 1 497 448). Para tanto, após jejum de 18 horas procedeu-se a coleta de sangue, pela cauda dos animais, o sangue foi imediatamente centrifugado para separação do plasma e dosagem do colesterol total (CT).

No final do experimento, após jejum de 18 horas, os ratos foram anestesiados e amostras de sangue foram coletadas por punção cardíaca. O sangue foi imediatamente centrifugado para separação do plasma, procedendo-se a determinação de triglicerídeos (TG); colesterol total (CT); lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c) e lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c), por kits enzimáticos (Laborlab ref. 04400; Boehringer Mannheim ref. 1 497 448 e ref. 543 004, respectivamente).

Lipídios Hepáticos

Após o sacrifício dos animais, o fígado foi retirado, lavado em solução salina a 0,9% e estocado a -18 °C para posterior análise.

A dosagem de triglicerídeos (TG) e colesterol total (CT) no tecido hepático, foi realizada por métodos enzimáticos (Laborlab ref. 04400 e Boehringer Mannheim ref.1 497 448, respectivamente), após a extração com isopropanol (Merck), mantendo o extrato a 4 °C por 48 horas, conforme metodologias descritas por Haug & Hostmark, (1987) e Huang et al., (1961).

Análise Estatística

As médias e o desvio padrão para cada grupo foram calculados, sendo realizada a comparação entre os grupos por one-way ANOVA. O nível de significância de 5% foi considerado indicativo de diferença entre os grupos. Para efeito de cálculos foi utilizado o programa estatístico Microcal Origin (versão 3.5; 1994) e Gráfico Pad (San Diego, CA) PRISM^R (1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diversos modelos experimentais têm sido descritos na literatura com o intuito de melhor entendimento dos efeitos das fibras alimentares sobre o metabolismo lipídico. Geralmente, estes estudos envolvem ratos, coelhos, cobaias e hamsters com hipercolesterolemia induzida pela dieta (Shimizu, et al., 1991; Gallaher et al., 1993b; Fernandez, et al., 1995.; Younes, et al., 1995; Turley & Dietschy, 1995; Bagger et al., 1996; Camaron-Smith, et al., 1997; Shen, et al., 1998; Ranhotra et al., 1998; Gallaher et al., 2000; Levrat-Verny, et al., 2000; Terpstra, et al., 2000; Fernandez, et al., 2000). Ainda, tem sido sugerido que os níveis plasmáticos de colesterol em ratos com diabetes induzido são mais elevados do que em ratos não diabéticos e que estes índices estão diretamente relacionados com o grau de hiperglicemia (Feingold, 1989; McLean et al., 1995, Walter et al., 1995; Semenkovich & Heinecke, 1997, Laakso, 1999). Assim, no presente estudo foram utilizados ratos Wistar com diabetes neonatal e hipercolesterolemia induzida, modelo experimental que não tem sido relatado na literatura para estudar o efeito hipocolesterolêmico das fibras alimentares.

Cabe mencionar, outrossim, que as concentrações de 2,5 % e 10,0 % de farinha de konjac utilizadas na dieta tiveram como propósito avaliar diferenças entre uma concentração elevada e outra próxima à utilizada do fármaco colestiramina (2,5 %), o qual tem como mecanismo de ação o aumento na eliminação fecal dos ácidos biliares e redução da sua reabsorção, sendo indicadas na literatura concentrações que variam de 1 a 3 % (Shand & West, 1995; Mabayo, et al., 1995; Bertolotti, et al., 1995). Por outro lado, o fármaco pravastatina, que

tem ação inibidora da hidroximetilglutaril Coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), enzima responsável pela síntese de colesterol hepático, com conseqüente redução dos níveis de colesterol plasmáticos, foi utilizada na concentração de 0,1 %, conforme descrito por Shand & West (1995) e Ness et al. (1996).

Ingestão de dieta e Ganho de peso

Conforme verificado na Figura 1, a ingestão de dieta por parte dos animais de todos os grupos diabéticos foi significativamente maior ($p \leq 0,05$) que nos grupos controles, sendo que, dentro dos respectivos grupos (controles e diabéticos), não foi observada diferença ($p \leq 0,05$) no consumo de alimento, tanto para os ratos machos quanto para as fêmeas, assim como não foi verificada diferença ($p \leq 0,05$) em relação ao sexo. Esses resultados corroboram dados da literatura que indicam que a hiperfagia é uma característica do diabetes (Young et al., 1988; Mathé, 1995; Feingold, 1989). Ainda, cabe ressaltar que não foi verificada diferença na ingestão de dieta entre os grupos tratados com farinha de konjac nas concentrações de 2,5 % e 10,0 %.

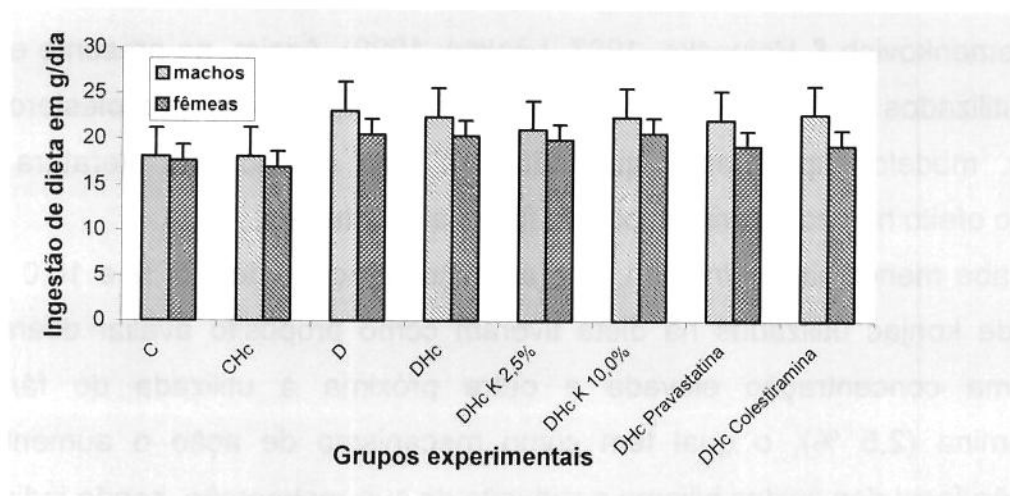


Figura 1- Média da ingestão de dieta (g/dia) nos grupos estudados, durante o período experimental de 4 semanas (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac)

Em relação ao ganho de peso corpóreo, apesar das fêmeas apresentarem menor peso corpóreo, todos os grupos apresentaram uma taxa de ganho de peso $[(\text{peso final} - \text{peso inicial}) \times 100 / \text{peso inicial}]$ semelhante (6,4 % e 7 % para fêmeas e machos, respectivamente). Assim, apesar dos animais diabéticos terem apresentado maior ingestão de dieta, essa hiperfagia não se manifestou em um ganho relevante de peso corpóreo (Figura 2).

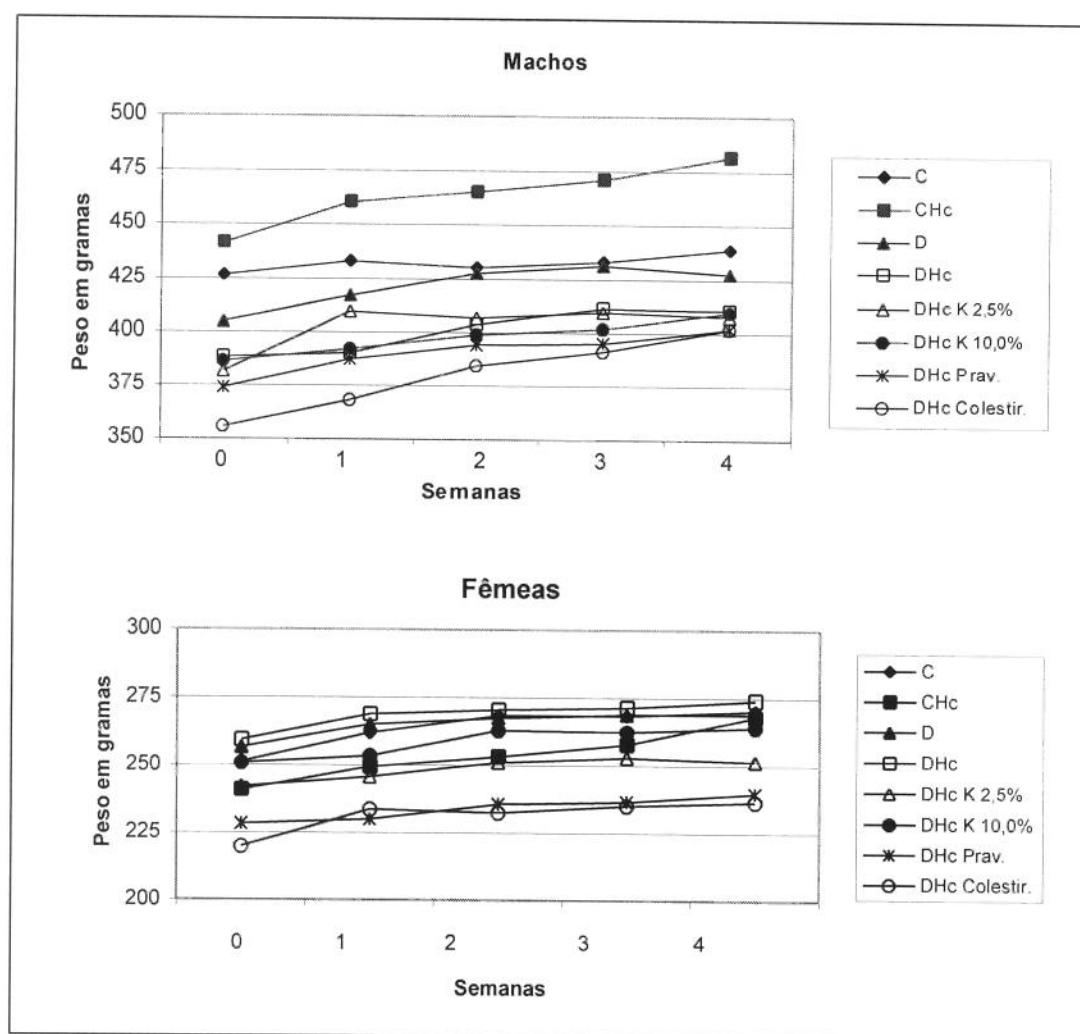


Figura 2 - Curva de evolução de peso corpóreo para ratos machos e fêmeas, nos grupos estudados, durante o período experimental de 4 semanas (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac; Prav.: pravastatina; Colestir.: colestiramina).

Lipídios Plasmáticos

Na Figura 3 é apresentado o perfil dos lipídeos plasmáticos. Apesar dos animais dos grupos controle não diabéticos (grupos C e CHc) e diabéticos (grupos D e DHc) terem, na sua maioria, apresentado aumento no nível de colesterol total (CT) no período do ensaio, esse ganho não foi significativo ($p \leq 0,05$). Por outro lado, todos os grupos dos animais diabéticos hipercolesterolêmicos apresentaram redução significativa ($p \leq 0,05$) no nível de CT como consequência dos diversos tratamentos. Os grupos que receberam tratamento da hipercolesterolemia com farinha de konjac, apresentaram uma redução significativa ($p \leq 0,05$) nos valores de CT. Ainda, nos grupos dos animais machos o grau de redução (28% a 30 %) foi independente da quantidade de farinha incorporada na dieta (2,5 % ou 10,0 %). Entretanto, nos grupos das fêmeas essa redução foi significativamente maior (35 %) ($p \leq 0,05$) no grupo que recebeu konjac a 10,0 %, em relação ao que recebeu Konjac a 2,5 % (28 %) (Figura 4). Em geral, estes resultados assemelharam-se àqueles relatados por diferentes autores que avaliaram a ação hipocolesterolêmica de fibras alimentares solúveis em indivíduos diabéticos (Bhardwaj, et al., 1994; Fernandez, et al., 1995; Vuksan et al., 1999, Anderson, et al., 2000; Chandalia et al., 2000; McIntosh & Miller, 2001). Todavia, a redução do CT plasmático pela farinha de konjac foi menor ($p \leq 0,05$) do que aquela obtida com os fármacos hipocolesterolêmicos, nos quais foram verificadas reduções nos níveis de CT na faixa de 40% a 50%, em relação aos níveis iniciais de CT.

Cabe salientar, que nos grupos (machos e fêmeas) tratados com pravastatina e colestiramina os valores de CT plasmáticos foram acentuadamente reduzidos ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo DHc, sendo que os valores de CT foram próximos e não diferiram ($p \leq 0,05$) dos valores verificados nos grupos C e D (grupos sem adição de colesterol na dieta), sendo que nas fêmeas foram menores ($p \leq 0,05$) do que aqueles apresentados pelo grupo CHc. Estes resultados concordam com os descritos nos estudos de Garg & Grundy (1994), que relataram em pacientes diabéticos não insulino dependente e hipercolesterolêmicos a redução acentuada de colesterol total e LDL-c, com o uso de colestiramina e,

ainda, por Novazzi et al. (1998) que verificaram a redução nos níveis de CT e LDL-c e aumento HDL-c em homens e mulheres portadores de hipercolesterolemia.

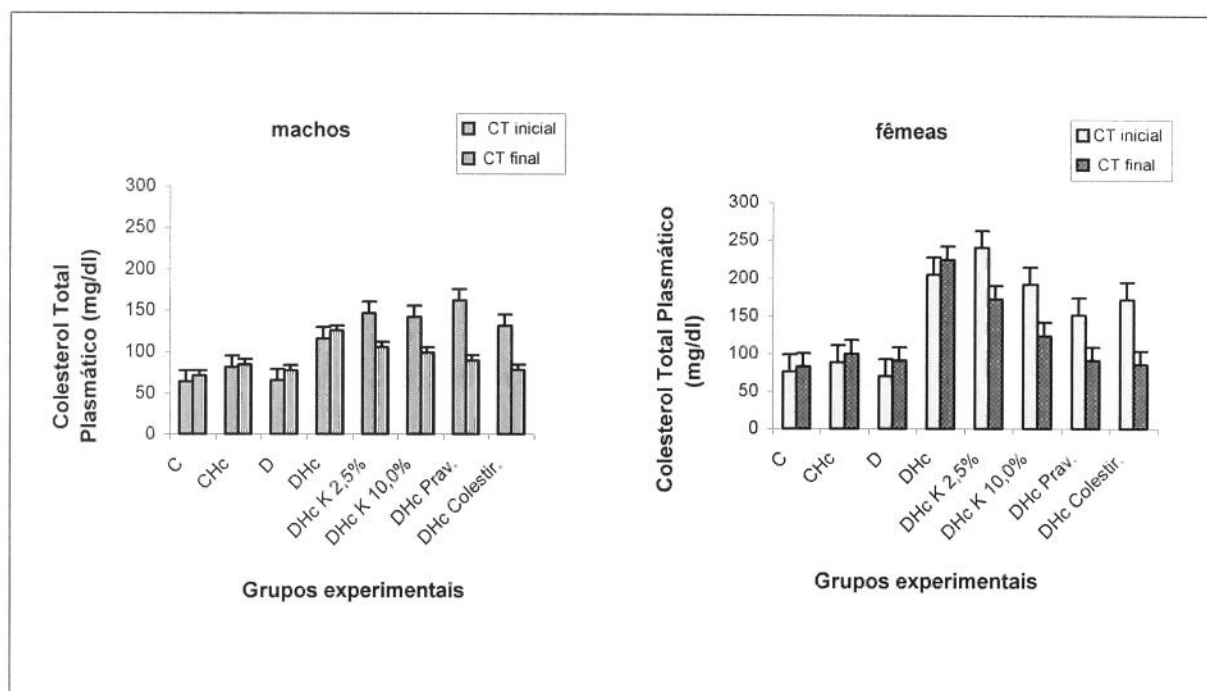


Figura 3- Valores de colesterol total (CT) plasmático (mg/dL) no início e final do período experimental (4 semanas) em que os ratos Wistar foram submetidos a tratamento da hipercolesterolemia (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac; Prav.: pravastatina; Colestir.: colestiramina).

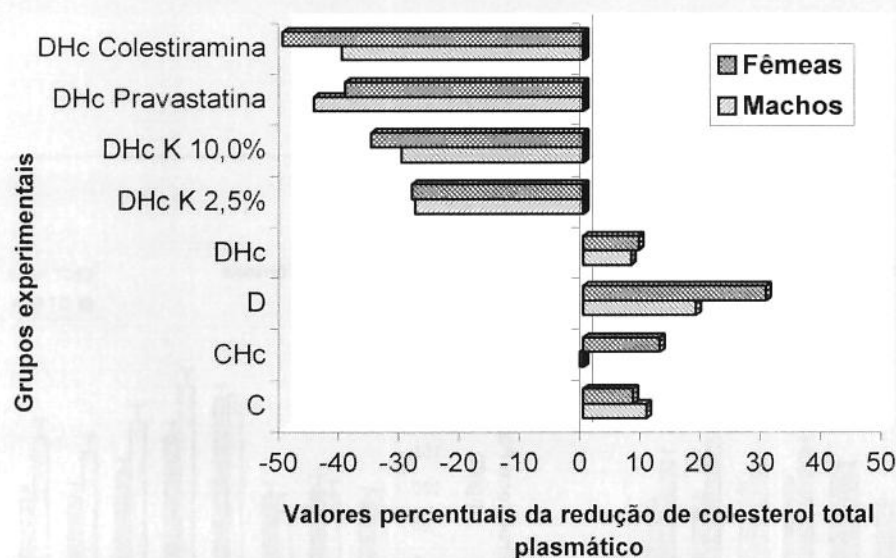


Figura 4— Valores percentuais da redução de colesterol após o tratamento dos animais (C: controle; D: diabético; Hc: hipercolesterolêmico; K: konjac), no final do período experimental de 4 semanas.

Os valores plasmáticos de triglicérides (TG), lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c) e lipoproteína de alta densidade-colesterol (HDL-c) verificados no final do período experimental são apresentados na Figura 5. Nos ratos machos e fêmeas, os valores de LDL-c aumentaram significativamente ($p \leq 0,05$) no grupo DHc, em relação aos grupos C, D e CHc, sendo que no grupo DHc esses níveis foram maiores ($p \leq 0,05$) nas fêmeas do que nos machos. Por outro lado, tanto nas fêmeas como nos machos, em relação ao grupo DHc, todos os tratamentos (konjac e drogas hipolipemiantes) diminuíram ($p \leq 0,05$) os níveis de LDL-c, sendo que os grupos tratados com a farinha de konjac (concentrações de 2,5 % e 10,0 %) não diferiram entre si ($p \leq 0,05$). Ainda, foi verificada diferença ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos com konjac e com as drogas hipolipemiantes, com

exceção dos machos em que unicamente foi verificada diferença ($p \leq 0,05$) em relação ao grupo tratado com colestiramina. Fernandez et al., (2000) também observaram redução no LDL-c plasmático com a adição de colestiramina e de amido resistente (fibra solúvel) na dieta de cobaias, sendo que a redução verificada com colestiramina foi 3 vezes maior. Quanto às drogas hipoglicemiantes, não foi verificada diferença ($p \leq 0,05$) entre elas, embora atuem através de mecanismos diferentes e o modelo experimental utilizado possa ter propiciado uma melhor ação por parte da colestiramina (interferência na absorção dos ácidos biliares) em relação a pravastatina (inibição da síntese endógena de colesterol).

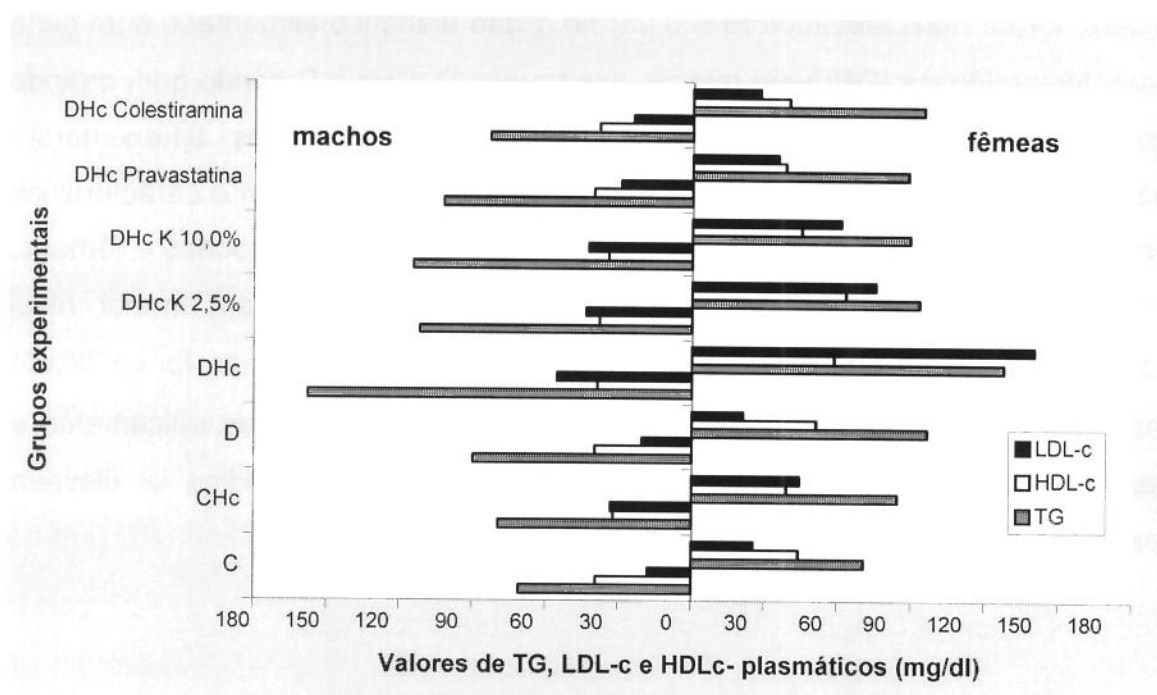


Figura 5- Níveis plasmáticos de TG, HDL-c e LDLc (mg/dL) em ratos machos e fêmeas (C:controle; D: diabético; Hc:hipercolesterolêmico; K:konjac;) no final do período experimental de 4 semanas.

Em relação aos níveis plasmáticos de HDL-c, nos ratos machos não foi verificada diferença ($p \leq 0,05$) entre os grupos DHc, D, CHc e C. Entretanto, nas fêmeas, apesar de não ter sido verificada diferença ($p \leq 0,05$) entre os grupos de animais não diabéticos (C e CHc), assim como entre os diabéticos (D e DHc), foram verificados níveis mais elevados ($p \leq 0,05$) nos grupos de animais diabéticos em relação aos não diabéticos. Ainda, nos ratos machos os tratamentos (tanto konjac quanto os fármacos) não alteraram ($p \leq 0,05$) os níveis de HDL-c plasmáticos, enquanto que nas fêmeas, todos os tratamentos reduziram ($p \leq 0,05$) os níveis plasmáticos de HDL-C em relação ao grupo DHc, com exceção do grupo tratado com konjac a 2,5 %, o qual apresentou os maiores níveis ($p \leq 0,05$) dessa fração do colesterol.

Em geral, os níveis de TG plasmático, tanto para fêmeas quanto para machos, foram mais elevados ($p \leq 0,05$) no grupo diabético alimentado com dieta hipercolesterolêmica (DHc) em relação aos grupos D, CHc e C sendo que, quando alimentados com dieta sem colesterol, os animais diabéticos apresentaram maiores níveis de TG do que os não diabéticos (C), corroborando a característica hipertrigliceridêmica do diabetes. Todos os grupos de animais, machos e fêmeas, que receberam konjac ou drogas hipolipidêmicas, apresentaram menor nível ($p \leq 0,05$) de TG do que o grupo DHc, sendo que nas fêmeas não foi verificada diferença ($p \leq 0,05$) entre o konjac e os fármacos, e nos machos unicamente a colestiramina foi mais eficiente do que o konjac, o que indica a elevada capacidade hipotrigliceridêmica do konjac.

Lipídios Hepáticos

Os níveis de colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) hepáticos são apresentados na Figura 6. A ingestão de colesterol, em ratos machos e fêmeas, propiciou um aumento significativo ($p \leq 0,05$) dos níveis de colesterol, tanto nos animais não diabéticos (grupo CHc em relação ao C), como nos diabéticos (grupo DHc em relação a D). Resultados semelhantes foram obtidos para os níveis de

TG. Ainda, o diabetes propiciou ($p \leq 0,05$) hipertrigliceridemia hepática (grupo D em relação a C e grupo DHc em relação a CHc). Quanto aos tratamentos com farinha de konjac e fármacos, todos propiciaram redução ($p \leq 0,05$) tanto dos níveis de CT como de TG em relação ao grupo DHc, com exceção do grupo que recebeu konjac a 2,5 %, tanto nos ratos machos como nas fêmeas. A diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídeos hepáticos, como consequência da ingestão de fibras alimentares tem sido relatada por diversos autores, utilizando diferentes modelos experimentais (Shimizu, et al., 1991, Gallaher et al., 1993b, Younes et al., 1995, Ranhotra et al., 1998, Fernandez et al., 2000, Gallaher et al., 2000).

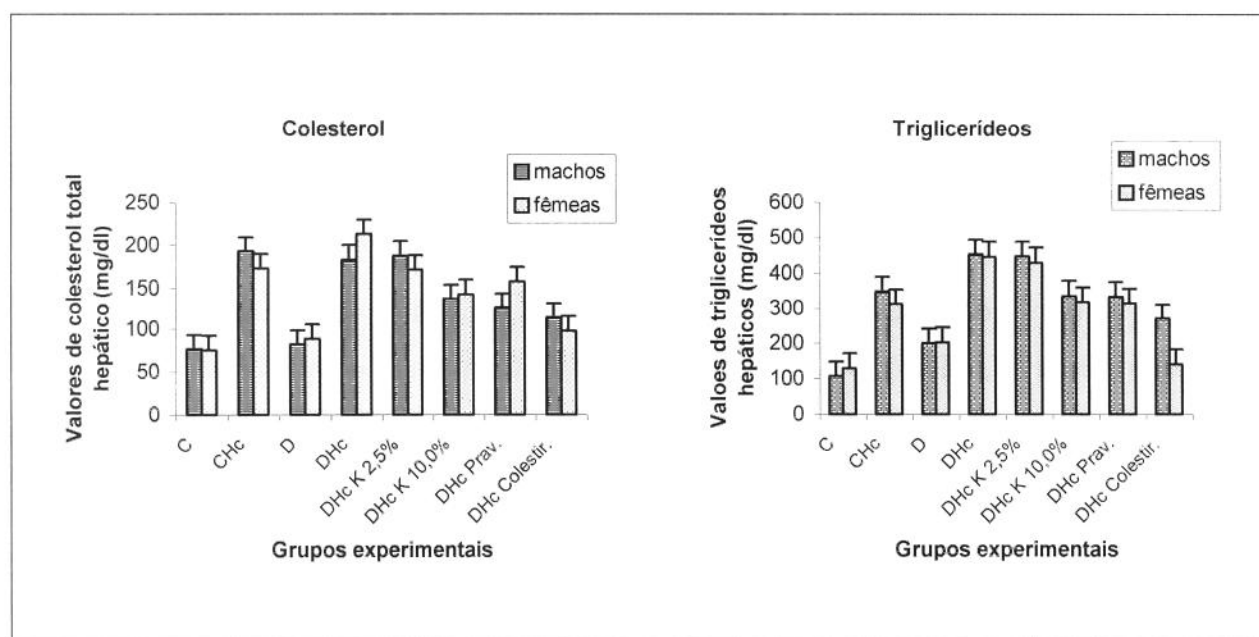


Figura 6— Valores de colesterol total (CT) e triglicerídeos (TG) (mg/dL) hepáticos (C:controle; D:diabético; Hc:hipercolesterolêmico; K:konjac; Prav.:pravastatina; Colestir.:colestiramina)

Finalmente, cabe salientar que os seguintes mecanismos de ação tem sido postulados para explicar a ação hipocolesterolêmica das fibras alimentares solúveis:

- Aumento na excreção fecal de esteróis neutros e de ácidos biliares, alterando o metabolismo de ácidos biliares por inibição na sua reabsorção (Shimizu et al., 1991; Younes, et al., 1995; Levrat-Verny et al., 2000; Gallarher et al., 2000).
- Aumento da viscosidade intestinal, proporcionando uma menor absorção de gordura e de colesterol, e, conseqüentemente, aumento da sua excreção (Gallarher et al., 1993a; Gallarher et al., 1993b; Jensen et al., 1993; ; Hecker et al., 1998; Gallarher et al., 2000);
- Supressão na síntese hepática de colesterol reduzindo a concentração de HMG-CoA redutase (Longauer et al., 1992; Marlett et al., 1994; Winblad et al., 1995; Turley & Dietschy, 1995; Levrat-Verny et al., 2000).

Conforme dados da literatura, o potencial de controle do perfil lipídeo plasmático por parte das fibras alimentares é controverso. Em indivíduos diabéticos, alguns autores tem relatado resultados benéficos propiciados pelas fibras alimentares solúveis (redução do CT, TG ou LDL-c ou aumento do HDL-c) (Gregorio et al., 1997; Frias & Sgarbieri 1998; Chandalia et al., 2000; Vuksan et al., 2000). Outros autores, tem relatado que as fibras alimentares solúveis não interferem no perfil lipídico (Bhardwaj et al., 1994, Jensen, et al., 1993 e 1997, Hecker et al., 1998, Lovegrove et al., 2000). Certamente, os resultados obtidos foram influenciados pelo tipo de fibra estudada, assim como pelo modelo experimental utilizado (indivíduos diabéticos ou não e/ou hipercolesterolêmicos ou não). Os nossos resultados indicaram o elevado potencial terapêutico da farinha konjac no controle e tratamento do perfil lipídico em animais diabéticos hiperlipidêmicos que apresentaram consumo de dieta aterogênica.

CONCLUSÕES

A farinha de konjac adicionada a dietas hipercolesterolêmicas reduziu os níveis de colesterol total (CT) triglicerídeos (TG) e LDL-colesterol (LDL-c) plasmáticos, assim como do CT e TG hepáticos em ratos. Assim, a farinha de konjac pode ser recomendada na suplementação de dietas indicadas na prevenção e/ou tratamento de hiperlipidemias.

Agradecimentos

À FAPESP, CNPq; FMC do Brasil Ind. Com. Ltda / Divisão de ingredientes e Alimentos; Bristol-Myers Squibb Brasil S.A. / Divisão Médica Cardiovascular; Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos / Departamento de Nutrição Humana e Refinações de Milho Brasil

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, J.W.; DAVIDSON, M.H.; BLONDE, L.; BROWN, W.V.; HOWARD, W.J. GINSBERG, H.; ALLGOOD, L.D.; WEINGAND, K.W.. Long-term cholesterol-lowering effects of psyllium as an adjunct to diet therapy in the treatment of hypercholesterolemia. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, n.6, p.1433-1438, 2000.

ARVILL, A.; BODIN, L.. Effect of short - term ingestion of konjac glucomannan on serum cholesterol in healthy men. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 61, p. 585 - 589, 1995.

ASP, N.G.. Dietary fibre. In: Healthy lifestyles nutrition and physical activity. **ILSI Europe Concise monograph series**, p.27-34, 1998.

BAGGER, M.; ANDERSON, O.; NIELSEN, J.B.; RYTTIG, K.R.. Dietary fibers reduce blood pressure, serum total cholesterol and platelet aggregation in rats. **British Journal of Nutrition**, v.75, n.3, p.483-493, 1996.

- BERTOLOTI, M.; SPADY, D.K.; DIETSCHY, J.M.. Regulation of hepatic cholesterol metabolism in the rat in vivo: effect of a synthetic fat-free diet on sterol synthesis and low-density lipoprotein transport. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1255, n.3, p.293-300, 1995.
- BHARDWAJ, P.K.; DASGUPTA, D.J.; PRASHAR, B.S.; KAUSHAL, S.S.. Effective reduction of LDL cholesterol by indigenous plant product. **Journal Indian Medical Association**, v.92, n.3, p.80-81, 1994.
- CAMARON-SMITH, D.; HABITO, R.; BARNETT, M.; COLLIER, G.R.. Dietary guar gum improves insulin sensitivity in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Nutrition**, V.127, n.2, p.359-364, 1997.
- CHANDALIA M.; GARG, A; LUTJOHANN, D.; VON BERGMANN, K.; GRUNDY, S.M.; BRINKLEY, L.J.. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, v.342, n.19, p.1392-1398, 2000.
- CHENG-YU H.; MAO-YU Z.; SHU-SHENG P.; JUN-RONG H.; XU W.; HUIJUN J.; FULIN Z.; YUNXIANG B.; JINZHONG L.; YERONG Y.; ZHAOTIAN L.; XIANGXUN Z.; ZANCHENG Z. Effect of konjac food on blood glucose level in patients with diabetes. **Biomedical and Environmental Science**, v.3, p.123-131, 1990.
- CLEVIDENCE, B.A.; JUDD, J.T.; SCHATZKIN, A.; MUESING, R.A.; CAMPBELL, W.S.; BROWN, C.C.; TAYLOR, P.R.. Plasma lipid and lipoprotein concentrations of men consuming a low-fat, high-fiber diet. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.55, n.3, p.689-694, 1992.
- DA SILVA, M.A D.; SOUZA, A G.M.R.; SCHARGODSKY, H. Fatores de risco para infarto do miocárdio no Brasil – Estudo FRICAS. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.71, n.5, p.667-675, 1998.
- DOI K.; MATSUURA M.; KAWARA A.; UENOYAMA R.; BABA S. Effect of glucomannan (konjac fiber) on glucose and lipid metabolism in non diabetic and diabetic subjects. **Excerpta Medica (Gert. Environ. Interact Diabetes Mellitus)**, v. 549 p.306-312, 1982.

FERNANDEZ, M.L. Soluble fiber and nondigestible carbohydrate effects on plasma lipids and cardiovascular risk. **Current Opinion in Lipidology**, v.12, n.1, p.35-40, 2001.

FERNANDEZ, M.L.; ROY, S.; VERGARA-JIMENEZ, M..Reistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet. **Nutrition Research**, v.29, n.6, p. 837-849, 2000.

FERNANDEZ, M.L.; VERGARA, J.M.; ROMERO, A.L.; ERICKSON, S.K.; McNAMARA, D.J., Gender differences in response to dietary soluble fiber in guinea pigs: effects of pectin, guar gum, and psyllium. **Journal Lipid Research**, v.36, n.10, p.2191-2202., 1995.

FEINGOLD, K. R., Importance of small intestine in diabetic hypercholesterolemia. **Diabetes**, v.38, n.2, p.141-145, 1989.

FRIAS, A C.D.; SGARBIERI, V.C.. Guar gum effects on food intake, blood serum lipids and glucose levels of Wistar rats. **Plant Foods Human Nutrition**, v.53, n.1, p.15-28, 1998.

GALLAHER, C.M.; MUNION, J.; HESSLINK, R.; WISE, J.; GALLAHER, D.D.. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. **Journal of Nutrition**, v.130, n.11, p.2753-2759, 2000.

GALLAHER, D.D., HASSEL, C.A.; LEE, K.J.. Relationships between viscosity of hydroxypropyl methylcellulose and plasma cholesterol in hamsters. **Journal of Nutrition**, v.123, n.10, p.1732-1738, 1993a.

GALLAHER, D.D; HASSEL, C.A.; LEE, K.L.; GALLAHER, C.M.. Viscosity and fermentability as attributes of dietary fiber responsible for the hypocholesterolemic effect in hamsters. **Journal of Nutrition**, v.123, n.2, p.244-252, 1993b.

GARG, A.; GRUNDY, S.M.. Cholestyramine therapy for dyslipidemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A short-term, double-blind, crossover trial. **Annals of Internal Medicine**, v.121, n.6, p.416-422, 1994.

GREGORIO, S.R.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R.. Avaliação da indução de diabetes neonatal com streptozotocina em ratos Wistar. 2001 a (Artigo a ser submetido para publicação).

GREGORIO, S.R.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R.. Indução de hipercolesterolemia em ratos wistar com diabetes neonatal. 2001 b (Artigo a ser submetido para publicação).

GREGORIO, S.R.; CRUZ, L.L.; MOURA, M.R.; REIS, M.A.; AREAS, M.A.; REYES, F.G.R.. The effect of konjac flour on the blood lipid profile in diabetic rats. **Annals 16th International Congress of Nutrition**, Montreal, Canadá, Abstract 212, 1997.

HADDAD, N.; DA SILVA, M.B.. Mortalidade por doença cardiovasculares em mulheres em idade reprodutiva (15^a 49 anos), no Estado de São Paulo, Brasil, 1991 a 1995. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.75, n.5, p.369-374, 2000.

HECKER, K.D.; MEIER, M.L.; NEWMAN, R.K.; NEWMAN, C.W.. Barley β -Glucan is effective as a hypocholesterolaemic ingredient in foods. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.77, n.2, p.179-183, 1998.

HAUG, A.; HOSTMARK, A. T.. Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. **Journal of Nutrition**, v.17, n.6, p. 1011-1017, 1987.

HOLMGREN, P.R.; BROWN, A.C., Serum cholesterol levels of nondiabetic and streptozotocin-diabetic rats fed a high cholesterol diet. **Artery**, v.20, n.6, p. 337-345, 1993.

HUANG, T.C.; CHEN, C.P.; WEFLER, V.; RAFTERY, A. A stable reagent for the Liebermann Burchard reaction. **Analytical Chemistry**, v.33, p.1405-1407, 1961.

JENKINS, D.J.A.; KENDALL, C.W.C.; RANSOM, T.P.P.. Dietary fiber, the evolution of the human diet and coronary heart disease. **Nutrition Research**, v.18, n.4, p.633-652, 1998.

JENSEN, C.D.; HASKELL, W.; WHITTAM J.H.. Long-term effects of water-soluble fiber in the management of hypercholesterolemia in healthy men and women. **American Journal of Cardiology**, v.79, n.1, p.34-37, 1997.

JENSEN, C.D.; SPILLER, G.A.; GATES, J.E.; MILLER, A.F.; WHITTAM, J.H.. The effect of acacia gum and a water-soluble dietary fiber mixture on blood lipids in humans. **Journal of American College of Nutrition**, v.12, n.2, p.147-154, 1993.

JORGE, P.A.R.; NEYRA, L.C.; OSAKI, R.O. DE ALMEIDA, E.; BRAGAGNOLO, N.. Efeito da berinjela sobre os lípides plasmáticos, a peroxidação lipídica e a reversão da disfunção endotelial na hipercolesterolemia experimental. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.70, n.2, p.87-91, 1998.

KAMATA, K.; SUGIURA, M.; KOJIMA, S.; KASUYA, Y.. Restoration of endothelium-dependent relaxation in both hypercholesterolemia and diabetes by chronic taurine. **European Journal of Pharmacology**, v.303, n.1/2, p.47-53, 1996.

KRITCHEVSKY, D.. Cereal fiber and lipidemia. **Cereal Foods World**, v.42, n.2, p.80-85, 1997.

LAAKSO, M., Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes. **Diabetes**, v.48, n.5, p. 937-942, 1999.

LABELL, F..Oat fiber has high beta-glucans level. **Food Processing**, v.53, n.7, p. 86, 86, 1992.

LEVRAT-VERNY, M.A .; BEHR, S.; MUSTAD, V.; REMESY, C.; DEMIHNE, C.. Low levels of viscous hydrocolloids lower plasma cholesterol in rats primarily by impairing cholesterol absorption. **Journal of Nutrition**, v.130, n.2, p.243-248, 2000.

LONGAUER, M.; ERNE, P.; SCHMIDT, E.; BURGISSER, E.; DUBACH, U.C.. Oat bran as lipid-lowering agent?. **Schweizerische Rundschau fur Medizin Praxis**, v.81, n.8, p.211-214, 1992.

LOTUFO, P.A. Mortalidade precoce por doenças do coração no Brasil. Comparação com outros países. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.70, n.5, p.321-325, 1998.

LOVEGROVE, J. A .; CLOHESSY, A .; MILON, H.; WILLIAMS, C.M. Modest doses of beta-glucan do not reduce concentrations of potentially atherogenic lipoproteins. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, n.1, p.49-55, 2000.

MABAYO, R.T.; FURUSE, M.; MURAI, A.; OKUMURA, J.I.. Cholestyramine alters the lipid and energy metabolism of chicks fed dietary medium or long-chain triacylglycerol. **Lipids**, v.30, n.9, 1995.

MANFROI, W.C.; ZAGO, A .J.; CAMPOS, M.; ALVES, A .; BRISOLARA, M.L.; DE SOUZA, J.; CANDIAGO, R.H.; KIRSCHNICK, L.; RIBEIRO, L.; ORDOVÁS, K.; LEITÃO, C.; CRUZ, R.. Seriam as Apolipoproteínas A e B mais eficientes do que as lipoproteínas na investigação de risco de doença arterial coronariana obstrutiva? **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.72, n.6, p.657-662, 1999.

MANFROI, W.C.; ZAGO, A .J.; LEITÃO, C.B.; ORDOVÁS, K.G.; RIBEIRO, L.W.; DE SOUZA, J.; KIRSCHNICK, L.; CANDIAGO, R.H.; CRUZ, R.; GOELLNER, A.; DIAS, I.. Comparação da aterosclerose coronária em pacientes com infarto do miocárdio e angina do peito. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.71, n.1, p.25-29, 1998.

MARLETT, J.A.; HOSIG, K.B.; VOLLENDORF, N.W.; SHINNICK, F.L.; HAACK, V.S.; STORY, J.A.. Mechanism of serum cholesterol reduction by oat bran. **Hepatology**, v.20, n.6, p.1450-1457, 1994.

MATHÉ, D., Dyslipidemia and diabetes: animal models. **Dietete & Metabolisme**, v.21, n. 2, p.106-111, 1995.

McLEAN, M.P.; BILLHEIMER, J.T.; WARDEN, K.J.; IRBY, R.B., Differential expression of hepatic sterol carrier proteins in the streptozotocin-treated diabetic rat. **Endocrinology**, v.136, n.8, p.3360-3368, 1995.

MCLINTOSH, M.; MILLER, C.. A diet containing food rich in soluble and insoluble fiber improves glycemic control and reduces hyperlipidemia among patients with type 2 diabetes mellitus. **Nutrition Reviews**, v.59, n.2, p.52-55, 2001.

MIN, H.Y.; HYU, G.L.; SEUNG, T.L.. Physical properties of the films prepared with glucomannan extracted from *Amorphophallus konjac*. **Korean Journal of Food Science and Technology**, v.29, n.2, p.255-260, 1997.

NESS, G.C.; ZHAO, Z.; LOPEZ, D.. Inhibitors of cholesterol biosynthesis increase hepatic low-density lipoprotein receptor protein degradation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.325, n.2, p.242-248, 1996.

NICOLAU, J.C.; NOGUEIRA, C.; MAIA, L.N.; RAMIRES, J.A .F.. Evolução dos níveis de colesterol na população adulta de São José do Rio Preto (1991-1997). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.71, n.5, p.699-704, 1998.

NOVAZZI, J.P.; PINTO, L.E.S.A; AURIEMO,C.; MARTINEZ, T.L.R..Terapia combinada de colestiramina e inibidores da HMG-CoA redutase na prevenção secundária da doença coronária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.70, n.3, p.155-158, 1998.

PADOS, G.. Modern diet for patients with hyperlipoproteinemia. **Orv Hetil**, v.134, n.15, p.878-796, 1993.

RABELO, L.M.; VIANA, R.M.; SCHIMITH, M.A .; PATIN, R.V.; VALVERDE, M.A .; DENADAI, R.C.; CLEARY, A .P.; LEMES, S.; AURIEMO, C.; FISBERG, M.; MARTINES, T.L.R.. Fatores de risco para doença aterosclerótica em estudantes de uma Universidade privada em São Paulo-Brasil. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.72, n.5, p.569-574, 1999.

RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A .; LEINEN, S.D.; BHATTY, R.S.. Dose response to soluble fiber in barley in lowering blood lipids in hamsters. **Plant Foods for Human Nutrition**, V.52, n.4, p. 329-336, 1998.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY Jr, G.C.. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing

Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, 1993; 123:1939-1951.

RIMM, E. B.; ASCHERIO, A.; GIOVANNUCCI, E.; SPIEGELMAN, D.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W. C., Dietary fiber intake and risk of coronary heart disease among a large population of us men. **American Journal of Epidemiology**, v.141, n.11, s.17, 1996.

ROSA, C.O.B.; COSTA, N.M.B.; LEAL, P.F.G.; OLIVEIRA, T.T.. Efeito do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*, L) sem casca na redução do colesterol sangüíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Archivos LatinoAmericanos de Nutrición**, V.48, n.4, p.299-305, 1998a.

ROSA, C.O.B.; COSTA, N.M.B.; NUNES, R.M.; LEAL, P.F.G.. Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sangüíneo de ratos hipercolesterolêmicos. **Archivos LatinoAmericanos de Nutrición**, v.48, n.4, p.306-310, 1998b.

SHAND, J.H.; WEST, D.W.. The effects of simvastatin and cholestyramine, alone and in combination, on hepatic cholesterol metabolism in the male rat. **Lipids**, v.30, n.10, p.917-926, 1995.

SANTOS, R.D.; MARANHÃO, R.C.. Comparação entre homens e mulheres hipercolesterolêmicos de alto risco de desenvolvimento de aterosclerose. Estudo dos fatores de risco e da resposta ao tratamento com pravastatina. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.70, n.6, p.383-387, 1998.

SEMENKOVICH, C.F.; HEINECKE, J.W., The mystery of diabetes and atherosclerosis. **Diabetes**, v.46, n.3, p.327-334, 1997.

SHEN, H.; HE, L.; PRICE, R.L.; FERNANDEZ, M.L. Dietary soluble fiber lowers plasma LDL cholesterol concentrations by altering lipoprotein metabolism in female guinea pigs. **Journal of Nutrition**, v.128, n.9, p.1434-1441, 1998.

SHIMIZU, H.; YAMAUCHI, M.; KURAMOTO, T.; KUBOTA, N.; MATSUDA, M.; HOSHITA, T.. Effects of dietary konjac mannan on serum and liver cholesterol

levels and biliary bile acid composition in hamsters. **Journal Pharmacobio - DYN.**, v.14, n.7, p. 371 - 375, 1991.

TERPSTRA, A .H.M.; LAPRE, J A .; DE VRIES, H.T.; BEYNEN, A .C..Hypocholesterolemic effect of dietary psyllium in female rats. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.44, n.5-6, p.223-228, 2000.

TURLEY, S.D.; DIETSCHY, J.M.. Mechanisms of LDL-cholesterol lowering action of psyllium hydrophilic mucilloid in the hamster. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1255, n.2, p.177-184, 1995.

VAHOUNY, G. V.. Dietary fiber, lipid metabolism and atherosclerosis. **Federation Proceedings Fed of American Societies for Experimental Biology**, v. 11, n.41, p. 2801-2806, 1982.

VUKSAN, V.; JENKINS, D.J.A .; SPADAFORA, P.; SIEVENPIPER, J.L.; OWEN, R.; VIDGEN E.; BRIGHENTI, F.; JOSSE, R.; LEITER, L.A.; BRUCE-THOMPSON, C.. Konjac-Mannan (glucomannan) improves glycemia and other associated risk factors for coronary heart disease in type 2 diabetes – A randomized controlled metabolic trial. **Diabetes Care**, v.22, n.6, p.913-919, 1999.

VUKSAN, V.; VIDGEN, E.; SIEVENPIPER, J.L.; BRIGHENTI, F.; OWEN, R.; JOSSE, R.G.; SWILLEY, J.A ; LEITER, L.A ; SPADAFORA, P.; XU, Z.; JENKINS, D.J.A . Beneficial effects at viscous dietary fiber from Konjac-Mannan in subjects with the insulin resistance syndrome – Results of a controlled metabolic trial. **Diabetes Care**, v.23, n.1, p.9-14, 2001.

WALTER, D.; HIGGINSON, L.; GLADSTONE, P.; BOCCUZZI, S.J.; COOK, T.; LESPÉRANCE, J.. Effects of cholesterol lowering on the progression of coronary atherosclerosis in women. **Circulation**, v.92, n.9, p. 2404 - 2410, 1995.

WINBLAD, I.; JOENSUU, T.; KORPELA, H. . Effect of oat bran supplemented diet on hypercholesterolaemia. **Scandinavian Journal of Primary Health Care**, v.13, n.2, p.118-121, 1995.

WOLK, A.; MANSON, J.E.; STAMPFER, M.J.; HU, F.B.; SPEIZER, F.E.; HENNEKENS, C.H.; WILLETT, W.C.. Long-term intake of dietary fiber and decrease risk of coronary heart disease among women. **Journal of American Medical Association**, v.281, n.21, p.1998-2004, 1999.

YOUNES, H., LEVRAT, M.A., DEMIGNE, C. & REMESY, C., Resistant starch is more effective than cholestyramine as a lipid-lowering agent in the rat. **Lipids**, v.30, n.9, p.847-853, sep. 1995.

YOUNG, N.L.; LOPEZ, D.R.; McNAMARA, D.J., Contributions of absorbed dietary cholesterol and cholesterol synthesized in small intestine to hypercholesterolemia in diabetic rats. **Diabetes**, n.8, v.37, 1988.

ZOCK, P.. Dietary fat and coronary heart disease. In: Healthy lifestyles nutrition and physical activity. **ILSI Europe Concise monograph series**, p.12-19, 1998.

ANEXO I

**EFEITO DA FARINHA DE KONJAC SOBRE A TOLERÂNCIA
À GLICOSE EM RATOS**

**RESUMO APRESENTADO NO:
XV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
04 - 07/08/1996, POÇOS DE CALDAS - MINAS GERAIS
SEÇÃO 6 / POSTER 134**

EFEITO DO KONJAC SOBRE A TOLERÂNCIA À GLICOSE EM RATOSAREAS, M.A.¹; GREGORIO, S.R.²; MOURA, M.R.L.³. & REYES, F.G.R.¹¹-FEA/IB-UNICAMP, ²-IN/NUT.USU-RJ, ³-FF-UFRJ-RJ

FEA/UNICAMP – Campus Universitário CEP 13083-970 – Campinas -SP

Dietas com elevado teor de fibras podem ser benéficas para o tratamento do diabetes mellitus por reduzirem a glicemia pós-prandial. Farinha de konjac, normalmente referida como konjac manana, é um pó de coloração clara obtido do tubérculo da *Amorphophallus konjac* (c. Koch), membro da família Araceae. Caracteriza-se como fibra solúvel com elevada capacidade de formar soluções viscosas. Os seus efeitos fisiológicos têm sido associados a essa característica físico-química, visto que às soluções aquosas com alto grau de viscosidade, diminuem o contato do quimo geleificado com a mucosa intestinal, assim como a ação de enzimas, retardando e/ou reduzindo a absorção de nutrientes. Deste modo, a viscosidade proporcionada pela farinha de konjac no trato gastrintestinal poderá influenciar os níveis de glicose sangüínea pós-prandial. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da farinha de konjac na absorção de glicose, utilizando-se o teste de tolerância à glicose (GTT). O ensaio foi realizado em ratos Wistar machos, adultos, com $313 \pm 16,3$ gramas de peso corpóreo. Após 18 horas de jejum os animais receberam 2mL de solução de glicose (1,5g/Kg/peso corpóreo) por sonda oro-gástrica, sem e com a adição de farinha de konjac (0,1 e 0,3g/Kg peso corpóreo). A glicemia foi determinada (método glicose-oxidase) no estado de jejum e após 30, 60, 90 e 120 min., da administração oral das soluções. Os resultados mostraram que aos 30 min., a glicemia dos animais que receberam a farinha de konjac a 0,1g/Kg p.c. foi significativamente inferior ($p \leq 0,05$) entre os grupos, embora tenha sido observado retardo fisiológico na absorção da glicose, nos animais que receberam farinha de konjac. As diferentes concentrações de farinha de konjac, quando comparadas entre si, não apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) na glicemia pós-prandial. Os resultados obtidos indicam que a farinha de konjac, por retardar a absorção de glicose, pode ser utilizada na redução dos níveis glicêmicos pós-prandial.

ANEXO II

**EFFECT OF KONJAC FLOUR (*Amorphophallus konjac*) ON GLUCOSE
TOLERANCE IN NORMAL AND DIABETIC RATS**

**RESUMO APRESENTADO NO:
16th INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION
27/07 - 01/08/1997, MONTREAL - CANADÁ
PT 496**

EFFECT OF KONJAC FLOUR (*Amorphophallus konjac*) ON GLUCOSE TOLERANCE IN NORMAL AND DIABETIC RATS

M. R. L. Moura, S. R. Gregorio, M. A. B. Reis, M. A. Areas and F. G. R. Reyes, Univ. Federal do Rio de Janeiro - FF, Univ. Gama Filho, Univ. Santa Úrsula - D.N. and Univ. Estadual de Campinas - IB and FEA, BRASIL

Dietary fiber could be beneficial for the treatment of diabetes mellitus due to the lowering of the postprandial glycemia. Konjac mannan, normally referred as konjac flour, is a white colour powder obtained from the tuber of *Amorphophallus Konjac* (*c. koch*). Its physiological effects have been associated to its capacity to form viscous solutions. The aim of this study was to evaluate the effect of Konjac flour on the glucose absorption, in normal and diabetic rats, using the glucose tolerance test (GTT). The assay was carried out in adults male Wistar rats. The diabetes was induced with aloxan monohydrate (40mg/kg body weight). After 18 h fasting state, the animals received 2.5 - 3.0 ml glucose solution (1.5 g/kg body weight.) by oral (intra-gastric) tube, with and without Konjac flour addition (0.1 g/ kg body weight). Glycemia was determined (glucose - oxidase method) in the fasting state and after 30, 60, 90 and 120 min., administration of the solutions. At 30 min. the glycemia of the normal and diabetic animals that received 0.1g Konjac flour / kg body weight was significantly lower ($p < 0,05$) in relation to their control. After 60, 90 e 120 min, there was no significant differences ($p < 0,05$) among the groups, even though, the glycemia of the animals that received konjac flour was slightly lower. The results indicated that the konjac flour was able to delay the postprandial blood glucose peak concentration suggesting its use as diabetic therapeutical coadjuvant.

ANEXO III

**THE EFFECT OF KONJAC FLOUR ON THE BLOOD LIPID PROFILE IN
DIABETIC RATS**

**RESUMO APRESENTADO NO:
16TH INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION
27/07 - 01/08/1997, MONTREAL - CANADÁ
PT 212**

THE EFFECT OF KONJAC FLOUR ON THE BLOOD LIPID PROFILE IN DIABETIC RATS

S.R. Gregorio, L.L. Cruz, M.R. Moura, M.A. Reis, M.A. Areas and F.G.R. Reyes.
Univ. Gama Filho /Univ. Santa Ursula-DN, UNE E. Guzmán y Vale -Lima-Peru-DB,
Univ. Federal do Rio de Janeiro-FF, Univ. Estadual de Campinas-IB/FEA BRAZIL

The soluble dietary fibers could show beneficial effects on the plasma lipid profile and glucose levels for the treatment of diabetes. Konjac flour (*Amorphophallus konjac*) has recently been introduced in Brazil and MERCOSUL members countries as a food additive.

The purpose of this work was to study the effect of konjac flour on plasma total cholesterol (TC), triglycerides (TG), plasma cholesterol-lipoproteins (c-LDL, c-VLDL and c-HDL), serum glucose level, food intake and body weight gain in male diabetic Wistar rats ($343.86 \text{ g} \pm 27.27$). Diabetes was induced with alloxan monohydrate (40mg/kg body weight). The animals were fed with semi-purified diet without (control, n=8) or with (treated, n=13) Konjac flour addition (5% w/w), during 15 days. TC, TG, lipoproteins and serum glucose were determined by enzymatic procedures. The food intake and weight gain were recorded at every three days.

The levels of TC, c-LDL, were slightly lower in the animals treated with Konjac, although there was not significant difference ($p \leq 0.05$) among the treated and control groups. c-HDL was significantly lower in the treated group ($p \leq 0.05$). At the end of the experiment, the mean weight loss was 9.4 g and 31.7 g in the Konjac and control groups, respectively. This difference was significant ($p \leq 0.05$). It should be mentioned that the animals fed with Konjac flour showed a much better life quality in terms of reduced mortality and weight loss.

ANEXO IV

EFEITO DA FARINHA DE KONJAC E DA POLPA DE LARANJA SOBRE A TOLERÂNCIA À GLICOSE EM RATOS

**RESUMO APRESENTADO NA:
XII REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA
EXPERIMENTAL - FeSBE
27-30/08/1997, CAXAMBÚ - MINAS GERAIS
PT. 09.023**

EFEITO DA FARINHA DE KONJAC E DA POLPA DE LARANJA SOBRE A TOLERÂNCIA À GLICOSE EM RATOS.

¹Moura, M. R. L ²Areas, M.A. ³Gregorio, S. R., & ⁴Reyes, F. G. R. ¹Univ. Federal do Rio de Janeiro - FF; ²UNICAMP-IB; ³Univ. Gama Filho e Univ. Santa Úrsula - D.N.; ⁴ UNICAMP- FEA

Objetivo: Avaliar o efeito da farinha de konjac e da polpa de laranja na absorção de glicose, em ratos, utilizando-se o teste de tolerância à glicose (GTT).

Métodos e Resultados: Os ensaios foram realizados em ratos Wistar machos, adultos, que receberam após 18 horas de jejum, solução de glicose (1,5g/Kg peso corpóreo) por sonda oro- gástrica, sem (controle farinha konjac-CFK) e com adição de farinha de konjac (FK 0,1g/Kg peso corpóreo) e sem (controle polpa de laranja-CPL) e com polpa de laranja (PL 0,15g/Kg peso corpóreo). A glicemia foi determinada (método glicose-oxidase) no estado de jejum e após 30, 60, 90 e 120 min., da administração oral das soluções. Os resultados estão apresentados a seguir:

Tabela - Efeitos da farinha de konjac e da polpa de laranja na glicemia (mg/dl), em ratos Wistar

Grupos	n	Tempo (min)				
		0	30	60	90	120
CFK	6	76,25 ± 12,12	139,12 ± 15,16	142,00 ± 20,71	131,12 ± 12,71	108,37 ± 14,06
FK	6	79,20 ± 6,45	118,00 * ± 12,58	132,80 ± 16,96	135,80 ± 11,63	127,20 ± 11,69
CPL	8	52,75 ± 15,61	98,62 ± 8,79	94,12 ± 13,09	79,37 ± 21,62	67,62 ± 19,33
PL	8	47,75 ± 9,31	87,15 ± 8,91	72,37 * ± 10,50	67,12 ± 12,10	57,50 ± 11,10

(*) indica diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os grupos que receberam FK e PL, em relação aos respectivos controles

Conclusão: Os resultados obtidos indicam que a farinha de konjac e a polpa de laranja retardam a absorção de glicose, podendo, assim, serem utilizadas na redução dos picos glicêmicos pós-prandiais.

ANEXO V

**NEONATAL DIABETES INDUCTION WITH STREPTOZOTOCIN (n-STZ) IN
WISTAR RATS (MALES AND FEMALES)**

**RESUMO APRESENTADO NO:
17th INTERNATIONAL CONGRESS OF NUTRITION 2001
27-31/08/2001, VIENA - AUSTRIA
Poster, sessão 3.7 / Diabetes mellitus**

**NEONATAL DIABETES INDUCTION WITH STREPTOZOTOCIN (n-STZ)
IN WISTAR RATS (MALES AND FEMALES)**

S.R. Gregorio, M.A. Areas & F.G.R. Reyes

Gama Filho University-DN, Campinas State University-IB/FEA, BRAZIL

The diabetes neonatal STZ (n-STZ) is characterized for one deficiency transient and nature with decrease of β cell number and volume, and in insulin content, when compared with to diabetes STZ adult rats. The purpose of this work was to produce the diabetes non-insulin-dependent diabetes mellitus model in neonatal Wistar rats. Wistar rats, males and females, after two day old neonates were injected intraperitoneally with 100 mg/kg/bw streptozotocin in 0,1 M citrate buffer, pH 4,5. The control group was injected with the equivalent volume of citrate buffer. The diabetes n-STZ group and the control were arranged with 34 rats ($n= 17$ for both sexes). Body weight, fasting and postprandial glycemia were verified in the animals over 6th week of age. The glycemia was tested (glucose-oxidase method) 45 min after administration 2,0 g/kg/bw of glucose solution by oral (intragastic) tube. The glucose tolerance test (GTT) was evaluate in the males ($n=8$) and females ($n=6$) rats, in the fasting state and after 30, 60, 90 e 120 min of administration of the glucose solution. The body weight was significantly lower ($p \leq 0,05$) only of male diabetic group (208,94g) than the control group (245,35g). The fasting glycemia was no significant differences among the groups in both sexes. Although, postprandial glycemia was significantly higher ($p \leq 0,05$) in the diabetes n-STZ groups than the controls groups, for males (244,82mg/dl and 137,00mg/dl) and females (283,82mg/dl and 135,23 mg/dl), respectively. Glycemia values in the GTT were significantly higher ($p \leq 0,05$) in diabetes n-STZ animals after 30 min. Glycemic peak occurred with 60 min. The n-STZ diabetes is a non-insulin-dependent diabetes mellitus model, allowing animals have more lifetime and best resistance, for studying diseases whose diabetes is an important risk factor.

