

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

***EFEITO DE DIETA CETOGÊNICA À BASE DE ÓLEO DE
COCO SOBRE AS CRISES CONVULSIVAS DE RATOS
PORTADORES DE EPILEPSIA INDUZIDA POR PILOCARPINA***

ELISABETE DA SILVA MENDONÇA RÊGO

MACEIÓ-AL

2011

ELISABETE DA SILVA MENDONÇA RÊGO

***EFEITO DE DIETA CETOGÊNICA À BASE DE ÓLEO DE
COCO SOBRE AS CRISES CONVULSIVAS DE RATOS
PORTADORES DE EPILEPSIA INDUZIDA POR PILOCARPINA***

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

Orientadora: Profa. Dra. Terezinha da Rocha Ataíde
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Co-orientador: Prof. Dr. Euclides Maurício Trindade Filho
Departamento de Fisiologia Humana
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas

**MACEIÓ-AL
2011**



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

Campus A. C. Simões

BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins

Maceió-AL 57072-970

Fone/fax: 81 3214-1160



PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

***EFEITO DE DIETA CETOGÊNICA À BASE DE ÓLEO DE COCO
SOBRE AS CRISES CONVULSIVAS DE RATOS PORTADORES DE
EPILEPSIA INDUZIDA POR PILOCARPINA***

por

Elisabete da Silva Mendonça Rêgo

A Banca Examinadora, reunida aos 20 (vinte) dias do mês de Abril de 2011, considera a candidata _____.

Profa. Dra. Terezinha da Rocha Ataíde
Faculdade de Nutrição – Universidade Federal de Alagoas
(Orientadora)

Prof. Dr. Cyro Rego Cabral Júnior
Faculdade de Nutrição – Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dr. Daniel Leite Góes Gitai
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

DEDICATÓRIA

Dedicado ao meu amado e querido esposo André Peixoto e ao meu príncipe Arthur, que tornam tudo valioso.

AGRADECIMENTOS

Para realizarmos algo em nossas vidas é preciso de muita ajuda de Deus, primeiramente, e de muitas pessoas. Gostaria de manifestar meus mais sinceros agradecimentos a todos que estiveram envolvidos nesta minha jornada acadêmica e pessoal. Se esquecer de mencionar alguém peço perdão, mas saibam que sempre serão lembrados em meu coração.

Em especial, agradeço a Deus pelo dom da vida, por ser a luz que guia meus passos, por me tornar capaz de conquistar os meus objetivos, por mais esta vitória alcançada e outras que com certeza virão, e por nunca ter me deixado desistir diante dos obstáculos que a vida me impôs.

Aos amores da minha vida: André Araújo Peixoto, essa pessoa especial que Deus colocou em minha vida e ao nosso presentinho de Deus, Arthur de Mendonça Rêgo Peixoto (meu príncipe), por alegrar meus dias, por me darem forças e incentivo, pela paciência e amor incondicional e por trazerem a minha vida o ânimo que preciso para prosseguir, vocês são a razão de tudo.

Aos meus pais, Ivanildo de Mendonça Rêgo e Emília Cícera da Silva Mendonça, por me ensinarem as coisas mais preciosas da minha vida, pelo apoio e dedicação incondicionais, pelos sacrifícios, pelo amor e motivação em todos os momentos de minha vida. E por sempre me mostrar a importância dos estudos para o crescimento pessoal e profissional, e por mais essa realização em minha vida.

Aos meus queridos irmãos, Isabela da Silva Mendonça Rêgo, Ivanildo de Mendonça Rêgo Filho, Eveline da Silva Mendonça Rêgo, Rafaela da Silva Mendonça Rêgo, e aos meus amados sobrinhos Jonathan e Jhulia pelo carinho, torcida, compreensão e por sempre acreditarem em mim.

A todos da minha Família, que sempre me apoiaram e, independente da distância, sempre me deram forças para buscar um bem maior.

Aos amigos que acompanharam esta caminhada, em especial ao meu grande amigo, Sgt. Cruz Filho, sempre acreditando e torcendo por mim. Ao meu amigo e cunhado

Manoel Messias pelas consultorias prestadas durante a realização deste trabalho. Aos amigos conquistados durante a minha caminhada no Mestrado em Nutrição.

À minha orientadora, Profa. Dra. Terezinha da Rocha Ataíde pela oportunidade de fazer parte do Laboratório de Nutrição Experimental, pela sua disposição em me ajudar e orientar, pelos ensinamentos, pelas palavras de incentivo, por tornar todos os meus medos, dúvidas e às vezes frustrações tão mais simples e por toda a atenção dispensada durante esta breve e longa caminhada.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Euclides Maurício Trindade Filho, pela inestimável contribuição para a minha formação, pelos ensinamentos através dos quais pude aprender e amar o maravilhoso mundo da fisiologia, pela paciência, amizade, incentivo e confiança, pelo exemplo de competência e por ser o meu referencial de professor, com todos os significados que esta palavra pode trazer. Minha gratidão eterna.

A Profa. Dra. Suzana Lima de Oliveira por todos os momentos de ensinamento, paciência e encorajamento constantes, pela doçura com o qual tratava de coisas tão ásperas. A senhora foi imprescindível para conclusão desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Cyro Rêgo Cabral Júnior pela importante contribuição nas análises estatísticas.

A minha grande parceira de trabalho Tâmara Kelly de Castro Gomes, pelo apoio e pela dedicação com que conduziu a pesquisa nos momentos em que não pude estar presente e sem os quais eu não alcançaria o final deste trabalho com tranquilidade e segurança.

Às colaboradoras da iniciação científica: Tacy, Isabelle, Laura, Jaqueline, Wanessa, Jéssica e Estela pelo auxílio, apoio e dedicação dispensados a este trabalho.

Aos integrantes do Laboratório de Nutrição Experimental, principalmente, a Elenita Marinho, técnica de laboratório, pela prestimosa ajuda, empenho, dedicação e por todo envolvimento, você contribuiu de fato com este trabalho.

Ao Biotério Central da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL), em especial a amiga Betânia e ao Marcelo, pela doação dos animais de laboratório e por ter torando tudo mais fácil.

Ao Laboratório de Fisiologia da UNCISAL pelo espaço disponibilizado indispensável para a realização desta pesquisa.

Aos animais, minha gratidão e respeito!

À Direção e à Coordenação de Pós-Graduação da Faculdade de Nutrição pelo trabalho desempenhado a fim de proporcionar uma melhor comodidade e tranquilidade durante o decorrer do Mestrado.

À FAPEAL, pela concessão de bolsa de mestrado.

Enfim, a todos os meus sinceros e honrosos agradecimentos!

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher”.

Cora Coralina

*“O destino não é uma questão de sorte; é uma questão de escolha.
Não é algo que se espera, mas algo a ser alcançado.”*

William Jennings Bryan

RESUMO

A epilepsia é um distúrbio crônico da função cerebral, caracterizado pela presença de crises convulsivas recorrentes e espontâneas. Trata-se de uma das mais frequentes e graves doenças neurológicas, que afeta cerca de 50 milhões de pessoas no mundo, principalmente crianças. Dentre estas, 40% apresentam crises refratárias às drogas antiepilépticas existentes. Opções não farmacológicas, como cirurgia, estimulação do nervo vago e dieta cetogênica, são oportunas. Esta dieta, utilizada desde 1921 no tratamento da epilepsia fármaco-resistente, caracteriza-se por alta concentração de lipídeos e, frequentemente, por baixa concentração de carboidratos e proteínas. Tradicionalmente, a dieta cetogênica utiliza como fonte lipídica os triacilgliceróis de cadeia longa (TCL); porém, os triacilgliceróis de cadeia média (TCM) são considerados um substrato alternativo, por promoverem cetonemia/cetonúria de forma mais rápida. O óleo proveniente do coco (*Cocos nucifera* L.) representa uma fonte natural de TCM, sendo utilizado para diversos fins, inclusive terapêuticos. A presente dissertação visa investigar os efeitos de dieta cetogênica à base de óleo de coco e óleo de soja sobre as crises convulsivas de ratos epilépticos. É constituída por um capítulo de revisão, intitulado *Epilepsias fármaco-resistentes: uma ênfase no tratamento cetogênico*, e um artigo de resultados, intitulado *Efeito de dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre as crises convulsivas de ratos portadores de epilepsia induzida por pilocarpina*. O artigo trata de um estudo experimental realizado com ratos *Wistar*, alocados em três grupos ($n=10$), denominados, segundo a dieta recebida, em **Controle** (dieta padrão AIN-93G), **CetoTAGcoco** (dieta cetogênica à base de óleo de coco; AIN-93G modificada, com 7% de óleo de soja, 22,79% de óleo de coco extra-virgem e 40% de margarina) e **CetoTAGsoja** (dieta cetogênica à base de óleo de soja; AIN-93G modificada, com 29,79% de óleo de soja e 40% de margarina). A proporção lipídeos: carboidratos+proteína das dietas cetogênicas foi de 3,5:1 (dieta controle, 1:11,8). O período experimental totalizou 19 dias. Os animais submetidos aos tratamentos cetogênicos apresentaram consumo alimentar (g) inferior, porém, consumo energético (Kcal) e ganho de peso corporal (g) semelhantes ao grupo Controle. As análises comportamentais demonstraram que os animais dos grupos experimentais não diferiram entre si quanto à frequência e à duração total das crises; entretanto, os animais do grupo CetoTAGCoco tiveram menor duração média de crises no 19º dia, que o grupo Controle ($0,00 \pm 0,00$ contra $22,78 \pm 12,95$, respectivamente; $p < 0,05$). Adicionalmente, o grupo CetoTAGCoco apresentou valores inferiores de variação de frequência e de duração das crises entre o 19º e o 1º dia de tratamento, que o grupo Controle ($9,00 \pm 1,73$ contra $11,00 \pm 1,00$, para frequência, e $20,80 \pm 12,61$ contra $49,14 \pm 21,15$, para duração, respectivamente; $p < 0,05$). Os resultados do presente estudo apontam para um possível efeito protetor da dieta cetogênica à base de óleo de coco extra-virgem sobre as crises convulsivas. Tais resultados, associados a estudos que atestem a confiabilidade e a tolerância do consumo de óleo de coco, particularmente em proporções cetogênicas, poderiam indicar um benefício potencial deste óleo no controle das crises convulsivas, especialmente para indivíduos portadores de epilepsia refratária a medicamentos.

Palavras-chave: dieta cetogênica, triacilglicerol de cadeia média, óleo de coco, epilepsia.

ABSTRACT

Epilepsy is a chronic disturbance of brain function characterized by the presence of recurrent and spontaneous seizures, making one of the most frequent and severe neurological diseases, affecting approximately 50 million people worldwide, mainly children. Among these, 40% had antiepileptic drug refractory seizures. Non-drug options as surgery, vagus nerve stimulation and the ketogenic diet are timely. This diet, used since 1921 in treatment of drug-resistant epilepsy is characterized by a high concentration of lipids and often by low concentration of carbohydrates and proteins. Traditionally, the ketogenic diet use long chain triacylglycerols (LCT), however, the medium chain triacylglycerols (MCT) are considered an alternative substrate for promoting faster ketonemia-ketonuria. The oil from coconut (*Cocos nucifera L.*) is a natural source of MCT, and is used for several purposes, including therapeutic. This dissertation aims to investigate the effects of the ketogenic diet based on coconut oil and soybean oil on epileptic seizures in rats, consists of a review chapter, entitled *Drug-resistant epilepsies: an emphasis on treatment ketogenic*, and an article from the results, entitled *Effects of ketogenic diet based on coconut oil on the seizures of rats with epilepsy induced by pilocarpine*. The article deals an experimental study conducted in *Wistar* rats, divided into three groups ($n=10$), named according to the diet received, in **Control** (standard diet AIN-93G), **CetoTAGcoco** (ketogenic diet based in coconut oil; AIN-93G diet modified to contain 7% soybean oil, 22.79% of extra virgin coconut oil and 40% margarine) and **CetoTAGsoja** (ketogenic diet based in soybean oil; AIN-93G diet modified to contain 29.79% of soybean oil and 40% margarine). The ratio lipid:carbohydrate+protein of ketogenic diets was 3.5:1 (control diet, 1:11.8). The experimental period lasted 19 days. The animals fed ketogenic diets showed food intake (g) below, however, dispend energetic and weight gain similar to Control group. The behavioral analysis showed that the experimental groups did not differ in frequency and duration of seizures, however, the animals in group CetoTAGcoco had shorter duration of seizures in the 19th day, that the Control group (0.00 ± 0.00 against 22.78 ± 2.95 , respectively, $P<0.05$). Additionally, the CetoTAGcoco group presented lower variation of frequency and duration of seizures between the 19th and 1st day of treatment than the Control group (9.00 ± 1.73 against 11.00 ± 1.00 , for frequency, and 20.80 ± 12.61 against 49.14 ± 21.15 , for duration, respectively, $P<0.05$). The results of this study suggest a possible protective effect of ketogenic diet based on extra virgin coconut oil on seizures. That result, coupled with studies attesting to confidence and tolerance of the coconut oil, particularly in ketogenic ratios, indicating a potential benefit of this oil for control the seizures, especially for individuals with medically refractory epilepsy.

Key words: ketogenic diet, medium chain triacylglycerols, coconut oil, epilepsy.

LISTA DE TABELAS E QUADRO

	Pág.
Artigo de Resultados: <i>Efeito de dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre as crises convulsivas de ratos portadores de epilepsia induzida por pilocarpina</i>	
Tabela 1. Ingestão alimentar, ganho de peso, coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e consumo energético (média±DP) dos animais dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em 14 dias de experimento.....	55
Tabela 2. Frequência e duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas, relacionadas aos fatores dieta e tempo de exposição, em 19 dias de protocolo experimental.....	56
Tabela 3. Frequência e duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) nos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em diferentes períodos de tempo.....	57
Quadro 1. Composição das dietas controle, cetoTAGcoco e cetoTAGSoja.....	53

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Artigo de Resultados: <i>Efeito de dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre as crises convulsivas de ratos portadores de epilepsia induzida por pilocarpina</i>	
Figura 1. Variações da freqüência (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) entre o 19 ^o e o 1 ^o dia de experimento $\Delta(19-1)$ dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em 19 dias de protocolo experimental.....	58
Figura 2. Variações da duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) entre o 19 ^o e o 1 ^o dia de experimento $\Delta(19-1)$ dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em 19 dias de protocolo experimental.....	58
Figura 3. Freqüência (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) no 1 ^o e no 19 ^o dia do protocolo experimental dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco.	59
Figura 4. Duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) no 1 ^o e no 19 ^o dia experimental dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco.....	59
Figura 5. Freqüência média diária das crises recorrentes espontâneas (CRE) nos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, nos 19 dias do período experimental.....	60
Figura 6. Duração média diária das crises recorrentes espontâneas (CRE) nos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, nos 19 dias do período experimental.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA: Ácido araquidônico

AcAc: Acetoacetato

ADP: Difosfato de adenosina

AG: Ácido(s) graxo(s)

AGCL: Ácido(s) graxo(s) de cadeia longa

AGCM: Ácido(s)s graxo(s) de cadeia média

AGM: Ácido(s) graxo(s) monoinsaturado(s)

AGP: Ácido(s) graxo(s) poli-insaturado(s)

AGPI: Ácidos graxos poli-insaturados

AGS: ácidos graxos saturados

ATP: Trifosfato de adenosina

CAT: Catalase

CEA: coeficiência de eficiência alimentar

CetoTAGcoco: Grupo de animais sob dieta cetogênica à base de óleo de coco

CetoTAGSoja: Grupo de animais sob dieta cetogênica à base de óleo de soja

CRE: Crises recorrentes espontâneas

DC: Dieta cetogênica

DHA: Ácido docosaexaenóico

EEG: Eletroencefalograma

ELT: Epilepsia do lobo temporal

ELTP: Epilepsia do lobo temporal paradoxal

EMT: Esclerose mesial temporal

EPA: Ácido eicosapentaenóico

EROs: Espécies reativas de oxigênio

FAPEAL: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas

GABA: Ácido gama-aminobutírico

HDL: Lipoproteína de alta densidade

IMC: Índice de Massa Corpórea

K_{2p}: Canais de potássio

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

OCV: óleo de coco virgem

OOA: Oxaloacetato

PILO: Pilocarpina

PPAR α : Receptor- α ativado por proliferadores de peroxissomos

RBD: Refino, branqueamento e desodorização

RC: Restrição calórica

SE: *Status Epilepticus*

SOD: Superóxido dismutase

TCA: Ciclo do ácido tricarboxílico

TCL: Triacilglicerol de cadeia longa

TCM: Triacilglicerol de cadeia média

UCPs: Proteínas desacopladoras mitocondriais

UFAL: Universidade Federal de Alagoas

UNCISAL: Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas

VLDL: Lipoproteína de muito baixa densidade

β -HB: β -hidroxibutirato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	17
2 CAPÍTULO DE REVISÃO.....	20
<i>Epilepsias fármaco-resistentes: uma ênfase no tratamento cetogênico</i>	
2.1 Epilepsia: aspectos gerais	
2.2 Dieta cetogênica (DC)	
2.3 Dieta cetogênica: aplicação nutricional de TCM e TCL	
2.4 Óleo de coco: uma fonte promissora de TCM	
2.5 Conclusões	
2.6 Referências	
3 ARTIGO DE RESULTADOS.....	46
<i>Efeito de dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre as crises convulsivas de ratos portadores de epilepsia induzida por pilocarpina</i>	
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
5 REFERÊNCIAS.....	65
6 ANEXOS.....	68

1 INTRODUÇÃO GERAL

A epilepsia é um distúrbio cerebral causado por predisposição persistente do cérebro a gerar crises epiléticas e pelas consequências neurobiológica, cognitiva, psicossocial e social da condição, caracterizada pela ocorrência de pelo menos uma crise epilética. As crises resultam de descargas anormais dos neurônios cerebrais; o tipo de crise e suas manifestações clínicas são dependentes do grau e da localização destas descargas. A epilepsia afeta 0,5% a 1,0% da população dos países desenvolvidos. Esta prevalência pode ser ainda maior nos países em desenvolvimento, sendo a doença neurológica mais comum da infância. Aproximadamente um terço dos pacientes evolui com crises epiléticas intratáveis com medicamentos; em alguns casos, é possível o tratamento cirúrgico. Nos pacientes em que a cirurgia não é possível, a dieta cetogênica (DC) constitui uma importante opção terapêutica, principalmente em crianças (FISHER et al., 2005; NONINO-BORGES et al., 2004; PHAN, 2007).

A dieta cetogênica clássica, rica em triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), foi introduzida por Wilder, em 1921. É caracterizada por uma alta concentração de lipídeos e, frequentemente, por uma baixa concentração de carboidratos e proteínas, tendo que exceder uma proporção de 1,5:1 (lipídeos:carboidratos+proteínas), para promover cetonemia e cetonúria. Esta dieta vem sendo utilizada no tratamento de várias desordens que afetam o metabolismo e a função cerebral, como, por exemplo, em pacientes portadores de alterações nos transportadores de glicose e de epilepsia (KOSSOFF, 2004; TRAUJ et al., 2000; VAZ et al., 2006).

A proposta de substituição dos TCL por triacilgliceróis de cadeia média (TCM), como substratos energéticos alternativos no tratamento cetogênico, fundamenta-se no efeito destes na elevação dos corpos cetônicos, um dos prováveis mecanismos de ação da DC clássica. Por apresentarem digestão e absorção mais rápidas que os TCL, em virtude de suas características metabólicas, os TCM promovem um aumento mais rápido da cetonemia, podendo, portanto, consistir em uma ferramenta terapêutica interessante (CALABRESE et al., 1999; YUDKOFF et al., 2004).

Os óleos de coco e palma constituem as fontes de TCM mais frequentemente utilizadas para os diversos fins, inclusive terapêuticos. O óleo proveniente do coco (*Cocos nucifera* L.), particularmente, fruto abundante na região Nordeste do Brasil, inclusive em Alagoas, apresenta elevada proporção de ácidos graxos saturados (AGS), especialmente de ácido láurico (12:0; 45-50%) (LI et al., 1990). Este produto é de baixo custo e bastante utilizado na indústria química e de cosméticos. A

indústria farmacêutica também vem se beneficiando de suas propriedades antivirais, antifúngicas e bactericidas, especialmente atribuídas ao ácido láurico (FUENTES, 1998; LI et al., 1990; PETSCHOW et al., 1996).

Ao coco e ao seu óleo extraído a partir da copra, a polpa seca do fruto, uma vez que contem principalmente AGS, foi atribuída ação hipercolesterolêmica. Atualmente, o óleo de coco virgem (OCV), extraído da polpa fresca, prensada a frio, tem ganhado popularidade no campo científico e entre o público geral, por ser mais benéfico que o óleo obtido a partir da copra, uma vez que a sua forma de extração retém mais componentes biologicamente ativos, tais como vitamina E e polifenóis.

Estudos que avaliaram os efeitos *in vitro* do OCV sobre parâmetros lipídicos séricos, inclusive sobre a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL), evidenciaram uma ação benéfica, como o aumento da concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) e diminuição da de LDL. Além disso, observou-se um alto potencial antioxidante desse óleo na proteção da LDL contra o estresse oxidativo induzido por oxidantes fisiológicos, efeito atribuído ao seu conteúdo em polifenóis (NEVIN e RAJAMOHAN, 2004). Por outro lado, estudos de avaliação do potencial efeito do óleo de coco sobre as crises epiléticas, no contexto de uma DC, são escassos (ZUPEC-KANIA et al., 2008). Portanto, a elaboração de protocolos dietéticos à base de óleo de coco pode trazer contribuição adicional à investigação de seus efeitos metabólicos e de sua aplicação terapêutica, inclusive em proporções cetogênicas.

A presente dissertação, composta por um capítulo de revisão e um artigo de resultados, visa avaliar os efeitos da aplicação do óleo de coco, em proporções cetogênicas, sobre as crises epiléticas, uma alternativa terapêutica potencialmente segura e, sobretudo, de baixo custo, para o tratamento dos portadores desse mal.

O capítulo de revisão, intitulado *Epilepsias fármaco-resistentes: uma ênfase no tratamento cetogênico*, reúne informações da literatura científica sobre epilepsia, em seus aspectos gerais, variando desde suas classificações até os potenciais tratamentos, com ênfase na terapia cetogênica. A revisão enfatiza, ainda, a aplicação do óleo de coco como uma fonte promissora de TCM de baixo custo, relatando a sua aplicação terapêutica em inúmeras condições clínicas e na terapia antiepilética.

O artigo de resultados, intitulado *Efeito de dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre as crises convulsivas de ratos portadores de epilepsia induzida por pilocarpina*, trata de um estudo experimental, realizado em ratos *Wistar* ($n=30$),

desmamados aos 30 dias de idade, no qual foram testadas diferentes dietas, uma controle (AIN-93) e duas cetogênicas, após o aparecimento de crises recorrentes espontâneas, durante 19 dias. Dentre as dietas cetogênicas, uma foi à base de óleo de soja, nos moldes da dieta clássica, e outra à base de óleo de coco extra-virgem, como tratamento alternativo. O objetivo da pesquisa consistiu em investigar os efeitos do óleo de coco extra-virgem, em concentrações cetogênicas, sobre as crises epiléticas, notadamente frequência e tempo de duração, em ratos.

2 CAPÍTULO DE REVISÃO

Epilepsias fármaco-resistentes: uma ênfase no tratamento cetogênico

2.1 Epilepsia: aspectos gerais

A epilepsia é uma das mais antigas doenças neurológicas conhecidas pela humanidade e a condição neurológica grave mais comum. O termo epilepsia é derivado da palavra grega *epilambanein*, que significa apoderar-se, tomar de surpresa, algo que vindo de fora ataca subitamente, originando, assim, o termo ataque epiléptico. A escola de Hipócrates, em 500 a.C, foi a primeira a sugerir que o cérebro é o sítio desta doença e, já àquela época, propôs que a epilepsia poderia tornar-se crônica e intratável, caso não fosse tratada de maneira efetiva e precoce. Atualmente, a epilepsia é a doença neurodegenerativa mais freqüente, após o acidente vascular cerebral; estima-se que 1% da população, cerca de 50 milhões de pessoas no mundo, sofra desse mal, especialmente comum na infância e em pessoas idosas. A sua incidência varia bastante, oscilando em torno de 40 – 70/100.000 pessoas por ano nos países industrializados e cerca de 100 – 190/100.000 pessoas, nos países em desenvolvimento (ACHARYA et al., 2008; WHO, 2003, 2005).

Existem poucos estudos sobre a prevalência e não há estudos publicados sobre a incidência de epilepsia no Brasil. Baseando-se em estudos internacionais, pode-se inferir aproximadamente 340 mil novos casos ao ano (estimativa de incidência anual de 190/100.000 habitantes), 1,8 milhões de pessoas com epilepsia ativa e nove milhões de pessoas que já apresentaram crises epilépticas alguma vez em suas vidas, no país. Embora seja um problema predominantemente tratável, nos países em desenvolvimento a maioria das pessoas permanece sem tratamento, provavelmente pelo estigma que atinge as pessoas com epilepsia. As altas taxas de incidência e prevalência nos países em desenvolvimento afetam a economia, na medida em que aumentam os custos econômicos diretos da doença, provenientes dos gastos com drogas e hospitalizações, além de outros gastos, a exemplo dos cuidados residenciais. Ao mesmo tempo, aumentam os custos econômicos indiretos, decorrentes da perda da produção econômica por desemprego, licença médica ou morte prematura (NETO e MARCHETTI, 2005; SCORZA e CAVALHEIRO, 2004).

Em função de sua característica fisiopatogênica, a epilepsia acomete os indivíduos a despeito de aspectos étnicos, climáticos ou regionais. Os fatores de risco mais comuns para o desenvolvimento da epilepsia são doença cerebrovascular, tumores cerebrais, álcool, traumatismos cranianos, malformações do desenvolvimento cortical, herança genética e infecções do sistema nervoso

central. Nos países em desenvolvimento, infecções endêmicas, como a malária e a neurocisticercose, parecem ser importantes fatores de risco. Adicionalmente, pessoas com epilepsia apresentam um risco aumentado de morte prematura; a epilepsia sintomática pode reduzir a expectativa de vida em até 18 anos. Morte súbita, traumas, suicídios, pneumonias e *status epilepticus* (SE) são mais comuns em pessoas quem têm epilepsia do que naquelas sem o transtorno (DUNCAN et al., 2006).

A epilepsia é um distúrbio cerebral caracterizado por uma predisposição duradoura a gerar crises epiléticas, com consequências neurobiológica, cognitiva, psicológica e social, enquanto que a crise epilética é uma ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas provocados por descargas anormais excessivas, hipersíncronas e transitórias, de um grupo de células nervosas localizadas ou de ambos os hemisférios cerebrais. Devido ao envolvimento de neurônios hiperexcitáveis, um pressuposto básico associa a patogênese da epilepsia e a geração de atividade neuronal sincronizada, com um desequilíbrio entre a neurotransmissão inibitória, mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA), e excitatória, mediada pelo glutamato, em favor deste último (FISHER et al., 2005; SCORZA et al., 2009; TILELLI et al., 2003).

A origem das descargas anormais, focais ou generalizadas, e o comprometimento ou não da consciência são os principais parâmetros utilizados na classificação das crises epiléticas. Assim, as crises podem ser focais (parciais) quando a descarga epilética tem evidência eletroencefalográfica de início restrito à determinada área cortical, podendo se propagar a outras partes do cérebro durante a crise, ou generalizadas, quando as descargas neuronais anômalas são provenientes de ambos os hemisférios cerebrais. As crises parciais podem ocorrer com ou sem perda da consciência, crises parciais complexas ou simples, respectivamente, ou, ainda, evoluir secundariamente para uma crise generalizada. Na insuficiência de informação ou quando a característica da crise for distinta daquelas classificadas como parcial ou generalizada, utiliza-se o termo “crises não classificáveis” (DUNCAN et al., 2006; TILELLI et al., 2003).

O mais recente relatório proposto pela *International League Against Epilepsy* (ILAE) classifica as crises, de acordo com a localização do insulto inicial, em crises epiléticas generalizadas ou crises epiléticas focais, e de acordo com o tipo de causa (etiologia), em genética, estrutural ou metabólica, ou de causa desconhecida. As crises epiléticas generalizadas se originam em algum ponto do cérebro e

envolvem redes neuronais bilaterais, incluindo estruturas corticais ou subcorticais, mas, não necessariamente o interior do córtex. As crises epilépticas focais, por sua vez, se originam em redes neuronais limitadas a um hemisfério cerebral; atualmente, sua classificação em parcial (simples e complexa) foi eliminada. A epilepsia genética é o resultado direto de um defeito genético conhecido ou presumido, em que as crises são o principal sintoma do distúrbio, enquanto que a epilepsia estrutural ou metabólica ocorre como resultado de doenças adquiridas, a exemplo do acidente vascular encefálico, traumas e infecções (BERG et al., 2010).

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é a forma mais comum da doença e um dos tipos mais freqüentes de epilepsia fármaco-resistente, provavelmente afetando cerca de 40% de todos os pacientes. A atividade epiléptica surge no sistema límbico do lobo temporal e leva ao aparecimento de crises parciais. Indivíduos afetados com ELT apresentam tipicamente descrição clínica similar, incluindo lesões precipitantes iniciais, tais como o *status epilepticus*, traumatismo craniano, encefalite ou convulsões febris na infância. Geralmente, há um período latente de vários anos entre a lesão inicial e o aparecimento da ELT crônica, caracterizada por crises recorrentes espontâneas (CRE), provenientes de focos no lobo temporal, associadas a deficiências de aprendizado e memória. Adicionalmente, a atrofia de estruturas temporais mesiais também tem sido associada com a ELT e esclerose hipocampal, que é a anormalidade histológica mais freqüente nesta forma de epilepsia (ACHARYA et al., 2008; EBERT et al., 2002; SCORZA et al., 2009).

Uma vez que a formação hipocampal parece ser uma importante estrutura na ELT, vários autores têm investigado e relatado alterações neuroquímicas nesta área. A esclerose hipocampal é caracterizada por uma perda severa de neurônios, principalmente nas áreas CA1 e CA3 do hipocampo e do giro denteado. Apesar de sua importância na ELT, os mecanismos patogênicos envolvidos nesta patologia hipocampal ainda não foram identificados. Se a esclerose hipocampal representa a causa ou a consequência da atividade convulsiva crônica e fármaco-resistente da ELT, também precisa ser esclarecido (BAE et al., 2010; SCORZA et al., 2009).

De acordo com Zaveri et al. (2001), dois subtipos de ELT podem ser definidos através de observações clínicas e análise do tecido hipocampal resseccionado durante o procedimento cirúrgico para ELT fármaco-resistentes: (a) esclerose mesial temporal (EMT), caracterizada por extensas mudanças no hipocampo e bom resultado cirúrgico; e (b) epilepsia do lobo temporal paradoxal (ELTP), caracterizada por perda celular mínima e, comparativamente, pobre resultado cirúrgico. Em ambos

os subtipos, os pacientes apresentam crises que parecem ter início no lobo temporal medial.

Crises parciais características da ELT têm sido relacionadas a impacto importante no cérebro, bem como à eventual evolução desta síndrome. Assim, diferentes autores têm demonstrado que as crises em longo prazo levam a uma complexa cascata química, provocando alterações neuroquímicas em neurônios e células gliais. A lesão cerebral resultante das crises é um processo dinâmico que engloba múltiplos fatores, que contribuem para a morte celular neuronal. Estes incluem fatores genéticos, extensa excitotoxicidade mediada pelo glutamato, levando a distúrbios no metabolismo intracelular de eletrólitos, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, depleção de fatores de crescimento e aumento da concentração de citocinas. Em nível celular, a intensa atividade convulsiva inicia um influxo maciço de cálcio via canais iônicos ativados por voltagem do tipo N-metil-D-aspartato. Íons intracelulares elevados levam a cascatas bioquímicas que disparam a morte neuronal aguda após a lesão precipitante inicial. Adicionalmente, altos níveis de cálcio intracelular induzem a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), ativação de proteínas desacopladoras e ativação de inúmeras enzimas catabólicas, que são capazes de deteriorar a função celular. Estas modificações promovem remodelação sináptica, que pode levar a mudanças na excitabilidade de neurônios de estruturas temporais, levando a danos no cérebro e a uma hiperexcitabilidade permanente. Infelizmente, a ELT não é uma disfunção neuronal facilmente compreendida e as alterações neuroquímicas encontradas no cérebro de animais experimentais, bem como de humanos, mostram alto grau de complexidade (ACHARYA et al., 2008; SCORZA et al., 2009).

Os modelos experimentais de epilepsia podem ser classificados de acordo com o tipo de crise que mimetizam, com os tipos de estímulos, formas de indução, formas de aplicação, tipos de animais, redes neuronais envolvidas e sistemas de estudos (*in vivo* ou *in vitro*). Diferentes modelos animais de epilepsia podem ser produzidos a partir da aplicação sistêmica ou localizada de substâncias químicas, como o ácido caínico e a pilocarpina (PILO), ou por estimulação elétrica artificial de determinadas regiões do cérebro, como os modelos de abrasamento ou eletroestimulação (do inglês *kindling*). Nestes modelos ocorre um estado de atividade epiléptica contínua, *Status Epilepticus*, seguido por um período latente livre de crises epilépticas. Após este período, iniciam-se crises recorrentes espontâneas, caracterizando a fase crônica. O modelo da pilocarpina tem sido amplamente

utilizado em função da facilidade técnica e, principalmente, pela semelhança fisiopatológica com a ELT (FURTADO, 2003; McNAMARA et al., 2006; TRINDADE FILHO, 2000).

A administração sistêmica da pilocarpina em ratos, um potente agonista colinérgico muscarínico, promove alterações comportamentais e eletrográficas, que podem ser divididas em três períodos distintos: (a) período agudo, que se caracteriza pelo surgimento do SE, onde a atividade convulsiva límbica, detectada no eletroencefalograma (EEG), e as alterações comportamentais, como convulsões motoras repetidas, perduram por até 24h e podem levar a lesões cerebrais amplas, afetando, principalmente, o hipocampo, o complexo amigdalóide e algumas regiões do tálamo; (b) período silencioso, caracterizado pela normalização progressiva do comportamento e do EEG, com duração de 4 a 44 dias; e (c) período crônico, que se caracteriza pelo aparecimento de crises epiléticas recorrentes espontâneas. As CRE assemelham-se às crises parciais complexas dos seres humanos e ocorrem entre 2 a 3 vezes por semana, por animal. O modelo da PILO pode ser associado às crises do despertar, pois a maioria das crises ocorre após um período de sono do animal (SCORZA et al., 2009; TILIELLI et al., 2003).

Este modelo tem sido utilizado com sucesso em ratos adultos, camundongos e ratos em desenvolvimento para reproduzir experimentalmente vários aspectos da ELT humana, incluindo características histológicas, comportamento em longo prazo, EEG e a ocorrência de crises parciais e generalizadas. No entanto, existem diferenças relacionadas à idade na susceptibilidade de ratos jovens para o desenvolvimento de epilepsia crônica, refletindo, dessa forma, a complexidade da atividade convulsiva em cérebro de animais imaturos, o que fornece evidências para uma aparente distinção entre os mecanismos de epileptogênese no sistema nervoso maduro e em desenvolvimento. O modelo de epilepsia da pilocarpina, com seus três períodos distintos, pode ser estabelecido apenas em animais com idade superior a 18 dias de vida, demonstrando que a ocorrência de SE em ratos após essa idade é capaz de induzir mudanças morfológicas e fisiológicas, que geram crises espontâneas na vida tardia. Atualmente é um dos modelos mais utilizados em estudos de investigação dos mecanismos básicos de epileptogênese, bem como dos efeitos antiepiléticos de novos compostos (DOS SANTOS et al., 2000; GOFFIN et al., 2007; PRIEL et al., 1996).

Um significativo número de pessoas, cerca de 25% dos afetados pela epilepsia, apresentam convulsões incontroláveis, que não respondem às drogas

antiepilépticas existentes. Além disso, essas drogas fornecem apenas tratamento sintomático, sem ter qualquer influência sobre o curso da doença. Assim, existe uma necessidade permanente de desenvolvimento de abordagens terapêuticas alternativas, que previnam a epileptogênese após a injúria inicial. A partir desta perspectiva, a identificação de novos compostos ou de abordagens que promovam neuroproteção do hipocampo após o início do SE é imperativa. Particularmente importante nos casos de epilepsia fármaco-resistente, a dieta cetogênica apresenta um efeito neuroprotetor, aceitabilidade por um longo período de tempo e poucos efeitos adversos, quando comparada às drogas antiepilépticas existentes, sendo utilizada por mais de um século como terapia alternativa no tratamento da epilepsia, especialmente na infância. Espera-se que esta terapia seja eficaz em, pelo menos, um terço dos pacientes, resultando em redução ou controle das crises (ACHARYA et al., 2008; LINARD et al., 2010; NONINO-BORGES et al., 2004; SPELLMAN, 2008; ZUPEC-KANIA e SPELLMAN, 2008).

2.2 Dieta cetogênica (DC)

O jejum e outros regimes dietéticos vêm sendo utilizados para tratar a epilepsia desde pelo menos 500 a.C. Com o objetivo de mimetizar o metabolismo do jejum, a DC foi introduzida por pediatras da Universidade Johns Hopkins, em 1920, onde se postulou que o efeito antiepiléptico do jejum resultava da cetose. A ingestão limitada de carboidratos e proteínas forçava o corpo a usar corpos cetônicos como fonte de combustível predominante (LAFREVE e ARONSO, 2000). Qualquer dieta que forneça lipídeos para a geração de cetonas pode ser chamada de cetogênica. Por duas décadas essa terapia foi amplamente utilizada, mas, com o advento de novas drogas antiepilépticas seu uso declinou drasticamente. Até o final do século XX esta terapia estava disponível em apenas um pequeno número de hospitais infantis (WHELESS, 2008). No entanto, nos anos recentes, tem-se testemunhado um interesse crescente dos neuropediatras, epileptologistas e neurologistas em geral no uso da DC para o tratamento da epilepsia refratária, particularmente em crianças e adolescentes (FREEMAN et al., 2006).

Os tratamentos tradicionalmente usados para epilepsia incluem fármacos, intervenções cirúrgicas e estimulação do nervo vago. No entanto, 25% das crianças tratadas continuam a ter convulsões incontroláveis; assim, a DC é uma opção de tratamento para muitas dessas crianças (ZUPEC-KANIA e SPEELMAN, 2008). Além

disso, a DC tem sido usada no tratamento de várias outras doenças que afetam o metabolismo e a função cerebral, incluindo defeitos no transporte da glicose e mitocondriopatias (TAHA et al., 2005). A eficácia da dieta no tratamento da epilepsia em humanos tem sido muito bem estabelecida, evidenciando que mais de dois terços das crianças que foram mantidas neste tratamento exibiram mais de 50% de melhora em suas crises (BOUGH et al., 2000).

Certos distúrbios metabólicos também podem ser uma indicação especial para a DC, a exemplo da deficiência do complexo piruvato desidrogenase, doença mitocondrial herdada na qual o paciente é incapaz de oxidar glicose e, conseqüentemente, é dependente de corpos cetônicos como substratos energéticos. Similarmente, pacientes com deficiência da proteína transportadora de glicose GLUT-1 não podem utilizar carboidratos como uma fonte combustível efetiva, sendo, assim, dependentes de corpos cetônicos. Em ambos os distúrbios, a DC pode fornecer um combustível alternativo, tratando, dessa forma, as crises associadas (HUFFMAN e KOSSOFF, 2006).

Este tratamento dietético é caracterizado por alta concentração de lipídeos e, frequentemente, baixa concentração de carboidratos e proteínas. Foi originalmente descrito como uma proposta terapêutica para a epilepsia humana por Wilder, em 1921, e consiste de aproximadamente 80% da energia alimentar proveniente de lipídeos, em uma proporção média, com os demais macronutrientes, de 4:1 (lipídeos:carboidratos+proteínas) (VAMECQ et al., 2005). O alto aporte de calorias derivadas de lipídeos faz com que o ATP seja produzido prioritariamente a partir destes nutrientes, induzindo numerosas alterações no metabolismo dos macronutrientes (DAHLIN et al., 2006).

Apesar da eficácia clínica da DC estar bem documentada, os mecanismos envolvidos na ação antiepiléptica permanecem sob investigação. A compreensão desses mecanismos ajuda não só a aperfeiçoar o seu uso clínico, mas, também, no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas (SCHWARTZKROIN, 1999).

As primeiras teorias sobre os mecanismos de ação da DC focam no papel dos corpos cetônicos, embora estudos mais recentes tenham expandido o entendimento das mudanças moleculares induzidas pela dieta e seu potencial papel no controle das crises. Acredita-se que os mecanismos de ação envolvidos no sucesso da dieta, objeto de pesquisas em curso, sejam multifatoriais. Entre os principais mecanismos propostos têm-se: (1) ação direta dos principais corpos cetônicos: acetoacetato (AcAc), β -hidroxibutirato (β -HB) e acetona; (2) acidose; (3) desidratação; (4) ação

direta dos ácidos graxos/ ácidos graxos poliinsaturados; (5) estado energético alterado; (5) restrição calórica; e (6) neuroproteção (HUFFMAN e KOSSOFF, 2006).

Os efeitos anticonvulsivantes dos corpos cetônicos têm sido postulados como o principal mecanismo de ação da DC. Quando os lipídeos são metabolizados como fonte de energia primária, o fígado produz corpos cetônicos, que se encontram elevados no soro e no líquido cérebro-espinhal de indivíduos em DC. No estado cetótico, β -HB e AcAc contribuem fortemente para as necessidades energéticas cerebrais. No estado alimentado (glicólise), uma fração variável do piruvato é ordinariamente convertida a acetil-CoA, via piruvato desidrogenase. Em contraste, no estado cetótico, todos os corpos cetônicos geram acetil-CoA, que entra no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), via citrato sintase. Isto envolve o consumo de oxaloacetato (OOA), um substrato do TCA necessário para a transaminação do glutamato a aspartato. Então, estando o OOA menos disponível, menos glutamato é convertido a aspartato e, assim, mais glutamato estará disponível para a síntese do GABA, principal neurotransmissor inibitório responsável pela diminuição das convulsões, e glutamina (um precursor essencial do GABA), através da descarboxilase de ácido glutâmico. O aumento do nível cerebral do GABA está associado à potente ação anticonvulsivante encontrada na DC (FREEMAN et al., 2006; HUFFMAN e KOSSOFF, 2006).

Segundo Bough et al. (2000), quanto maior a cetonemia proporcionada pela DC, avaliada pelos níveis de β -HB, principal corpo cetônico da corrente sanguínea no jejum prolongado e sob consumo de dieta com altas concentrações lipídicas, maior a resistência a convulsões de animais submetidos a dietas com diferentes concentrações de lipídeos. Em outro estudo realizado pelo mesmo grupo, verificou-se que animais jovens alimentados com uma dieta comercial para roedores, restrita em calorias por limitação na oferta, apresentaram resistência significativamente maior às crises, em comparação àqueles alimentados com a mesma dieta *ad libitum*. Os resultados apresentados sugerem que a idade e a restrição calórica (RC) são considerações importantes para a execução da DC (BOUGH et al., 1999).

Observações clínicas em crianças portadoras de epilepsia confirmam a importância da idade de introdução da dieta cetogênica. Em um estudo realizado com 150 crianças, observou-se que aquelas mais jovens obtiveram uma redução significativa nas crises convulsivas. Em outra experiência, incluindo crianças, adolescentes e adultos jovens, verificou-se que a dieta cetogênica foi igualmente eficaz e bem tolerada em todas as faixas etárias, não representando a idade de

introdução da dieta uma variável importante para os resultados clínicos obtidos; entretanto, o maior índice de indivíduos livres das convulsões encontrava-se na faixa etária dos 2 aos 8 anos de idade. A maior facilidade de transporte dos corpos cetônicos, através da barreira hematoencefálica, e o aumento na expressão das enzimas necessárias para a formação dos corpos cetônicos nos cérebros de crianças mais jovens são algumas alterações fisiológicas associadas a este efeito (COPPOLA et al., 2002; FREEMAN et al., 1998; NEHLIG, 1999).

Vários estudos têm afirmado o papel da restrição calórica como uma terapia dietética que traz benefícios à saúde e aumenta a longevidade. A investigação da influência da RC sobre a susceptibilidade às crises em um modelo genético de epilepsia idiopática demonstrou que a RC, sozinha, foi suficiente para retardar a susceptibilidade às crises, em camundongos jovens e adultos, devido à redução da produção de energia pela via glicolítica cerebral, limitando a habilidade dos neurônios em alcançar e/ou manter altos níveis de atividade sináptica, necessária para a gênese das crises. Além disso, os níveis de glicose sanguínea foram inversamente correlacionados com a diminuição das crises (GREENE et al., 2001). Bough et al. (2003) demonstraram que a RC sozinha pode ser anticonvulsivante e o tratamento com uma DC restrita em calorias apresenta efeitos anticonvulsivantes e antiepileptogênicos, verificados pela diminuição da excitabilidade neuronal no giro denteado de animais *in vivo*.

Protocolos dietéticos que aumentam os níveis séricos de cetonas, tais como a DC e a restrição calórica, oferecem ampla proteção contra uma multiplicidade de doenças neurológicas agudas e crônicas. Estudos prévios têm sugerido que a DC pode reduzir a formação de radicais livres no cérebro, mediando, assim, a neuroproteção, através de atividade antioxidante. Uma combinação do β -HB e do AcAc reduziu a morte neuronal e preveniu mudanças nas propriedades da membrana neuronal induzidas pelo glutamato; as cetonas ainda diminuíram significativamente a produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio (EROs). Estes mecanismos podem, em parte, contribuir para a atividade neuroprotetora dos corpos cetônicos, pela restauração da função bioenergética normal em face do estresse oxidativo (MAALOUF et al., 2007).

O potencial papel dos ácidos graxos no controle das crises tem se tornado tema de estudo nos últimos anos, apesar de não haver evidências irrefutáveis ligando os altos níveis lipídicos à melhora nas crises. Os lipídeos tradicionalmente consumidos na DC são principalmente saturados, porém, a síntese de ácidos graxos

poli-insaturados (AGPI) aumenta com a DC, podendo proporcionar um novo mecanismo anticonvulsivante (HUFFMAN e KOSSOFF, 2006). Os ácidos docosaexaenóico (DHA, C22:6 ω 3), araquidônico (AA, C20:4 ω 6) e eicosapentaenóico (EPA, C20:5 ω 3) estão ligados amplamente à função e à saúde cardiovascular. Estudos têm demonstrado que, no miócito cardíaco, os AGPI promovem uma inibição rápida dos canais de cálcio tipo-L e canais de sódio ativados por voltagem. Similar achado tem sido observado no tecido neuronal, onde o DHA e o EPA diminuíram a excitabilidade neuronal no hipocampo (BOUGH e RHO, 2007). Experimentalmente, modelos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que a injeção ou a infusão de AA e DHA reduziram a susceptibilidade às crises. No estudo realizado por Cunnane et al. (2002), a DC promoveu não só cetose moderada, como elevou a concentração de ácidos graxos livres no soro. Além disso, alguns AGPI foram facilmente β -oxidados ajudando, dessa forma, a manter o estado cetogênico.

Adicionalmente, ácidos graxos podem agir como hormônios em receptores celulares específicos, afetando, dessa forma, vias metabólicas celulares e a expressão de genes responsáveis pela síntese de neurotransmissores. No cérebro, os AGPI agem como ligantes para o receptor- α ativado por proliferadores de peroxissomos (PPAR α) nos astrócitos, o que leva à expressão de enzimas cetogênicas chave. Isto leva a um efeito no metabolismo intermediário dos aminoácidos, alterando a síntese de neurotransmissores inibitórios *versus* excitatórios, em proporções que favorecem o controle das crises. O principal mecanismo de neuroproteção oferecido pelos AGPI é a diminuição da transmissão sináptica glutamatérgica; esta diminuição é subsequente à inibição dos canais de cálcio e sódio dependentes de voltagem. Além disso, observou-se que os AGPI ativam uma família distinta de canais de potássio (K_{2P}), modulando a hiperpolarização da membrana celular e a consequente redução da excitabilidade celular (HUFFMAN e KOSSOFF, 2006; VAMECQ et al., 2005).

Além da sua ação direta sobre a excitabilidade neuronal, os AGPI também agem indiretamente limitando a excitotoxicidade e a neurodegeneração. Eles regulam a expressão de numerosos genes no cérebro, via fatores de transcrição, tais como os PPAR α . A ativação dos PPAR α induz a expressão das proteínas desacopladoras mitocondriais (UCPs); recentes evidências sugerem, ainda, que os AGPI são necessários para a atividade da UCP mitocondrial. As UCPs estão amplamente implicadas na regulação da excitabilidade e sobrevivência neuronal. O efeito desacoplador efetuado pelas UCPs reduz a força motriz protônica, dissocia ou

desacopla o transporte de elétrons e a produção de ATP e, indiretamente, reduz a produção de EROS. Assim, a DC rica em AGPI atua induzindo a expressão das UCPs, estimulando a biogênese mitocondrial e, conseqüentemente, a produção de energia, compensando a elevação das EROS induzida pelas crises e a disfunção neuronal, fornecendo um efeito neuroprotetor (BOUGH e RHO, 2007).

Outro mecanismo de ação proposto envolve a alteração no estado energético induzida pela DC. Modelos animais têm demonstrado que a cetose induz um aumento na relação ATP/ADP, favorecendo um aumento na carga energética. Embora as crises sejam consumidoras de energia, requerendo, dessa forma, ATP, este mecanismo propõe que existe um aumento basal nos processos dependentes de ATP, como a ativação da bomba de sódio, levando à hiperpolarização celular e ao aumento da captação de glutamato pelos astrócitos, a partir do espaço extracelular, diminuindo a disponibilidade deste neurotransmissor excitatório necessário às crises (HUFFMAN e KOSSOFF, 2006).

A acidose conseqüente da DC também tem sido reconhecida como um dos mecanismos anticonvulsivantes da DC. Este mecanismo está tipicamente associado com a desidratação (remoção do excesso de água e sódio do corpo). Como o edema celular pode causar sincronia e o recrutamento neuronal necessários à propagação da crise, acredita-se que a desidratação possa prevenir o edema celular, com conseqüente ação anticonvulsivante. No entanto, os estudos baseados na mudança de eletrólitos e água não chegaram a um consenso. Existem vários prováveis mecanismos pelos quais a acidose pode inibir as crises; uma das hipóteses é que o pH extracelular reduzido inibe os canais de sódio e cálcio ativados por voltagem e modulam os receptores GABA. Outros estudos sugerem que a acidose extracelular aumenta as concentrações de adenosina extracelular, que ativa os seus receptores (adenosina - A1) e receptores de ATP, reduzindo a atividade ligada às crises, em fatias de cérebro (HUFFMAN e KOSSOFF, 2006; VAMECQ et al., 2005; ZIEMANN et al., 2008).

Para o tratamento de crianças com epilepsia refratária, dois tipos de dietas cetogênicas foram, até agora, desenvolvidas: o modelo clássico, caracterizado por dieta rica em triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), e um segundo modelo, desenvolvido mais recentemente, baseado em triacilgliceróis de cadeia média (TCM). O consumo de ambos os tipos de dieta produz cetonemia e cetonúria em indivíduos e animais (LIU et al., 2003).

A proposta de substituição dos TCL por TCM, como substratos energéticos alternativos no tratamento cetogênico, fundamenta-se em seu efeito na elevação dos corpos cetônicos, um dos prováveis mecanismos de ação da DC clássica. Por apresentarem digestão e absorção mais rápidas que os TCL, em virtude de suas características bioquímicas, os TCM promovem um aumento mais rápido da cetonemia, podendo, portanto, consistir em uma ferramenta terapêutica promissora (CALABRESE et al., 1999; YUDKOFF et al., 2004).

2.3 Dieta cetogênica: aplicação nutricional de TCM e TCL

Os lipídeos constituem um grupo de compostos orgânicos diferentes entre si, exibindo como característica comum a insolubilidade em água. Nos organismos vivos, gorduras e óleos, constituídos por uma molécula de glicerol esterificada a três moléculas de ácidos graxos (AG), são as principais formas de armazenamento de energia. Os AG são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas de comprimento entre 4 e 36 carbonos, saturadas (sem duplas ligações) ou insaturadas, com uma ou mais duplas ligações, ramificadas ou não (NELSON e COX, 2008).

Os ácidos graxos seguem diferentes destinos metabólicos em função do seu comprimento de cadeia e grau de saturação, sendo classificados em: ácidos graxos de cadeia curta (contendo de 4-6 átomos de carbono; C4-6), ácidos graxos de cadeia média (C8-12), ácidos graxos de cadeia longa (C14-18) e ácidos graxos de cadeia muito longa (>C20). A diferença metabólica entre os ácidos graxos começa no trato gastrointestinal (TGI), onde os ácidos graxos de cadeia média (AGCM) são absorvidos mais eficientemente do que os ácidos graxos de cadeia longa (AGCL) (PAPAMANDJARIS et al., 1998).

O comprimento da cadeia dos AG confere diferenças importantes no que concerne a sua absorção e ao seu metabolismo; os triacilgliceróis que contêm ácidos graxos de cadeia curta e média são rapidamente hidrolisados, por intermédio das lipases lingual e gástrica, e os seus AG são, então, absorvidos pelas células intestinais, enquanto que aqueles que contêm ácidos graxos de cadeia longa e muito longa precisam da ação emulsificante da bile e da ação da lipase pancreática para que seus AG possam passar através das membranas celulares intestinais. Adicionalmente, os ácidos graxos de cadeia curta e média difundem-se pela circulação portal para chegarem ao fígado, diferente dos ácidos graxos de cadeia

longa e muito longa, que são re-esterificados, transformando-se novamente em triacilgliceróis, os quais são empacotados nos quilomicrons e liberados na linfa para chegarem ao fígado. Depois que chegam ao fígado, os ácidos graxos de cadeia curta e média sofrem β -oxidação, formando acetil coenzima A; os ácidos graxos de cadeia longa, por sua vez, são misturados ao *pool* dos ácidos graxos hepáticos, elevando as lipoproteínas de baixa densidade (CATER et al., 1997).

Os TCM são moléculas apolares formadas por três ácidos graxos saturados contendo de 6 a 12 átomos de carbono, esterificados ao glicerol. São compostos, principalmente, por ácidos graxos caprílico (C8:0; 50-80%) e cáprico (C10:0; 20-50%), com uma menor contribuição dos ácidos capróico (C6:0; 1-2%) e láurico (C12:0; 1-2%). São produzidos, tradicionalmente, pela hidrólise e destilação dos AG a partir dos óleos de coco e palma. Os AGCM são, então, misturados em uma proporção desejada e esterificados com o glicerol para formar triacilgliceróis. Os TCM foram introduzidos na prática clínica há aproximadamente 50 anos, visando o tratamento de disfunções na absorção lipídica e como fonte de energia, substituindo as dietas baseadas nos TCL. Adicionalmente, os TCM têm sido aplicados no tratamento da fibrose cística, da epilepsia, no controle de peso e na melhora do desempenho no exercício. Desde então, eles têm sido utilizados em um grande número de alimentos, aplicações nutricionais, preparações farmacêuticas humanas e veterinárias e na cosmética, devido às vantagens que apresentam sobre os TCL (CALABRESE et al., 1999; FERREIRA et al., 2003; TRAUUL et al., 2000).

Devido às desvantagens apresentadas pela DC composta por TCL, como, por exemplo, baixa palatabilidade e difícil preparo e administração, ocasionadas por quantidades insuficientes de carboidratos, Huttenlocher et al. (1971) introduziram a DC contendo TCM, que superou parcialmente essas desvantagens, devido ao fornecimento de 70% das calorias a partir dos TCM, quando comparada à DC clássica, com 87% das calorias provenientes de TCL. Além disso, eles demonstraram que a DC contendo TCM foi igualmente eficaz na produção de cetose e no controle das crises, comparada à DC baseada nos TCL. O principal benefício apresentado pelos TCM é permitir uma maior concentração de carboidratos comparada a DC clássica, com conseqüente aumento da palatabilidade. Além disso, existem menos incidentes associados à formação de cálculo renal, hipoglicemia, cetoacidose, constipação, diminuição da densidade óssea e retardo no crescimento (LIU, 2008; SILLS et al., 1986).

A análise do perfil lipídico sérico é outra importante ferramenta de monitoramento do tratamento cetogênico, especialmente considerando o impacto que elevadas concentrações de lipídeos dietéticos podem representar para a saúde do indivíduo, notadamente para o sistema cardiovascular. Poucos são os dados relativos a esse controle, mas, em uma pesquisa realizada com crianças, a dieta cetogênica clássica proporcionou uma significativa elevação dos níveis de LDL e da razão colesterol total/ HDL, o que pode sugerir um aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, especialmente ao considerar o período prolongado de aplicação do tratamento. No grupo de crianças sob a dieta cetogênica rica em TCM, por outro lado, verificou-se uma diminuição significativa da razão colesterol total/ HDL (LIU et al., 2003; ROGOVIK e GOLDMAN, 2010).

Nosaka et al. (2002), estudando os efeitos a longo prazo dos TCM dietéticos sobre os níveis lipídicos séricos, função hepática e acúmulo de gordura no fígado, em homens saudáveis, demonstraram que ao final do experimento não houve diferença significativa nas concentrações de colesterol total, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), LDL e HDL entre os grupos que consumiram 40g de óleos vegetais à base de TCM ou de TCL. Além disso, os autores verificaram que o consumo de TCM nessa proporção, por um mês, não causou acúmulo de gordura no fígado ou disfunção hepática.

Com relação ao efeito da dieta cetogênica sobre o crescimento das crianças portadoras de epilepsia, observou-se que ambas as dietas, a clássica e a rica em TCM, proporcionaram um crescimento linear. No entanto, o peso corporal diminuiu, o que pode ser resultado da ingestão inadequada de energia proveniente das proteínas e carboidratos. Estudos em animais e humanos têm demonstrado que a elevada taxa de β -oxidação dos AGCM leva a um gasto energético aumentado, comparado aos AGCL, resultando na redução do ganho de peso corporal e na diminuição dos depósitos de gordura, após vários meses de consumo. Além disso, outros estudos que analisaram os efeitos dos TCM sobre a saciedade, demonstraram uma redução na ingestão alimentar quando os TCL foram substituídos pelos TCM na dieta, sugerindo que essa substituição poderia facilitar a manutenção do peso corporal e a prevenção da obesidade (ST-ONGE e JONES, 2002). De acordo com Marten et al. (2006), essa redução nos depósitos de gordura se dá pela *down-regulation* de genes adipogênicos e dos receptores-gama ativados por proliferadores de peroxissomos. No entanto, no estudo de Lucena et al. (2010) verificou-se que os animais que receberam dietas cetogênicas à base de TCL e

trienantina, um TCM sintético, apresentaram ganho de peso similar durante as seis semanas de experimento; porém, observou-se uma redução provisória do peso corporal apenas no grupo à base de trienantina, entre a segunda e a quinta semana de experimento, quando comparado ao grupo alimentado com uma dieta comercial para roedores. Contudo, na sexta semana, os pesos corporais de todos os grupos foram equivalentes.

Estudos avaliando os efeitos da DC sobre o metabolismo da glicose e a resistência à insulina têm demonstrado resultados promissores com a utilização dos TCM. Observou-se que uma suplementação moderada de TCM (10g por dia), durante quatro semanas, promoveu uma redução gradual nos níveis de glicose e, particularmente, na insulina de jejum, maior que numa dieta à base de TCL, em indivíduos obesos (KROTKIEWSKI, 2001). Em pacientes com diabetes do tipo 2, por sua vez, não houve mudanças nos níveis de glicose e na insulina de jejum após o consumo de uma dieta rica em TCM, durante 30 dias; porém, os níveis de glicose pós-prandial foram menores após a intervenção com TCM (YOST et al., 1994). Estudos realizados em humanos euglicêmicos verificaram uma melhora na sensibilidade à insulina com uma dieta rica em TCM após períodos curto e longo de tratamento (ECKEL et al., 1992; YOST e ECKEL, 1989). A sensibilidade à insulina e a tolerância à glicose foram, também, melhoradas em ratos alimentados com TCM, comparados com aqueles alimentados com TCL, após 2 meses (HAN et al., 2003).

Ainda no que tange à utilização terapêutica dos TCM *versus* TCL, verifica-se que a substituição parcial de TCL por TCM pode ser apropriada no tratamento de câncer, considerando que algumas células malignas só utilizam glicose como substrato energético, não reconhecendo os corpos cetônicos como fonte de energia. Assim, é bastante provável que as dietas ricas em TCM venham a proporcionar benefícios mais imediatos a estes pacientes, pois, a elevação mais rápida dos corpos cetônicos faz com que as células cancerosas fiquem desprovidas de glicose, limitando seu crescimento e diferenciação (NEBELING e LERNER, 1995; ZHOU et al., 2007).

Recentemente, Oliveira et al. (2008) conseguiram demonstrar que a trienantina, um triacilglicerol de cadeia média do ácido graxo enântico (heptanóico; 7:0), exerce uma ação eficaz na redução da excitabilidade cerebral, caracterizada pela diminuição significativa da velocidade de propagação da depressão alastrante, em córtex cerebral de ratos; esse efeito foi constatado após 10 dias de uso de dieta cetogênica à base de trienantina, a qual foi oferecida aos animais no período do pós-

desmame imediato. Em outro estudo do mesmo grupo, detectou-se que a DC à base de trienantina não promoveu efeitos tóxicos em ratos, após seis semanas de consumo (LUCENA et al., 2010). Frente às inúmeras possibilidades de utilização terapêutica dos TCM e aos seus potenciais benefícios, tais como: melhoria nos déficits cognitivos, níveis de atividade e de resistência, sobretudo em pacientes epiléticos, estes triacilgliceróis apresentam-se como uma ferramenta terapêutica valiosa, melhorando, dessa forma, a qualidade de vida das crianças acometidas e de suas famílias. Apesar disso, algumas limitações devem ser consideradas no contexto do tratamento da epilepsia refratária. A primeira delas é que a DC à base de TCM pode causar desconforto gastrointestinal em algumas crianças, com relatos de diarréia, cólicas e vômitos. Por esta razão, uma dieta modificada foi desenvolvida usando 30% de energia proveniente dos TCM, com uma adição de 30% de energia proveniente dos TCL. Outra limitação é que os óleos sintéticos à base de TCM apresentam um custo bastante elevado, dificultando ou, por vezes, inviabilizando a sua utilização (KOSSOFF et al., 2009; LIU, 2008; NEAL et al., 2009).

2.4 Óleo de coco: uma fonte promissora de TCM

Os óleos de coco e palma constituem as fontes de TCM mais frequentemente utilizadas para os diversos fins, inclusive terapêuticos. O óleo proveniente do coco (*Cocos nucifera* L.), particularmente, fruto abundante na região Nordeste do Brasil, inclusive em Alagoas, apresenta elevada proporção de ácidos graxos saturados, especialmente de ácido láurico (12:0; 45-50%) (LI et al., 1990). Esse produto é de baixo custo e bastante utilizado na indústria química e de cosméticos, devido a sua resistência à oxidação, ao seu baixo ponto de fusão e a sua propriedade de formar emulsões estáveis. Além da indústria química, a farmacêutica também vem se beneficiando de suas propriedades antivirais, antifúngicas e bactericidas, especialmente atribuídas ao ácido láurico. Apesar disso, seu consumo como óleo comestível é irrisório, talvez por conta do estigma de estar associado à promoção de alterações do perfil lipídico sérico e ao aumento do risco cardiovascular (FUENTES, 1998; LI et al., 1990; PETSCHOW et al., 1996). No entanto, um estudo realizado sobre o consumo regular de óleo de coco em populações da Polinésia revelou que o óleo de coco não estava associado com o infarto do miocárdio e/ou outras formas de doenças cardiovasculares (PRIOR et al., 1981).

A relação óleo de coco *versus* doenças cardiovasculares, entretanto, é uma das associações mais freqüentemente encontradas em pesquisas envolvendo animais ou seres humanos, onde se busca investigar, em sua grande maioria, os efeitos deletérios ocasionados pelo ácido láurico. Usualmente, os ensaios experimentais adotam intervenções dietéticas que são incompatíveis com um padrão alimentar considerado adequado, através do uso de dietas extremamente hiperlipídicas e com desequilíbrio na relação ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados (AGS:AGM:AGP) (ASSUNÇÃO et al., 2007).

Uma vez que o óleo de coco é rico em TCM e o seu consumo está freqüentemente associado com o aumento no nível de triacilglicerol sérico, a incorporação de lipídeos estruturados e outras substâncias funcionais poderiam prevenir as possíveis repercussões deletérias de sua utilização. Neste sentido, vários métodos vêm sendo desenvolvidos para extrair o óleo de coco e as formas de extração levam a mudanças nas propriedades químicas e funcionais do mesmo. O método a seco é a forma mais freqüentemente utilizada para extração, onde a copra, é limpa, cozida e prensada para a obtenção do óleo de coco. Em seguida, o óleo passa pelo processo de refino, branqueamento e desodorização (RBD), o qual é executado sob altas temperaturas (204 – 245°C). Esse método apresenta algumas limitações, tais como a contaminação por aflatoxinas e a solidificação. Apesar dessas desvantagens, a grande maioria dos óleos comerciais é extraída a partir da copra. De maneira diferente, o óleo de coco virgem (OCV) é extraído através de processamento úmido diretamente do leite de coco, sob temperatura controlada, apresentando mais benefícios que o óleo da copra, uma vez que mantém a maioria de seus componentes benéficos; recentemente vem sendo comercializado como um alimento funcional (MARINA et al., 2009a; MARINA et al., 2009b).

Numerosos estudos sugerem que o consumo de alimentos funcionais contendo compostos fenólicos pode contribuir significativamente para a saúde. Efeitos benéficos resultantes das propriedades antioxidantes desses compostos têm aumentado o interesse na investigação do valor nutricional de alimentos funcionais (NACZK e SHAHIDI, 2004; MARINA et al., 2009a). Marina et al. (2009b) conduziram um estudo analisando os OCV comercializados na Malásia e Indonésia, confirmando que as amostras de OCV apresentaram um conteúdo em fenóis totais maior que aquele encontrado nas amostras de óleo de coco refinado (RBD). Em outros estudos, demonstrou-se que a atividade antioxidante foi significativamente maior no

OCV que no RBD (DIA et al., 2005; MARINA et al., 2009a; NACZK e SHAHIDI, 2004).

Nevin e Rajamohan (2004, 2006), avaliando os efeitos *in vitro* do OCV sobre parâmetros lipídicos séricos, inclusive sobre a oxidação da LDL, evidenciaram uma ação benéfica, como o aumento da concentração da HDL, diminuição da LDL, VLDL, colesterol total e triglicerídeos. Além disso, os autores observaram um alto potencial antioxidante desse óleo na proteção da LDL contra o estresse oxidativo induzido por oxidantes fisiológicos, efeito atribuído ao seu alto conteúdo em polifenóis. Ainda em estudos adicionais do mesmo grupo, observou-se que o OCV foi capaz de aumentar as enzimas antioxidantes, tais como a catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD), que atuam na defesa contra as espécies reativas de oxigênio e na prevenção da peroxidação lipídica. Além disso, os níveis de peróxidos lipídicos foram significativamente menores no fígado, rins e coração dos animais alimentados com o OCV, quando comparados ao grupo alimentado com o óleo extraído da copra.

Num recente estudo realizado por Nevin e Rajamohan, em 2008, demonstrou-se a influência do OCV sobre fatores de coagulação sanguínea, níveis lipídicos séricos e oxidação da LDL, em animais. Os níveis lipídicos e os fatores de risco trombótico, indicados pelas plaquetas, níveis de fibrina e fibrinogênio, foram menores nos animais alimentados com o OCV comparados aos alimentados com óleos da copra e girassol, evidenciando, dessa forma, um efeito antitrombótico mais significativo. Os níveis de vitaminas antioxidantes (vitamina E e provitamina A) foram maiores nos animais alimentados com OCV, e a LDL isolada destes animais, quando sujeita a oxidantes *in vitro*, demonstrou significativa resistência à oxidação.

O estudo realizado recentemente por Assunção et al. (2009), avaliando os efeitos da suplementação dietética com óleo de coco refinado sobre os perfis antropométrico e bioquímico de mulheres com obesidade abdominal, demonstrou que após um período de suplementação de 12 semanas com 30 mL diários de óleo de soja ou óleo de coco, os indivíduos suplementados com o óleo de coco apresentaram níveis mais elevados de HDL e uma diminuição da relação LDL:HDL, quando comparados àqueles suplementados com óleo de soja. Já o grupo suplementado com o óleo de soja apresentou uma elevação no colesterol total, na LDL e na relação LDL:HDL, enquanto que o HDL diminuiu. Houve, também, uma redução no índice de massa corpórea (IMC), tanto no grupo suplementado com o óleo de coco quanto com o óleo de soja; porém, apenas o grupo do óleo de coco exibiu uma redução da circunferência abdominal. Os resultados demonstraram que a

suplementação dietética com o óleo de coco não causou dislipidemia e pareceu promover uma redução da obesidade abdominal.

O óleo de coco tem se mostrado eficiente também no tratamento cetogênico. Um pequeno estudo realizado com seis crianças que receberam uma dieta à base de óleos sintéticos ricos em TCM, os quais foram incorporados a uma dieta à base de óleo de coco, revelou que o óleo de coco foi igualmente eficaz na manutenção da cetose, forneceu os mesmos benefícios previstos no controle das crises, foi bem tolerado pelos pacientes e mais econômico que os óleos sintéticos utilizados (ZUPEC-KANIA et al., 2008).

De acordo com a declaração do consenso sobre o manejo clínico da DC, criado em 2009, os TCM podem ser administrados na dieta sob a forma de óleo sintético, como óleo de coco ou como uma emulsão. Os TCM podem, ainda, ser incluídos em todas as refeições, em menores quantidades, ao longo do dia, com o objetivo de melhorar a tolerância e minimizar os efeitos colaterais (KOSSOFF et al., 2009). Dessa forma, a opção do uso do óleo de coco como fonte de TCM parece promissora, possivelmente até mesmo em proporções cetogênicas.

2.5 Conclusões

Considerando o óleo de coco como uma fonte rica em TCM de baixo custo, abundante no Nordeste do Brasil, inclusive em Alagoas, e as suas características metabólicas, notadamente uma produção aumentada e mais rápida de corpos cetônicos, especialmente quando em proporções cetogênicas, e uma diminuição significativa na produção mitocondrial de espécies reativas de oxigênio, estudos de sua aplicação no tratamento de crises convulsivas associadas à epilepsia refratária, no contexto de uma DC, são de grande relevância. A ação antioxidante, atribuída ao alto teor em polifenóis dos OCV, deve ser igualmente considerada. A elaboração de protocolos dietéticos à base de óleo de coco pode, portanto, trazer uma contribuição adicional aos efeitos benéficos da DC, restaurando a função bioenergética, em face do estresse oxidativo produzido pelas crises convulsivas. Assim, a sua utilização pode ser mais eficaz no controle das convulsões que os óleos ricos em TCM, além de possibilitar uma maior adesão ao tratamento, por tornar as DC mais palatáveis e flexíveis, no que se refere à composição de carboidratos e proteínas.

2.6 Referências

1. Acharya MM, Hattiangady B, Shetty AK. Progress in Neuroprotective Strategies for Preventing Epilepsy. *Prog Neurobiol.* 2008; 84(4): 363–404.
2. Assunção ML, Alteração dos fatores de risco cardiovascular segundo o consumo de óleo de coco (dissertação). Maceió: Universidade Federal de Alagoas, Faculdade de Nutrição; 2007.
3. Assunção ML, Ferreira HS, Dos Santos AF, Cabral Jr CR, Florêncio TMMT. Effects of Dietary Coconut Oil on the Biochemical and Anthropometric Profiles of Women Presenting Abdominal Obesity. *Lipids* 2009; 44(7): 593-601.
4. Ataíde TR, Oliveira SL, Silva FM, Vitorino Filha LGC, Tavares MC do N, Santana AEG, Toxicological analysis of the chronic consumption of diheptanoin and triheptanoin in rats. *International Journal of Food Science & Technology* 2009; 44: 484-492.
5. Bae EK, Jung KH, Chu k, Lee ST, Kim JH, Park KII, Kim M, Chung CK, Lee SK, Rho JK. Neuropathologic and Clinical Features of Human Medial Temporal Lobe Epilepsy. *J Clin Neurol* 2010; 6: 73-80.
6. Bach AC, Babayan VK, Medium-chain triglycerides: an update, *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 950-962.
7. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, Boas WVE, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshé SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsy* 2010; 51(4): 676-685.
8. Bough KJ, Valiyil R, Han FT, Eagles DA, Seizure resistance is dependent upon age and caloric restriction in rats fed a ketogenic diet. *Elsevier Science* 1999; (35): 21-28.
9. Bough KJ, Yao SG, Eagles DA, Higher ketogenic diet ratios confer protection from seizures without neurotoxicity. *Epilepsy Research* 2000; (38): 15–25.
10. Bough KJ, Rho JM, Anticonvulsant Mechanisms of the Ketogenic Diet. *Epilepsia* 2007; 48(1): 43-58.
11. Bough KJ, Schwartzkroin PA, Rho JM, Caloric Restriction and Ketogenic Diet Diminish Neuronal Excitability in Rat Dentate Gyrus In Vivo. *Epilepsia* 2003; 44(6):752-760.
12. Calabrese C, Myer S, Munson S, TUNET P, Birdsall TC, A cross-over study on effect of single oral feeding on medium-chain triglyceride oil vs. Canola oil on post-ingestion plasma triacylglyceride levels in healthy men. *Altern Med Rev* 1999; 4(1): 23-28.
13. Cater BN, Heller HJ, Denke MA, Comparison of effects of medium-chain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:41-5.
14. Coppola G, Veggiotti P, Cusmai R, Bertoli S, Cardinali S, Dionisi-Vici C, Elia M, Lispi ML, Sarnelli C, Tagliabue A, Toraldo C, Pascotto A, The ketogenic diet in children, adolescents and young adult with refractory epilepsy: an Italian multicentric experience. *Epilepsy Research* 2002; (48):221–227.

15. Cunnane SC, Musa K, Ryan MA, Whiting S, Fraser DD, Potential role of polyunsaturates in seizure protection achieved with the ketogenic diet. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2002; 67(2-3): 131-135.
16. Dahlin M, Hjelte L, Nilsson S, Amark P, Plasma phospholipid fatty acids are influenced by a ketogenic diet enriched with n-3 fatty acids in children with epilepsy. *Epilepsy Research* 2007; (73): 199-207.
17. Dia VP, Garcia VV, Mabesa RC, Tecson-Mendonza EM. Comparative physicochemical characteristics of virgin coconut oil produced by different methods. *Philippine Agricultural Sciences* 2005; 88: 462-475.
18. Dos Santos NF, Arida RM, Trindade Filho EM, Priel MR, Cavaleiro EA, Epileptogenesis in immature rats following recurrent status epilepticus. *Brain Research Reviews* 2000; 32: 269-276.
19. Duncan J, Sander JW, Sisodiya SM, Walker MC. Adult epilepsy. *Lancet* 2006; 367: 1087-100.
20. Ebert U, Brandt C, Löscher W. Delayed Sclerosis, Neuroprotection, and Limbic Epileptogenesis After Status Epilepticus in the Rat. *Epilepsia* 2002; 43(5): 86-95.
21. Eckel RH, Hanson AS, Chen AY, Berman JN, Yost TJ, Brass EP. Dietary substitution of medium-chain triglycerides improves insulin-mediated glucose-metabolism in NIDDM subjects. *Diabetes* 1992; 41: 641-647.
22. Ferreira AMD, Barbosa PEB, Ceddia RB, A influência da suplementação de triglicérides de cadeia média no desempenho em exercícios de ultra-resistência. *Rev Bras Med Esporte* 2003; 9(6): 413-419.
23. Freeman JM, Vining EPG, Pillas DJ, Pyzik PL, Casey JC, Kelly MT, The efficacy of the ketogenic diet-1998: a prospective evaluation of intervention in 150 children. *Pediatrics* 1998; 102:1358-1363.
24. Freeman J, Veggiotti P, Lanzi G, Tagliabue A, Perucca E. The ketogenic diet: From molecular mechanisms to clinical effects. *Epilepsy Research* 2006; (68): 145-180.
25. Freeman JM, Kossoff EH, Hartman AL. The Ketogenic Diet: One Decade Later. *Pediatrics* 2007; 119: 535-543.
26. Freitas RLM, Santos IMS, Souza GF, Tomé AR, Saldanha GB, Freitas RM. Oxidative stress in rat hippocampus caused by pilocarpine-induced seizures is reversed by buspirone. *Brain Research Bulletin* 2010; 81: 505-509.
27. Fisher RS, Boas WVE, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel Jr. J. Epileptic Seizure and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005; 46(4): 470-472.
28. Fuentes JAG. Que alimentos convêm ao coração? *Higiene Alimentar*. 1998; 12(53):7-11.
29. Furtado MA. Crises induzidas por pilocarpina intra-hipocampal em ratos wistar: aspectos comportamentais, morfológicos e eletrencefalográficos (tese de doutorado). São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2003.

30. Goffin K, Nissinen J, Van Laere K, Pitkänen A, Cyclicity of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat. *Experimental Neurology* 2007; 205: 501-505.
31. Greene AE, Todorova MT, McGowan R, Seyfried TN, Caloric Restriction Inhibits Seizures Susceptibility in Epileptic EL Mice by Reducing Blood Glucose. *Epilepsia* 2001; 42(11): 1371-1378.
32. Han JR, Hamilton JA, Kirkland JL, Corkey BE, Guo W. Medium-chain oil reduces fat mass and downregulates expression of adipogenic genes in rats. *Obesity Research* 2003; 11: 734–744.
33. Huffman J, Kossoff EH. State of the Ketogenic Diet(s) in Epilepsy. *Current Neurology and Neuroscience Reports* 2006, (6): 332–340.
34. Huttenlocher PR, Wilbourn AJ, Signore JM. Medium-chain triglycerides as a therapy for intractable childhood epilepsy. *Neurology* 1971; 21:1097–1103.
35. Kossoff E, More fat and fewer seizures: dietary therapies for epilepsy. *Lancet Neurol* 2004; (3): 415–420.
36. Kossoff EH, Zupec-Kania BA, Amark PE, et al. Optimal clinical management of children receiving the ketogenic diet: Recommendations of the International Ketogenic Diet Study Group. *Epilepsia* 2009; 50(2): 304-317.
37. Krotkiewski, M. Value of VLCD supplementation with medium chain triglycerides. *International Journal of Obesity* 2001; 25: 1393–1400.
38. Lafreve F, Aronson N. Ketogenic Diet for the Treatment of Refractory Epilepsy in Children: A Systematic Review of Efficacy. *Pediatrics* 2000; 105(4): 1-7.
39. Li DF, Thaler RC, Nelssen JL, Harmon DL, Allee GL, Weeden TL. Effect of fat sources and combinations on starter pig performance, nutrient digestibility and intestinal morphology. *J Anim Sci* 1990; 68: 3694-3704.
40. Linard B, Ferrandon A, Koning E, Nehlig A, Raffo E, Ketogenic diet exhibits neuroprotective effects in hippocampus but fails to prevent epileptogenesis in the lithium-pilocarpine model of mesial temporal lobe epilepsy in adult rats. *Epilepsia* 2010; 51(9): 1829-1836.
41. Liu YC, Williams S, Basualdo-Hammond B, Stephens D, Curtis R, A prospective study: Growth and nutritional status of children treated with the ketogenic diet. *J Am Diet Assoc* 2003; (103):707-712.
42. Liu YC, Medium-chain triglyceride (MCT) ketogenic therapy. *Epilepsia* 2008; 49(8): 33-36.
43. Lucena ALM, Oliveira SL, Ataíde TR, Silva AX, Cabral Jr CRC, Oliveira MAR, Souza TMP, Mendonça CR, Lima CMF, Balwani MCLV. High-fat diet based on trienantin has no adverse metabolic effects in rats. *Eur J Lipid Sci Technol* 2010; 112: 166–172.
44. McNamara JO, Huang YZ, Leonard AS. Molecular signaling mechanisms underlying epileptogenesis. *Sci STKE* 2006; 356, re12.
45. Marina AM, Che Man YB, Amin I. Virgin Coconut Oil: Emerging functional food oil. *Trends in Food Science and Technology* 2009a; 20: 481-487.
46. Marina AM, Che Man YB, Nazimah SAH, Amin I. Chemical Properties of Virgin Coconut Oil. *J Am Oil Chem Soc* 2009b; 86: 301-307.

47. Marten B, Pfeuffer M, Schrezenmeir J. Medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal* 2006; 16: 1374–1382.
48. Maalouf M, Sullivan PG, Davis L, Kim DY, Rho JM. Ketones inhibit mitochondrial production of reactive oxygen species production following glutamate excitotoxicity by increasing NADH oxidation. *Neuroscience* 2007; 145: 256-264.
49. Naczek M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A* 2004; 1054: 95–111.
50. Neal EG, Chaffe H, Schwartz RH, Lawson MS, Edwards N, Fitzsimmons G, Whitney A, Cross JH. A randomized trial of classical and medium-chain triglyceride ketogenic diets in the treatment of childhood epilepsy. *Epilepsia* 2009; 50(5): 1109-1117.
51. Nebeling LC, Lerner E. Implementing a ketogenic diet based on medium-chain triglyceride oil in pediatric patients with cancer. *J Am Diet Assoc.* 1995; 95: 693-697.
52. Nehlig A. Age-dependent pathways of brain energy metabolism: the suckling rat, a natural model of the ketogenic diet. *Epilepsy Research* 1999; (37): 211-221.
53. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger: Principles of Biochemistry*. New York: WH Freeman and Company. 5a edição, 2008.
54. Neto GJ, Marchetti LR. Aspectos epidemiológicos e relevância dos transtornos mentais associados à epilepsia. *Rev Bras Psiquiatr.* 2005; 27 (4): 323-8.
55. Nevin KG, Rajamohan T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. *Clinical Biochemistry* 2004; 37: 830-835.
56. Nevin KG, Rajamohan T. Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats. *Food Chemistry* 2006; 99: 260-266.
57. Nevin KG, Rajamohan T. Influence of virgin coconut oil on blood coagulation factors, lipid levels and LDL oxidation in cholesterol fed Sprague-Dawley rats. *The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2008; 3: 1-8.
58. Nonino-Borges CB, Bustamante VCT, Rabito EI, Inuzuka LM, Sakamoto AC, Marchini JS. Dieta cetogênica no tratamento de epilepsias farmacoresistentes. *Rev de Nutrição* 2004; 17 (4): 515-521.
59. Nosaka N, Kasai M, Nakamura M, Takahashi I, Itakura M, Takeuchi Hiroyuki, Aoyama T, Tsuji H, Okazaki M, Kondo K. Effects of Dietary Medium-Chain Triacylglycerols on Serum Lipoproteins and Biochemical Parameters in Healthy Men. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2002; 66(8): 1713-1718.
60. Oliveira MAR, Ataíde TR, Oliveira SL, Lucena ALM, Lira CEPR, Soares AA, Almeida CBS, Ximenes-da-Silva A. Effects of short-term and long-term treatment with medium- and long-chain triglycerides ketogenic diet on cortical spreading depression in young rats. *Neuroscience Letters* 2008; 434: 66-70.
61. Papamandjaris AA, MacDougall DE, Jones PJH. Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: obesity treatment implications. *Life sciences* 1998; 62 (14): 1203-1215.
62. Phan N. Ketogenic Diet as a Treatment for Refractory Epilepsy. *Journal on Developmental Disabilities* 2007; 13(3): 189-204.

63. Petschow BW, Batema RP, Ford LL. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to bactericidal properties of medium-chain monoglycerides and free fatty acids. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40(2): 302-306.
64. Priel MR, Santos NF, Cavaleiro EA. Development aspects of the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res*, 1996; 26: 115–121.
65. Prior IA, Davidson F, Salmond CE, Czochanska Z. Cholesterol, coconuts, and diet on Polynesian atolls: a natural experiment: the Pukapuka and Tokelau Island studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 1981; 34: 1552-15 61.
66. Rogovik AL, Goldman RD, Ketogenic diet for treatment of epilepsy. *Canadian Family Physician • Le Médecin de famille canadien* 2010; 56: 540-542.
67. Sills MA, Forsythe WI, Haidukewych D, Macdolnad A, Robinson M. The Medium Chain Triglyceride diet and intractable epilepsy. *Archives of Diseases in Childhood* 1986; 61: 1168-1172.
68. Scorza FA, Arida RM, Naffah-Mazzacoratti MG, Scerni DA, Calderazzo L, Cavaleiro EA. The pilocarpine modelo f epilepsy: what have we learned?. *An Acad Bras Cienc.* 2009; 81(3): 345-365.
69. Scorza FA, Cavaleiro EA. Epilepsias: Aspectos Sociais e Psicológicos. *R. Cult. : R. IMAE* 2004; 11: 48-53.
70. Schwartzkroin PA, Mechanisms underlying the anti- epileptic efficacy of ketogenic diet. *Epilepsy Research*1999; (37): 171-180.
71. St-Onge MP, Jones PJH, Physiological Effects of Medium-Chain Triglycerides: Potential Agents in the Prevention of Obesity. *J. Nutr.* 2002; 132: 329-332.
72. Taha AY, Ryan MAA, Cunnane SC. Despite transient ketosis, the classis high-fat ketogenic diet induces market chances in fatty acid metabolism in rats. *Metabolism Clinical and Experiment* 2005; (54): 1127-1132.
73. Tilelli CQ, Furtado MA, Galvis-Alonso OY, Arisi GM, Andrade-Valença L, Leite JP, Garcia-Cairasco N. O Estudo das Epilepsias: Uma Ferramenta para as Neurociências. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2003; 9(3): 173-180.
74. Traul KA, Driedger A, Ingle DL, Nakhasi D, Review of toxicologic properties of medium-chain triglycerides. *Food Chen Toxicol* 2000; 38: 79-98.
75. Trindade Filho, EM. Monoaminas e epilepsia: estudo através do modelo experimental induzido pela pilocarpina (tese de doutorado). São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 2000.
76. Vamecq J, Vallée L, Lesage F, Gressens P, Stables JP, Antiepileptic popular ketogenic diet: emerging twists in an ancient story. *Progress in Neurobiology* 2005; (75): 1–28.
77. Vaz JS, Deboni F, Azevedo MJ, Gross JL, Zelmanovitz T, Ácidos graxos como marcadores biológicos da ingestão de gorduras. *Rer Nutr* 2006; 19(4): 489-500.
78. Wheless JW, History of the ketogenic diet. *Epilepsia* 2008; 49(8): 3-5.
79. World Health Organization (WHO): Global Campaign Against Epilepsy, 2003.
80. _____: Epilepsy the disorder, 2005.
81. Yost TJ, Eckel RH. Hypocaloric feeding in obese women—Metabolic effects of medium-chain triglyceride substitution. *American Journal of Clinical Nutrition* 1989; 49: 326–330.

82. Yost TJ, Erskine JM, Gregg TS, Podlecki DL, Brass EP, Eckel RH. Dietary substitution of medium-chain triglycerides in subjects with non-insulin-dependent diabetes-mellitus in an ambulatory setting—Impact on glycemic control and insulin-mediated glucose-metabolism. *Journal of the American College of Nutrition* 1994; 13: 615–622.
83. Yudkoff M, Daikhin Y, Nissim I, Lazarow A, Nissim I. Ketogenic diet, brain glutamate metabolism and seizure control. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2004; 70: 277-285.
84. Zaveri HP, Duckrow RB, Lanerolle NC, Spencer SS. Distinguishing Subtypes of Temporal Lobe Epilepsy with Background Hippocampal Activity. *Epilepsia* 2001; 42(6): 725-730.
85. Ziemann AE, Schnizler MK, Albert GW, Severson MA, Howard III MA, Welsh MJ, Wemmie JA, Seizure termination by acidosis depends on ASIC1a. *Nature Neuroscience* 2008; 11(7): 816-822.
86. Zhou W, Mukherjee P, Kiebish MA, Markis WT, Mantis JG, Seyfried TN, The calorically restricted ketogenic diet, an effective alternative therapy for malignant brain cancer. *Nutrition and metabolism* 2007; 4:1743-1775.
87. Zupec-Kania BA, Spellman E, An Overview of the Ketogenic Diet for Pediatric Epilepsy. *Nutr Clin Pract.* 2008; (23): 589-596.

3 ARTIGO DE RESULTADOS

Efeito de dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre as crises convulsivas de ratos portadores de epilepsia induzida por pilocarpina.

RESUMO

Introdução: A epilepsia é uma condição clínica crônica caracterizada pela presença de crises recorrentes e espontâneas resultantes de descargas anormais dos neurônios cerebrais, afetando, aproximadamente, 50 milhões de pessoas no mundo, principalmente crianças. Dentre estas, cerca de 40% evoluem com crises epiléticas intratáveis com medicamentos. Opções não-farmacológicas para o tratamento da epilepsia refratária são oportunas, dadas as evidências de que a frequência das crises correlaciona-se fortemente com o prognóstico da doença e de que o risco de letalidade na infância são mais altos nos pacientes intratáveis. Dentre tais opções têm-se as intervenções cirúrgicas, a estimulação do nervo vago e a dieta cetogênica. O presente estudo visou investigar os efeitos de dieta cetogênica à base de óleo de coco e óleo de soja na frequência e na duração das crises convulsivas de ratos epiléticos. **Métodos:** Procedeu-se à indução do *Status Epilepticus*, em ratos *Wistar*, por meio de injeção intraperitoneal de pilocarpina. Após o surgimento das crises recorrentes espontâneas, os animais foram alocados em três grupos ($n=10$): **Controle** (dieta padrão), **CetoTAGsoja** (dieta cetogênica à base de óleo de soja; 69,79% de lipídeos) ou **CetoTAGCcoco** (dieta cetogênica à base de óleo de coco extra-virgem; 69,79% de lipídeos). Os animais foram filmados, para registro da frequência e da duração (seg) das crises recorrentes espontâneas, por 19 dias. Utilizaram-se os testes de Lilliefors e Levene, seguidos por ANOVA e *post-hoc* de Tukey HSD e Dunnet-t, nos resíduos que atenderam os pressupostos paramétricos. **Resultados:** Os animais submetidos aos tratamentos cetogênicos apresentaram consumo alimentar (g) inferior, porém, consumo energético (Kcal) e ganho de peso (g) semelhantes ao grupo Controle. Os animais dos grupos experimentais não diferiram entre si quanto à frequência e à duração total das crises; entretanto, os animais do grupo CetoTAGCcoco tiveram menor duração média de crises no 19º dia, que o grupo Controle ($0,00\pm 0,00$ contra $22,78\pm 12,95$, respectivamente; $p<0,05$). Adicionalmente, o grupo CetoTAGCcoco apresentou valores inferiores de variação de frequência e de duração das crises entre o 19º e o 1º dia de tratamento ($9,00\pm 1,73$ contra $11,00\pm 1,00$, para frequência, e $20,80\pm 12,61$ contra $49,14\pm 21,15$, para duração, respectivamente; $p<0,05$). **Conclusão:** A dieta cetogênica à base de óleo de coco extra-virgem pareceu exercer um efeito protetor contra as crises convulsivas, em ratos tornados epiléticos por injeção intraperitoneal de pilocarpina. Tal resultado, associado a estudos que atestem a confiabilidade e a tolerância deste óleo, particularmente em proporções cetogênicas, indica um benefício potencial do óleo de coco no controle de surtos epiléticos, especialmente para indivíduos portadores de epilepsia refratária a medicamentos.

Palavras-chave: *epilepsia experimental, Status Epilepticus, pilocarpina, dieta cetogênica, óleo de coco, modelo animal.*

ABSTRACT

Introduction: Epilepsy is a chronic medical condition characterized by the presence of spontaneous and recurrent seizures resulting from abnormal neurons, affecting approximately 50 million people worldwide, mainly children. Among these, 40% had antiepileptic drug refractory seizures. Non-drug options for the treatment of refractory epilepsy are timely, given the evidence that seizure frequency correlates strongly with the prognosis of the disease and the risk of childhood mortality is higher in intractable patients. Among these options there are the surgeries, the vagus nerve stimulation and ketogenic diet. This study aimed to investigate the effects of a ketogenic diet based on coconut oil and soybean oil on the frequency and duration of epileptic seizures in rats. **Methods:** Induction of *status epilepticus* in rats was performed by intraperitoneal injection of pilocarpine. After the appearance of spontaneous recurrent seizures, the animals were divided into three groups ($n=10$): **Control** (standard diet), **CetoTAGsoja** (ketogenic diet based in soybean oil, 69.79% fat) or **CetoTAGcoco** (ketogenic diet based in extra virgin coconut oil, 69.79% fat). The animals were videotaped to record the frequency and duration (sec.) of spontaneous recurrent seizures, during 19 days. The Lilliefors and Levene tests, followed by ANOVA and *post hoc* Tukey HSD e Dunnet-t were used. **Results:** The animals fed ketogenic diets showed food intake (g) below, however, dispend energetic and weight gain similar to Control group. The behavioral analysis showed that the experimental groups did not differ in frequency and duration of seizures, however, the animals in group CetoTAGcoco had shorter duration of seizures in the 19th day, that the Control group (0.00 ± 0.00 against 22.78 ± 12.95 , respectively, $P<0.05$). Additionally, the group CetoTAGcoco presented lower variation of frequency and duration of seizures between the 19th and 1st day of treatment, than the Control group (9.00 ± 1.73 against 11.00 ± 1.00 , for frequency, and 20.80 ± 12.61 against 49.14 ± 21.15 , for duration, respectively, $P<0.05$). The results of this study suggest a possible protective effect of ketogenic diet based on extra virgin coconut oil on seizures. That result, coupled with studies attesting to confidence and tolerance of the coconut oil, particularly in ketogenic ratios, indicating a potential benefit of this oil for control the seizures, especially for individuals with medically refractory epilepsy.

Keywords: *experimental epilepsy, Status Epilepticus, pilocarpine, ketogenic diet, coconut oil, animal model.*

INTRODUÇÃO

A epilepsia é um dos mais freqüentes e graves distúrbios neurológicos, afetando aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo, cerca de 1% da população, principalmente crianças. Dentre as crianças acometidas, 20% a 30% apresentam crises refratárias às drogas antiepilépticas (DAEs) existentes. Portanto, a consideração de opções não farmacológicas para o tratamento da epilepsia refratária é oportuna, dadas as evidências de que a freqüência das crises correlaciona-se fortemente com o prognóstico da doença e de que o risco de casos letais na infância é mais alto nos pacientes com epilepsia intratável. Dentre as opções de tratamento para esse grupo de pacientes têm-se as intervenções cirúrgicas, a estimulação do nervo vago e a dieta cetogênica (DC) (SCORZA et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2004).

A DC vem sendo utilizada como tratamento em várias desordens que afetam o metabolismo e a função cerebral, como, por exemplo, defeitos no transporte de glicose e mitocondriopatias. Particularmente nos casos de epilepsia, seu emprego tem contribuído para minimizar as convulsões associadas à enfermidade, em pacientes resistentes ao uso de medicamentos. A eficácia dessa terapia dietética tem sido bem estabelecida, com observação de mais de dois terços das crianças tratadas exibindo mais de 50% de melhora das convulsões (BOUGH et al., 2000a; KOSSOFF, 2004; TAHA et al., 2005).

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

et al., 2000b; CALABRESE et al., 1999; CURI et al., 2002; GUO et al., 2006; LIU et al., 2003; NOSAKA et al., 2003).

O óleo proveniente do coco (*Cocos nucifera* L.) representa uma fonte natural de TCM (cerca de 60% do seu teor de óleo total), sendo utilizado para diversos fins, inclusive terapêuticos. É um produto de baixo custo e bastante utilizado na indústria química e de cosméticos, devido a sua resistência à peroxidação, ao seu baixo ponto de fusão e a sua propriedade de formar emulsões estáveis. Além da indústria química, a farmacêutica também vem se beneficiando de suas propriedades antivirais, antifúngicas e bactericidas, especialmente atribuídas ao ácido láurico. Apesar disso, seu consumo como óleo comestível é irrisório, talvez por conta do estigma de estar associado à promoção de alterações do perfil lipídico sérico e ao aumento do risco cardiovascular (FUENTES, 1998; LI et al., 1990; NORULAINI et al., 2009; PETSCHOW et al., 1996).

De acordo com Norulaini et al. (2009) estudos têm relatado os efeitos benéficos do óleo de coco à saúde humana no controle de peso e da glicemia, bem como no metabolismo lipídico e na inibição tumoral. Nevin e Rajamohan (2004), avaliando os efeitos *in vitro* do óleo de coco virgem sobre parâmetros lipídicos séricos, inclusive sobre a oxidação da LDL, evidenciaram efeitos benéficos, como o aumento da concentração de HDL e diminuição da de LDL. Além disso, os autores observaram um alto potencial antioxidante na proteção da LDL contra o estresse oxidativo induzido por oxidantes fisiológicos, efeito atribuído ao conteúdo em polifenóis do óleo.

O óleo de coco tem se mostrado eficiente também no tratamento cetogênico. Um estudo realizado com seis crianças que receberam uma dieta à base de óleos sintéticos ricos em TCM ou uma dieta à base de óleo de coco revelou que este último foi igualmente eficaz na manutenção da cetose, forneceu os mesmos benefícios previstos no controle das crises, foi bem tolerado pelos pacientes e mais econômico que os óleos sintéticos ricos em TCM (ZUPEC-KANIA et al., 2008).

Assim, em face do número escasso de estudos sobre os efeitos do consumo de óleo de coco, especialmente em proporções cetogênicas, uma fonte rica em TCM de baixo custo, abundante no Nordeste do Brasil, inclusive em Alagoas, considerando, ainda, as suas características metabólicas especiais, estudos clínicos e experimentais da aplicação deste óleo no tratamento de crises convulsivas associadas à epilepsia, no contexto de uma DC, são necessários. Portanto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de dieta cetogênica à base de

óleo de coco extra-virgem e óleo de soja, sobre as crises convulsivas de ratos tornados epiléticos, através do modelo de epilepsia induzido por pilocarpina.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais de experimentação

Ratos machos *Wistar* ($n=30$) recém-desmamados, aos 30 dias de nascidos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas (UNCISAL), foram acondicionados em gaiolas coletivas (cinco ratos por gaiola), no Laboratório de Fisiologia da UNCISAL, com controle de temperatura e luminosidade (22-24°C; ciclo claro/escuro de 12 horas), recebendo ração comercial e água *ad libitum*.

O uso de animais nesse experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFAL (Anexo 1), vinculado ao Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (CNS/MS/Brasil), baseado em normas internacionais (Declaração Universal dos Direitos do Animal, UNESCO, 15/10/1978) e nacionais (Lei 6.638 de 08/05/1979).

Indução do Status Epilepticus (SE)

Todos os animais passaram pela indução do *status epilepticus* (SE). O SE foi induzido por meio de administração intraperitoneal (i.p.) de pilocarpina (Sigma, St. Louis, MO), na dose de 340 mg/kg de peso corporal, 20 minutos após a injeção de metilnitrato de escopolamina (1 mg/kg de peso corporal; i.p.), para limitar os efeitos colinérgicos periféricos da droga. Após 3 horas, o SE foi abortado com a aplicação de diazepam (5 mg/kg de peso corporal; i.p.).

Todos os animais injetados com pilocarpina desenvolveram SE; seis morreram em decorrência do protocolo (mortalidade de 20%) e dois morreram devido a causas não identificadas.

Período pós-indução do SE

Após o SE, os animais foram acondicionados em gaiolas individuais de metal, filmados durante 8 horas diárias e mantidos no Laboratório de Fisiologia da UNCISAL, sob as mesmas condições ambientais anteriormente descritas.

Até o surgimento das crises recorrentes espontâneas (CRE), que caracterizam a fase crônica e o estabelecimento da epilepsia, os animais receberam ração comercial para animais de laboratório Nuvilab[®] (Nuvital Nutrientes S/A). Com a ocorrência das CRE, os animais foram submetidos às dietas experimentais. O período silencioso, entre a indução do SE e o aparecimento da primeira CRE, varia entre 4 a 44 dias (CAVALHEIRO, 1995). Foram considerados, neste experimento, os animais que desenvolveram as CRE dentro de, no máximo, 25 dias após a indução do SE.

Delimitação estatística e dietas experimentais

O período de tratamento dietético, com duração de 19 dias, foi definido a partir de estudo anterior do presente grupo de investigação (OLIVEIRA et al., 2008). O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com três tratamentos e dez repetições. A parcela experimental foi composta por um rato.

A alocação dos animais em cada grupo de tratamento dietético ocorreu em função da frequência dos episódios convulsivos, nos primeiros sete dias de CRE, verificada através das filmagens, buscando promover homogeneidade entre os grupos.

Os animais foram divididos em três diferentes grupos, de acordo com a dieta oferecida, como se segue: **Controle** (AIN-93G; 7% de lipídeos), **CetoTAGsoja** (dieta cetogênica à base de óleo de soja; 69,79% de lipídeos) e **CetoTAGcoco** (dieta cetogênica à base de óleo de coco extra-virgem; 69,79% de lipídeos), tendo como base a dieta AIN-93G (REEVES, 1997). A dieta controle apresentou uma proporção de lipídeos: carboidratos+proteína de 1:11,8, enquanto as duas dietas cetogênicas, de 3,5:1. Adicionaram-se 7% de óleo de soja à dieta cetoTAGcoco para garantir a oferta de ácidos graxos essenciais. A margarina foi utilizada nas dietas cetogênicas com a finalidade de melhorar a consistência e garantir a homogeneidade das formulações (Quadro 1). Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com livre acesso à água e às dietas durante todo experimento.

A dieta controle e os ingredientes utilizados para a elaboração das dietas cetogênicas foram fornecidos pela Rhoster (São Paulo, Brasil), com exceção da margarina e dos óleos de coco e soja, adquiridos no comércio local.

QUADRO 1. Composição das dietas controle, cetoTAGcoco e cetoTAGsoja.

Constituintes (g/kg)	Controle (AIN-93G) ¹	Dietas cetogênicas	
		CetoTAGcoco	CetoTAGsoja
Amido de milho	495,9	0	0
Amido de milho dextrinizado	132,0	0	0
Caseína	200	200	200
Celulose	50	50	50
Mix mineral AIN-93G	35	35	35
Mix vitamina AIN-93G	10	10	10
L-cisteína	3	3	3
L-metionina	1,6	1,6	1,6
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5
<i>t</i> -butilhidroquinona (mg/kg)	14	139,58	139,58
Óleo de soja	70	70	297,9
Óleo de coco	0	227,9	0
Margarina	0	400	400
Valor energético (Kcal/g) ²	3.941,6	7.012,73	7.081,1

¹Reeves et al. (1997).

²Valores aproximados, estimados conforme Atwater e Bryant (1900).

Acompanhamento do peso corporal e da ingestão alimentar

O peso dos animais foi mensurado semanalmente, a partir do dia da introdução da dieta experimental até o final do experimento, no horário de 10-12h. Para aferir o peso corporal, foi utilizada uma balança digital (Marte, modelo S-100). A ingestão foi estimada semanalmente, com base na cota de dieta oferecida e na cota rejeitada pelo animal.

Eficiência alimentar

A qualidade global das dietas ofertadas e sua repercussão no crescimento dos animais, aferida pelo coeficiente de eficiência alimentar (CEA), foi calculada através da seguinte fórmula:

$$CEA = (GP/IT) \times 100$$

Onde: CEA - coeficiência de eficiência alimentar;

GP - ganho de peso (g) no período de 14 dias;

IT - ingestão total (g).

Análise comportamental

Os animais epiléticos submetidos às dietas experimentais foram monitorados durante todo período experimental, 8h/dia, com o auxílio de uma filmadora (DCR-SR45, Sony Brasil Ltda.), para o registro das manifestações comportamentais características das crises convulsivas induzidas pela pilocarpina. As gravações foram analisadas posteriormente para determinação da frequência e do tempo de duração das crises epiléticas.

Determinação da frequência e da duração das crises recorrentes espontâneas (CRE)

Através de monitoramento por vídeo, foi determinada a frequência e a duração diária das CRE, com auxílio da filmadora e de um cronômetro digital. A partir destas variáveis, calcularam-se os valores de frequência e duração total, nos dezenove dias de experimento, de frequência e duração intervalar, em seis intervalos de tempo (a cada três dias), e a variação entre o 19° e o 1° dia ($\Delta 19-1$) de tratamento dietético. Para o cálculo das variações entre o 19° e o 1° dia de tratamento para a frequência e a duração das CRE, realizou-se transformação dos dados, para evitar números negativos. Para tanto, somou-se dez aos valores finais de $\Delta 19-1$, para frequência, e trinta, para duração das CRE (Figuras 1 e 2).

Eutanásia

Após o período de observação comportamental, os animais foram anestesiados por injeção de Ketamina – 100mg/kg e Xilazina – 15mg/kg; i.p.) para a realização de coleta de sangue e de órgãos, para análises posteriores. A eutanásia se deu, portanto, por retirada de órgãos vitais.

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram verificados quanto aos pressupostos para normalidade (Teste de Lilliefors) e homogeneidade das variâncias dos resíduos (Teste de Levene), com até 5% de probabilidade de erro. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), com médias comparadas pelos testes *Post hoc* de Tukey HSD e Dunnett-t, assumindo-se, neste caso, o grupo Controle

como referência ($P<0,05$). Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software SPSS for Student.

RESULTADOS

Ingestão alimentar, ganho de peso corporal, coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e consumo energético

Os dados relativos à ingestão alimentar, ao ganho de peso, ao coeficiente de eficiência alimentar e ao consumo energético podem ser observados na Tabela 1. Considerando-se a ingestão alimentar nas duas primeiras semanas de experimento (14 dias), percebe-se que os grupos cetogênicos consumiram quantidade de ração equivalente entre si e menor do que o grupo Controle ($P<0,05$); entretanto, o ganho de peso corporal, a eficiência alimentar e o consumo energético da cota total de ração ingerida neste período foram similares entre todos os grupos.

Tabela 1. Ingestão alimentar, ganho de peso, coeficiente de eficiência alimentar (CEA) e consumo energético (média±DP) dos animais dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em 14 dias de experimento.

Variáveis	Grupos de animais		
	Controle (n=7)	CetoTAGsoja (n=8)	CetoTAGcoco (n=7)
Ingestão alimentar (g)	267,2±37,8Aa	200,0±43,7Bb	164,5±17,5Bb
Ganho de Peso (g)	52,1±42,2Aa	61,8±35,4Aa	62,5±20,5Aa
CEA	20,4±19,2Aa	29,8±13,9Aa	37,4±9,4Aa
Consumo energético (Kcal)	1.052,9±149,1Aa	1.272,2±277,9Aa	1.046,5±111,3Aa

CEA – coeficiente de eficiência alimentar.

Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey HSD, maiúsculas, ou Dunnett-t, minúsculas ($P<0,05$).

Freqüência e duração das crises recorrentes espontâneas (CRE)

Após a exclusão dos *outliers*, além da mortalidade animal observada, para as análises comportamentais foram considerados sete animais do grupo Controle, seis do grupo CetoTAGsoja e cinco do CetoTAGcoco.

Avaliando-se os valores médios das variáveis frequência e duração das crises nos fatores dieta e tempo de tratamento dietético (19 dias), apresentados na Tabela 2, verifica-se que não houve diferença significativa. A interação dos fatores dieta e tempo de tratamento dietético, com relação à frequência e à duração das crises, também não diferiu significativamente.

Tabela 2. Frequência e duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE), relacionadas aos fatores dieta e tempo de exposição, em 19 dias de protocolo experimental.

FATORES	VARIÁVEIS	
	Frequência das CRE ($\bar{x} \pm DP$)	Duração das CRE ($\bar{x} \pm DP$)
Dieta (D)		
controle	0,43±0,90a	7,37±12,24a
cetoTAGsoja	0,45±1,05a	5,70±10,67a
cetoTAGcoco	0,24±0,66a	4,94±11,47a
Tempo (T; dias)		
1	0,39±0,97a	5,76±11,24a
2	0,29±1,06a	1,44±5,39a
3	0,06±0,23a	1,11±4,71a
4	0,35±0,99a	4,60±10,36a
5	1,00±1,75a	9,54±13,18a
6	0,44±0,85a	7,76±13,39a
7	0,12±0,33a	3,24±9,17a
8	0,41±0,87a	6,24±11,79a
9	0,18±0,39a	5,18±11,57a
10	0,54±1,39a	7,65±14,74a
11	0,17±0,38a	4,94±11,49a
12	0,39±0,77a	4,75±9,20a
13	0,29±0,46a	8,50±14,49a
14	0,06±0,24a	1,59±6,54a
15	0,31±0,79a	6,35±13,75a
16	0,72±1,44a	8,53±11,63a
17	0,63±0,88a	10,91±13,44a
18	0,40±0,82a	6,71±11,80a
19	0,67±0,76a	12,28±14,11a
Interação (DxT)	NS	NS

Letras iguais em uma mesma linha indicam diferença não significativa pelo teste de Tukey HSD ($P \geq 0,05$).

NS= não significativo.

Os valores referentes à frequência total e à duração total das crises, nos dezoito dias do período experimental, não diferiram entre os grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco (Tabela 3).

Em relação às variações médias de frequência e duração das CRE, em diferentes intervalos de tempo ($\Delta 1$ a $\Delta 6$; Tabela 3), também não foram observadas diferenças significativas entre os três grupos de animais.

Tabela 3. Frequência e duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) nos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em diferentes períodos de tempo.

FREQUÊNCIA DAS CRE ¹									
Grupos	Frequência Total ²			Variações Intervalares ³ ($\bar{x} \pm DP$)					
	($\bar{x} \pm DP$)	Min	Máx	$\Delta 1$	$\Delta 2$	$\Delta 3$	$\Delta 4$	$\Delta 5$	$\Delta 6$
Controle (n=7)	7,57±5,35 ^a	2	15	10,00±0,57 ^a	10,43±0,53 ^a	9,71±0,75 ^a	10,43±1,27 ^a	9,57±0,97 ^a	10,86±0,69 ^a
CetoTAGsoja (n=6)	8,00±7,79 ^a	1	20	9,83±0,40 ^a	10,17±0,40 ^a	9,83±0,40 ^a	10,33±0,81 ^a	10,17±1,60 ^a	10,17±1,72 ^a
CetoTAGcoco (n=5)	5,00±1,87 ^a	2	7	9,80±2,49 ^a	10,60±1,34 ^a	9,60±1,51 ^a	9,80±0,44 ^a	10,20±0,44 ^a	9,80±0,44 ^a

DURAÇÃO DAS CRE ¹									
Grupos	Duração Total ² (seg)			Variações Intervalares ³ ($\bar{x} \pm DP$)					
	($\bar{x} \pm DP$)	Min	Máx	$\Delta 1$	$\Delta 2$	$\Delta 3$	$\Delta 4$	$\Delta 5$	$\Delta 6$
Controle (n=7)	190,43±141,11 ^a	62	435	99,29±13,04 ^a	114,29±19,02 ^a	91,71±23,0 ^a	106,43±31,3 ^a	91,57±24,50 ^a	121,43±15,99 ^a
CetoTAGsoja (n=6)	181,50±154,67 ^a	25	392	94,67±13,06 ^a	104,00±9,79 ^a	96,00±9,79 ^a	107,33±17,9 ^a	109,00±47,0 ^a	96,50±48,39 ^a
CetoTAGcoco (n=5)	135,20±55,64 ^a	67	187	75,80±42,88 ^a	115,40±34,43 ^a	89,80±39,0 ^a	94,80±11,62 ^a	107,80±17,4 ^a	92,20±17,44 ^a

¹CRE – crises recorrentes espontâneas.

²Nos dezenove dias de experimento.

³Variação das médias da frequência e da duração das crises em seis intervalos de tempo ($\Delta 1=t3-t1$; $\Delta 2=t6-t3$; $\Delta 3=t9-t6$; $\Delta 4=t12-t9$; $\Delta 5=t15-t12$, $\Delta 6=t19-t15$; t – tempo em dias).

Letras iguais em uma mesma coluna indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey HSD ($P \geq 0,05$).

Comparando-se os dados relativos às variações médias da frequência e da duração das CRE entre o 19º e o 1º dia de experimento, aqui denominadas $\Delta(19-1)$, observadas nas Figuras 1 e 2, verifica-se que o grupo CetoTAGcoco apresentou variação da frequência e da duração das CRE significativamente menor que o grupo Controle ($P<0,05$). O grupo CetoTAGsoja, por sua vez, não diferiu dos demais.

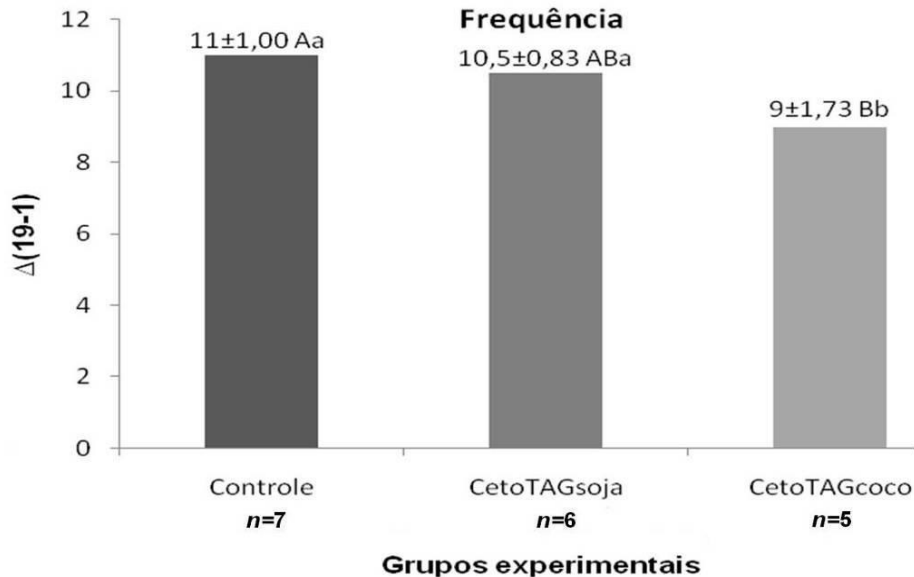


Figura 1. Variações da frequência (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) entre o 19º e o 1º dia de experimento, $\Delta(19-1)$, dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em 19 dias de protocolo experimental. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey HSD, maiúsculas, ou Dunnett-t, minúsculas ($P<0,05$).

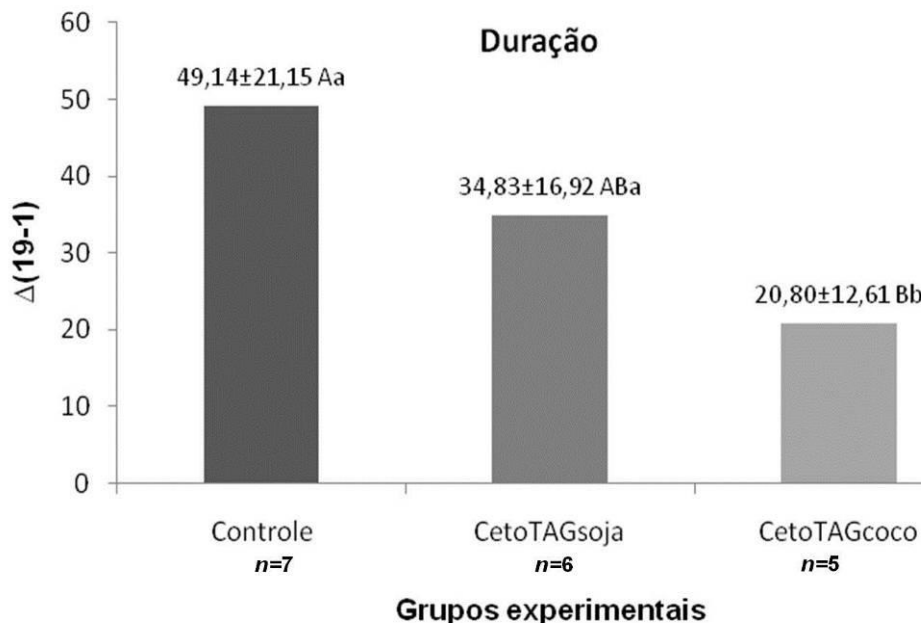


Figura 2. Variações da duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE) entre o 19º e o 1º dia de experimento, $\Delta(19-1)$, dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, em 19 dias de protocolo experimental. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey HSD, maiúsculas, ou Dunnett-t, minúsculas ($P<0,05$).

Em relação aos valores médios de frequência das CRE no 1º e no 19º dia de experimento, não se verificou diferença significativa entre os três grupos experimentais (Figura 3). Os dados relativos às médias da duração das CRE nesses dias, por sua vez, diferiram significativamente no 19º dia entre os grupos Controle e CetoTAGcoco (Figura 4).

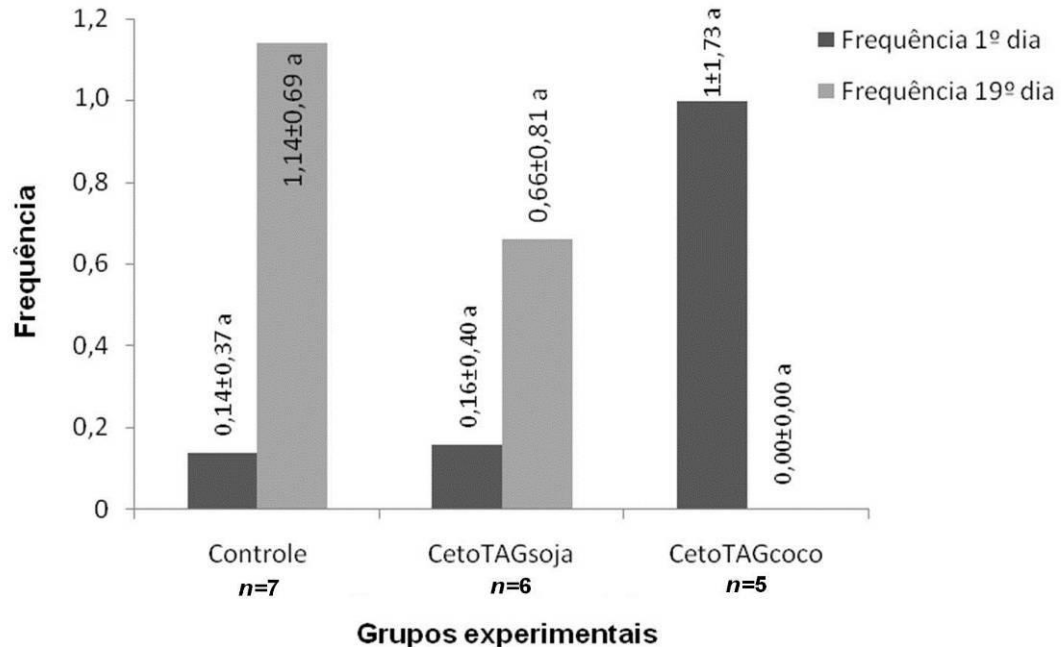


Figura 3. Frequência (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE), no 1º e no 19º dia do protocolo experimental, dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco. Letras iguais indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Tukey HSD ($P>0,05$).

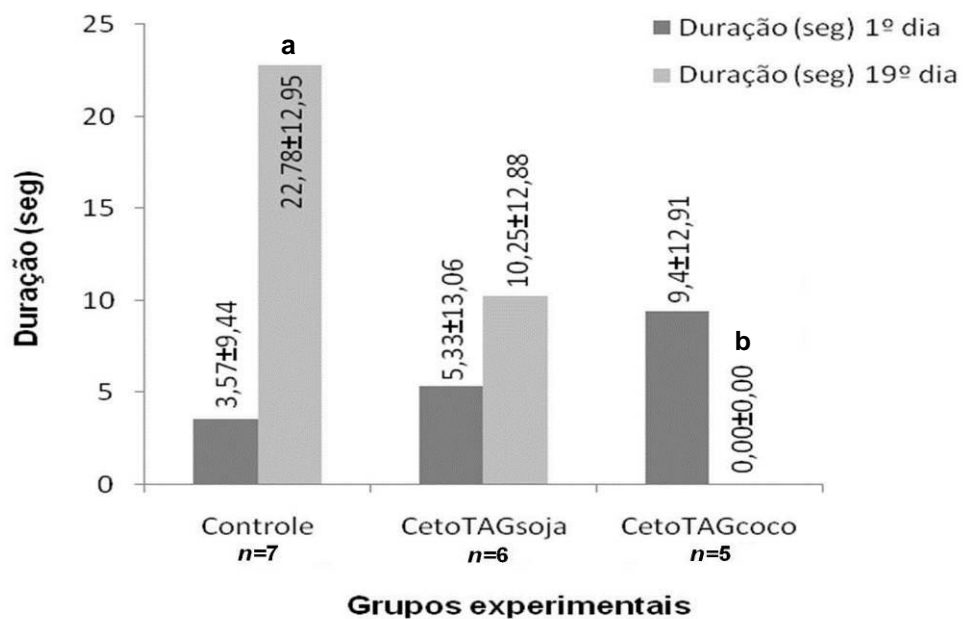


Figura 4. Duração (média±DP) das crises recorrentes espontâneas (CRE), no 1º e no 19º dia experimental, dos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco. Letras diferentes indicam diferença significativa, no 19º dia de experimento, pelo teste de Tukey HSD ($P<0,05$).

Na análise da frequência diária das CRE (média±DP), nos dezanove dias do período experimental, verifica-se diferença significativa entre os grupos Controle (0,00±0,00) e CetoTAGsoja (2,00±2,44), no 5º dia. No 16º dia, também se observa diferença significativa entre os grupos Controle (1,42±2,14) e CetoTAGsoja (0,16±0,40). O grupo CetoTAGcoco não diferiu dos demais (Figura 5).

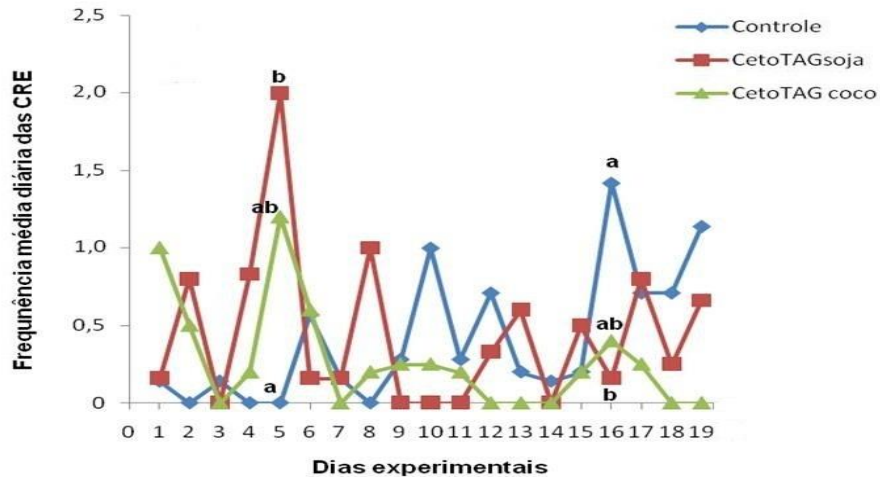


Figura 5. Frequência média diária das crises recorrentes espontâneas (CRE) nos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, nos 19 dias do período experimental. Letras diferentes indicam diferença significativa no 5º e no 16º dias, pelo teste de Tukey HSD ($P<0,05$).

Analisando-se os dados referentes à duração diária das CRE (média±DP), nos dezanove dias, verifica-se diferença significativa entre os grupos Controle, 0,00±0,00 e 22,85±12,95, e CetoTAGcoco, 16,20±15,81 e 0,00±0,00, no 5º e 19º dias, respectivamente. O grupo CetoTAGsoja não diferiu dos demais (Figura 6).

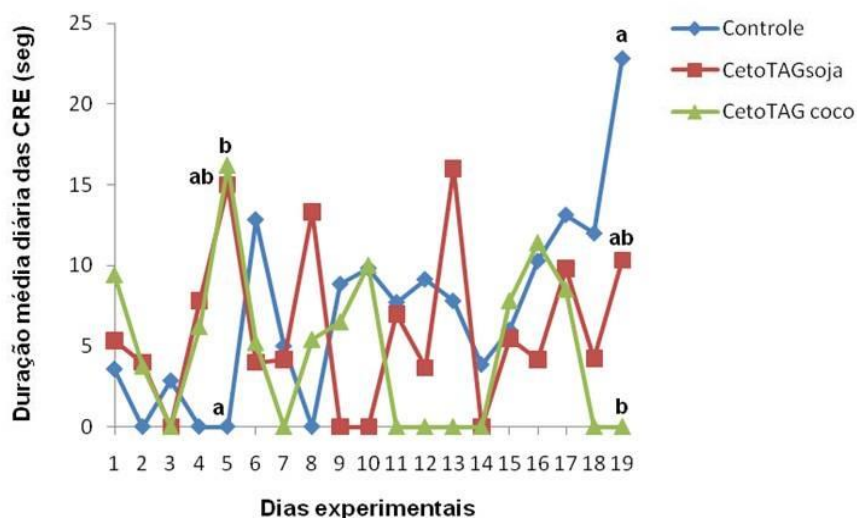


Figura 6. Duração média diária das crises recorrentes espontâneas (CRE) nos grupos Controle, CetoTAGsoja e CetoTAGcoco, nos 19 dias do período experimental. Letras diferentes indicam diferença significativa no 5º e no 19º dias, pelo teste de Tukey HSD ($P<0,05$).

DISCUSSÃO

A capacidade dos roedores de adaptar a sua ingestão alimentar em resposta a modificações dietéticas que lhes são impostas já é um fenômeno reconhecido (LUCENA et al., 2010; WURTMAN, 1983). No presente estudo, observou-se que os animais dos grupos cetogênicos consumiram quantidade de ração semelhante entre si, porém, menor que os animais do grupo Controle. Dada a maior densidade energética das dietas cetogênicas, tal fenômeno era esperado, como uma resposta adaptativa dos animais. Isto pode ser percebido pela ausência de diferença significativa de consumo energético e, ainda, de ganho de peso entre os diferentes grupos de animais. O coeficiente de eficiência alimentar, índice que avalia a qualidade da dieta a partir do ganho ponderal dos animais, também não diferiu entre os grupos. Dessa forma, pode-se supor que os animais, independente do tratamento dietético a que estavam submetidos, não apresentaram diferenças de crescimento entre si.

Em relação ao ganho de peso, estudos têm demonstrado que animais submetidos à dieta cetogênica apresentaram menor ganho de peso que aqueles submetidos à dieta controle (BOUGH et al., 2000a; BOUGH et al., 2000b). Particularmente no estudo de Lucena et al. (2010), essa redução no ganho de peso foi observada apenas da segunda à quinta semana de exposição à dieta cetogênica. A partir da sexta semana de experimento, os animais dos grupos cetogênicos apresentaram peso equivalente ao grupo controle. O potencial efeito redutor da DC sobre o ganho de peso dos animais, demonstrado em trabalhos anteriores, não foi observado no presente estudo. Talvez o tempo de exposição às dietas não tenha sido suficientemente longo para se evidenciar tal efeito.

Em virtude da DC ser considerada uma importante ferramenta terapêutica para a epilepsia intratável na infância, estudos comparando seus efeitos sobre o crescimento e o desenvolvimento animal são particularmente interessantes. Tal argumento é igualmente reforçado pelo reduzido corpo de informações a esse respeito, sobretudo com relação à utilização de diferentes fontes lipídicas, nos moldes da DC clássica ou à base de TCM.

A eficácia antiepiléptica da DC tem sido demonstrada em numerosos modelos de estudos animais e humanos; no entanto, os conhecimentos acerca dos seus mecanismos de ação ainda não estão completamente elucidados (PHAN, 2007). Grande parte desses estudos demonstra o potencial efeito antiepiléptico via ação

neuroprotetora da DC, através da redução na produção de espécies reativas de oxigênio, dentre outras razões (LINARD et al., 2010; NOH et al., 2003).

Por outro lado, existem relatos na literatura acerca de efeitos pró-convulsivantes, portanto deletérios, dessa terapêutica dietética. Esses achados controversos se devem, em parte, à ausência de padronização dos protocolos de investigação, que incluem uma grande variedade de tratamentos dietéticos, no tocante às diferenças na composição das dietas e no tempo de exposição às mesmas, dentre outras, idade de início do tratamento e diferentes espécies animais, dificultando a comparação dos resultados (BOUGH et al., 2002; THAVENDIRANATHAN et al., 2000).

Neste trabalho, não se observou diferença significativa de frequência total e de duração total das CRE entre os grupos submetidos às dietas cetogênicas ou à dieta controle. Apesar de ausência de significância, um possível efeito protetor sobre as CRE poderia ser atribuído à dieta cetotagcoco, quando comparada às demais, uma vez que os valores absolutos mínimos e máximos apresentaram-se menores, em ambas as variáveis, nos animais deste grupo (Tabela 3). Talvez o curto período de exposição ao tratamento dietético possa ter contribuído para a falta de resultados mais robustos. De acordo com Bough e Rho (2007), a eficácia máxima da DC só é atingida após dias a semanas do início do tratamento dietético, sugerindo que programas metabólicos adaptativos e/ou genéticos estariam envolvidos na proteção das crises.

Apesar da busca em promover homogeneidade de frequência das CRE entre os grupos de animais no início do tratamento dietético, ao comparar os valores da frequência das CRE no 1º e no 19º dia de tratamento, observam-se valores absolutos no 1º dia discrepantes, embora não significativos, do grupo Cetotagcoco, quando comparado aos demais. Contudo, para além dos dados absolutos, observou-se uma inversão do fenômeno, ou seja, valores de frequência das CRE no 19º dia de tratamento dietético inferiores àqueles encontrados no 1º dia, para o grupo Cetotagcoco, diferente do observado para os demais grupos. Adicionalmente, o grupo Cetotagcoco apresentou duração média das CRE significativamente inferior ao grupo Controle, no 19º dia de tratamento (Figuras 3 e 4). Considera-se, ainda, que o principal achado na presente investigação foram os valores significativamente menores de variação da frequência e da duração das CRE entre o 19º e o 1º dia de tratamento dietético, $\Delta(19-1)$, apresentados pelo grupo Cetotagcoco, em relação ao grupo Controle. O grupo Cetotagsoja ocupou uma

posição intermediária (Figura 2). No conjunto, estes dados corroboram com a possibilidade de um efeito protetor do óleo de coco sobre as CRE.

Estudos prévios têm sugerido que protocolos dietéticos que aumentam os níveis de cetonas, a exemplo da DC, podem reduzir a formação de radicais livres no cérebro, mediando, assim, a neuroproteção, através da atividade antioxidante (MAALOUF et al., 2007). Neste sentido, o estudo realizado por Nevin e Rajamohan (2008) demonstrou um alto potencial antioxidante do óleo de coco, efeito atribuído ao seu alto conteúdo em polifenóis. Em estudos adicionais do mesmo grupo, observou-se que o óleo de coco virgem foi capaz de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes, tais como a catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD), que atuam na defesa contra as espécies reativas de oxigênio e na prevenção da peroxidação lipídica (NEVIN e RAJAMOHAN, 2004, 2006). Desse modo, é oportuno destacar uma possível potencialização das propriedades antioxidantes e neuroprotetoras da DC à base de óleo de coco virgem.

Quando as análises dos fenômenos comportamentais foram feitas dia a dia do período experimental, diferenças significativas foram encontradas em apenas dois dias, para as variáveis frequência e duração das CRE. A frequência média das CRE no 5º dia de tratamento apresentou-se significativamente maior nos animais do grupo CetoTAGsoja, que no grupo Controle. No 16º dia, o fenômeno se inverteu, onde o grupo CetoTAGsoja apresentou menor frequência de crises comparado ao grupo Controle. Apesar de o grupo CetoTAGcoco não ter diferido significativamente dos demais, apresentou uma tendência de redução da frequência das crises, notadamente nos três últimos dias de tratamento dietético (Figura 5). Considerando que no 5º dia de experimento os animais ainda se encontravam em fase de adaptação ao novo regime alimentar, somada à dispersão dos dados esperada em um estudo comportamental, a maior frequência de crises apresentada pelo grupo CetoTAGsoja parece não traduzir um achado fisiológico propriamente dito. Estas observações são paralelas às experiências clínicas e aos estudos com animais encontrados na literatura, que comprovam a necessidade de um período de dias a semanas para que ocorram mudanças clinicamente notáveis no controle das crises, uma vez que os mecanismos responsáveis pela proteção apresentam um início gradual (FREEMAN et al., 1994).

Neste sentido, Rho et al. (1999) demonstraram que, embora a cetonemia, um dos mecanismos envolvidos na redução das crises, seja observada logo após os primeiros dias de tratamento com a DC, em camundongos jovens com 24 dias de

nascidos, a proteção contra as crises só foi vista após 7 dias de tratamento dietético, sugerindo que é necessário um período mínimo de uma semana para os animais desenvolverem tal proteção. No estudo de Muller-Schwarse et al. (1999) verificou-se que ratos submetidos a DC apresentaram uma redução da frequência e da duração das CRE, bem como redução do brotamento de fibras musgosas e da perda celular na região supragranular do giro denteado, após 8 semanas de tratamento dietético, sugerindo que a DC pode retardar o processo de epileptogênese.

Com relação à duração média das CRE no 5º dia de tratamento dietético, o grupo CetoTAGcoco apresentou valores significativamente mais elevados que o grupo Controle. Nos últimos três dias do protocolo experimental, no entanto, observou-se uma inversão do fenômeno, sobretudo no 19º dia, onde o grupo CetoTAGcoco apresentou valores significativamente inferiores ao grupo Controle (Figura 6). Dessa forma, é oportuno destacar que apesar de sutil, a tendência de redução da frequência das CRE observada nos três últimos dias (Figura 5) no grupo CetoTAGcoco, somada a menor média de duração no último dia (Figura 6) apontam, mais uma vez, para um potencial efeito protetor da dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre as CRE.

Diante do exposto, acredita-se que um tempo maior de exposição às dietas cetogênicas, especialmente àquela à base de óleo de coco, contribuiria para que as adaptações metabólicas responsáveis pela ação antiepiléptica da dieta pudessem ocorrer satisfatoriamente, destacando o seu efeito protetor. Pesquisas nesta área são particularmente interessantes, principalmente no contexto de utilização de diferentes fontes lipídicas, em proporções cetogênicas, a fim de melhor determinar os benefícios produzidos por esta terapêutica.

CONCLUSÕES

Os resultados aqui apresentados sugerem que a dieta cetogênica à base de óleo de coco extra-virgem pareceu exercer um efeito protetor sobre as crises epiléticas, particularmente sobre a frequência e a duração das crises recorrentes espontâneas, em ratos. Tal resultado, associado a estudos adicionais que atestem a confiabilidade e a tolerabilidade do óleo de coco, particularmente em proporções cetogênicas, em função dos questionamentos existentes na literatura sobre as suas repercussões cardiovasculares, poderia indicar um benefício potencial do óleo de

coco no controle das crises epilépticas, especialmente para indivíduos portadores de epilepsia refratária a medicamentos.

REFERÊNCIAS

1. Atwater WO, Bryant AP. Dietary studies of university boat crews. USDA Office of Experiment Stations Bulletin 75. Government Printing Office, Washington, DC. 1900.
2. Bough KJ, Yao SG, Eagles DA. Higher ketogenic diet ratios confer protection from seizures without neurotoxicity. *Epilepsy Research* 2000a; (38): 15–25.
3. Bough KJ, Matthews PJ, Eagles DA. A Ketogenic diet has different effects upon seizures induced by maximal electroshock and by pentylenetetrazole infusion. *Epilepsy Research* 2000b; 38:105-114.
4. Bough KJ, Gudi K, Han FT, Rathod AH, Eagles DA. An anticonvulsant profile of the ketogenic diet in the rat. *Epilepsy Research* 2002; 50: 313-325.
5. Bough KJ, Rho JM. Anticonvulsant mechanisms of the ketogenic diet. *Epilepsia* 2007; 48(1): 43-58.
6. Calabrese C, Myer S, Munson S, Tunet P, Birdsall TC. A cross-over study on effect of single oral feeding on medium-chain triglyceride oil vs. Canola oil on post-ingestion plasma triacylglyceride levels in healthy men. *Altern Med Rev* 1999; 4(1): 23-28.
7. Cavaleiro EA. The pilocarpine model of epilepsy. *Ital J Neurol Sci* 1995; 16: 33-37.
8. Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procópio J. Entendendo as gorduras - Os ácidos graxos. Ed Manole. São Paulo, 2002
9. Fuentes JAG. Que alimentos convêm ao coração? *Higiene Alimentar*. 1998; 12(53):7-11.
10. Guo W, Xie W, Han J, Modulation of adipocyte lipogenesis by octanoate: involvement of reactive oxygen species. *Nutrition & metabolism* 2006; 3: 30.
11. Kossoff E. More fat and fewer seizures: dietary therapies for epilepsy. *Lancet Neurol* 2004; (3): 415–420.
12. Li DF, Thaler RC, Nelssen JL, Harmon DL, Allee GL, Weeden TL. Effect of fat sources and combinations on starter pig performance, nutrient digestibility and intestinal morphology. *J Anim Sci* 1990; 68: 3694-3704.
13. Linard B, Ferrandon A, Koning E, Nehlig A, Raffo E, Ketogenic diet exhibits neuroprotective effects in hippocampus but fails to prevent epileptogenesis in the lithium-pilocarpine model of mesial temporal lobe epilepsy in adult rats. *Epilepsia* 2010; 51(9): 1829-1836.
14. Liu YC, Williams S, Basualdo-Hammond B, Stephens D, Curtis R. A prospective study: Growth and nutritional status of children treated with the ketogenic diet. *J Am Diet Assoc* 2003; (103): 707-712.
15. Lucena ALM, Oliveira SL, Ataíde TR, Silva AX, Cabral Jr. CR, Oliveira MAR, et al. High-fat diet based on trienantin has no adverse metabolic effects in rats. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2010;112(2):166-72.

16. Maalouf M, Sullivan PG, Davis L, Kim DY, Rho JM. Ketones inhibit mitochondrial production of reactive oxygen species production following glutamate excitotoxicity by increasing NADH oxidation. *Neuroscience* 2007; 145: 256-264.
17. Nevin KG, Rajamohan T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameters and in vitro LDL oxidation. *Clinical Biochemistry* 2004; 37: 830-835.
18. Nevin KG, Rajamohan T. Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats. *Food Chemistry* 2006; 99: 260-266.
19. Nevin KG, Rajamohan T. Influence of virgin coconut oil on blood coagulation factors, lipid levels and LDL oxidation in cholesterol fed Sprague-Dawley rats. *The European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2008; 3: 1-8.
20. Noh HS, Kim YS, Lee HP, Chung KM, Kim DW, Kang SS, Cho GJ, Choi WS. The protective effect of a ketogenic diet on kainic acid-induced hippocampal cell death in the male ICR mice. *Epilepsy Research* 2003; 53: 119-128.
21. Norulaini NAN, Setianto WB, Zaidul ISM, Nawi AH, Azizi CYM, Omar AKM. Effects of supercritical carbon dioxide extraction parameters on virgin coconut oil yield and medium-chain triglyceride content. *Food Chemistry* 2009; (116): 193-197.
22. Nosaka N, Hideaki M, Suziki Y, Haruna H, Ohara A, Kasai M, Tsuji H, Aoyama T, Okazaki M, Igarashi O, Kondo K. Effects of margarine containing medium-chain triacylglycerols on body fat reduction in humans. *J Atheroscler Thromb*, 2003; (10): 290-298.
23. Oliveira MAR, Ataíde TR, Oliveira SL, Lucena ALM, Lira CEPR, Soares AA, Almeida CBS, Ximenes-da-Silva A. Effects of short-term and long-term treatment with medium- and long-chain triglycerides ketogenic diet on cortical spreading depression in young rats. *Neuroscience Letters* 2008; 434: 66-70.
24. Petschow BW, Batema RP, Ford LL. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to bactericidal properties of medium-chain monoglycerides and free fatty acids. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996; 40(2): 302-306.
25. Phan N. Ketogenic diet as a treatment for refractory epilepsy. *Journal on Developmental Disabilities* 2007; 13(3): 189-204.
26. Reeves GP, Symposium: Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research. *J Nutri* 1997; 127: 838-841.
27. Scorza FA, Arida RM, Naffah-Mazzacoratti MG, Scerni DA, Calderazzo L, Cavalheiro EA. The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned? *An Acad Bras Cienc*. 2009; 81(3): 345-365.
28. Taha AY, Ryan MAA, Cunnane SC. Despite transient ketosis, the classic high-fat ketogenic diet induces marked changes in fatty acid metabolism in rats. *Metabolism Clinical and Experimental* 2005; (54): 1127-1132.
29. Thavendiranathan P, Mendonca A, Dell C, Likhodii SS, Musa K, Iracleous C, Cunnane CS, Burnham MW. The MCT ketogenic diet: effects on animal seizure models. *Experimental Neurology* 2000; 161: 696-703.
30. Vasconcelos MM, Azevedo PMC, Esteves L, Brito AR, Olivares MCD, Herdy GVH. Dieta cetogênica para epilepsia intratável em crianças e adolescentes: relato de seis casos. *Rev Assoc Med Bras* 2004; 50 (4): 380-5.
31. Wurtman RJ. Behavioural effects of nutrients. *Lancet* 1983; (1): 1145-1147.

32. Zupec-Kania BA, Spellman E. An Overview of the Ketogenic Diet for Pediatric Epilepsy. *Nutr Clin Pract.* 2008; (23): 589-596.

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Maceió – AL, 15/07/2009

Senhor (a) Pesquisador (a), Terezinha da Rocha Ataíde
Euclides Maurício Trindade Filho
Elisabete da Silva Mendonça Rego

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), em 15/07/2009 e com base no parecer emitido pelo (a) relator (a) do processo nº **009389/2009-46b** sob o título **Efeitos da dieta cetogênica à base de óleo de coco sobre o modelo de epilepsia do lobo temporal, induzido por injeção intra-hipocampal de pilocarpina, em ratos**, vem por meio deste instrumento comunicar a aprovação do processo supra citado, com base no item VIII.13, b, da Resolução nº 196/96.

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS 196/96, item V.4).

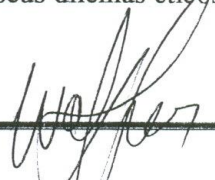
É papel do(a) pesquisador(a) assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e sua justificativa. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o(a) pesquisador(a) ou patrocinador(a) deve enviá-los à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem incluídas ao protocolo inicial (Res. 251/97, item IV. 2.e).

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos no Cronograma do Protocolo e na Res. CNS, 196/96.

Na eventualidade de esclarecimentos adicionais, este Comitê coloca-se a disposição dos interessados para o acompanhamento da pesquisa em seus dilemas éticos e exigências contidas nas Resoluções supra - referidas.

(*) Áreas temáticas especiais


 Prof. Dr. Walter Matias Lima
 Coordenador de Comitê de Ética
 em Pesquisa