

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS, EM CURTO PRAZO, DA DEFICIÊNCIA PROTÉICA NOS PARÂMETROS FÍSICOS E BIOQUÍMICOS DE CAMUNDONGOS SWISS

Guilherme Malafaia¹, Régia Ferreira Martins², Marcelo Eustáquio Silva³

RESUMO

O presente estudo investigou os efeitos da deficiência protéica, em curto prazo, sobre alguns parâmetros físicos e bioquímicos de camundongos Swiss. Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais: grupo controle e desnutrição. A massa corpórea dos animais foi medida diariamente entre o 7º e o 14º dia experimental. No 14º dia os animais foram sacrificados e a massa do fígado, baço, coração, pâncreas, cérebro, rins e pulmões, bem como, as concentrações de proteínas totais, albumina e globulinas, foram avaliadas. Os resultados indicaram que, mesmo em um curto período de deficiência protéica, é possível observar efeitos negativos sobre os parâmetros físicos avaliados. Esses resultados reforçam a importância do estado nutricional na manutenção da homeostasia do organismo.

Palavras-chave: *deficiência protéica; desnutrição; camundongos Swiss; parâmetros físicos; parâmetros bioquímicos.*

EVALUATION OF EFFECTS, IN SHORT-TERM, OF PROTEIN DEFICIENCY IN PHYSICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF SWISS MICE

ABSTRACT

This study has investigated the effects of protein deficiency, in short-term, on some physical and biochemical parameters of Swiss mice. The animals were divided into two experimental groups: control and malnutrition. The corporal mass of animals was daily measured between 7º and 14º experimental days. At 14º day the animals were sacrificed and the mass of liver, spleen, heart, pancreas, brain, kidneys and lungs, as well as the concentration of total protein, albumin and globulin were evaluated. The results indicate that, even in a short period of protein deficiency, negative effects on physical parameters evaluated are observed. These results emphasize the importance of nutritional status in the maintenance of homeostasis of the organism.

Key words: *protein deficiency; malnutrition; Swiss mice, physical parameter; biochemical parameter.*

¹Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, MG. E-mail: guilherme@nupeb.ufop.br. (Autor para correspondência).

²Mestranda em Ciências Biológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Núcleo de Pesquisa em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, MG. E-mail: regiaferreiramartins@yahoo.com.br.

³Professor Doutor do Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Nutrição Experimental, Universidade Federal de Ouro Preto, MG. E-mail: masilva@enut.ufop.br.

INTRODUÇÃO

Sabe-se que as deficiências nutricionais (incluindo o déficit protéico) têm sido consideradas um sério problema de saúde pública mundial, afetando diretamente a qualidade de vida de milhares de pessoas, embora o direito intransferível de todo ser humano de não padecer de fome e desnutrição ter sido firmado e reafirmado sucessivamente em conferências realizadas em diversos países membros das Nações Unidas (1).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), mesmo níveis moderados de deficiências nutricionais, detectados por testes bioquímicos ou clínicos, podem provocar sérios prejuízos à saúde humana (2). A desnutrição protéica (DP), por exemplo, considerada uma das deficiências nutricionais mais importantes, tem sido vista como um problema de grande magnitude para parte da humanidade e frequentemente aparece como causa de várias alterações no desenvolvimento humano (3,4).

Geralmente as deficiências nutricionais são designadas por uma desordem resultante de uma dieta inadequada ou não-balanceada, de uma falha na absorção ou na assimilação de elementos dietéticos (5), dentre eles as proteínas. De acordo com Chaves (6), as proteínas apresentam importantes funções no organismo, tais como o crescimento e manutenção de tecidos, formação hormonal, transporte de substâncias, proteção imunológica, além de participarem como catalisadores de reações orgânicas e de servirem como substratos para obtenção de energia.

A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) estimou que 852 milhões de pessoas no mundo, apresentavam deficiência protéica entre os anos de 2000 e 2002, sendo 815 milhões em países em desenvolvimento (7). Dados da OMS mostram que, em países em desenvolvimento, a DP é responsável, direta ou indiretamente, por 54% das 10,8 milhões de mortes de crianças com idade inferior a 5 anos (2), sendo o Brasil considerado o país da América do Sul com o maior número de subnutridos: 15,6 milhões de pessoas, ou 8% da população (8).

Projeções feitas pela Organização das Nações Unidas (ONU) sugerem que por volta do ano de 2025, um bilhão de pessoas, de uma população mundial estimada em 8 bilhões, pode sofrer de DP. Enquanto em termos relativos tem havido algum progresso nos últimos 40 anos, em termos absolutos o número de desnutridos tem diminuído muito pouco (9)

Grande número de pesquisas envolvendo a DP tem sido conduzido em animais de laboratório permitindo maiores esclarecimentos sobre os mecanismos complexos que regem as consequências e as causas da desnutrição. Muitos trabalhos induzem desnutrição nos animais durante a gestação, diminuindo o teor protéico da dieta das fêmeas grávidas (10), outros logo após o nascimento e durante a amamentação (11), diminuindo o teor protéico da dieta oferecida à ninhada, e outros após o desmame, como nos trabalhos de Tostes (12); Xavier et al. (13), Borelli et al. (14); Serafim et al. (15), Marim et al. (16) e Malafaia et al. (17).

Contudo, a partir de quanto tempo de deficiência protéica aparecem os primeiros efeitos sobre os parâmetros físicos e bioquímicos nos indivíduos? Em outras palavras, qual é o tempo mínimo de deficiência protéica, o qual é capaz de levar a prejuízos significativos no organismo? Foi visando a contribuir justamente com o elenco de estudos que buscam uma resposta contundente para esse questionamento, que o presente trabalho foi desenvolvido. Neste artigo serão apresentados os resultados de uma avaliação, em curto prazo, dos efeitos da deficiência protéica sobre alguns parâmetros físicos e bioquímicos de camundongos da linhagem Swiss. A deficiência protéica é um problema ainda frequente nos dias atuais, e na medida em que novos estudos são desenvolvidos sobre o tema, torna-se imprescindível que a sociedade os conheça.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Modelo experimental e dieta experimental

Neste trabalho foram usadas fêmeas de camundongos da linhagem Swiss com idade entre 10 e 12 semanas de vida, oriundas do Laboratório de Nutrição Experimental (Escola de Nutrição) da Universidade Federal

de Ouro Preto (UFOP-MG). Esses animais foram distribuídos homoganeamente de acordo com a massa corpórea e divididos nos seguintes grupos experimentais: grupo controle e grupo desnutrição, os quais foram alimentados com uma dieta controle, contendo 14% de caseína e uma dieta aptotéica, respectivamente.

Os animais do grupo controle receberam dieta composta de ingredientes semi-purificados para roedores de laboratório (de acordo com Reeves et al. (18)), a qual continha 14% de caseína (componente protéico). Por outro lado, os animais do grupo desnutrição receberam dieta contendo os mesmos componentes da dieta controle, porém sem a caseína, baseada no trabalho de Malafaia et al. (17). Vale salientar que, a caseína removida da dieta aptotéica foi substituída por amido de milho e com isso, as duas dietas eram isocalóricas. Na Tabela 1, pode ser observada a composição das dietas controle e aptotéica.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais em gramas para cada 1000 g da dieta (g/kg)

| INGREDIENTES | CONTROLE | DESNUTRIÇÃO |
|--------------------------------------|----------|-------------|
| Caseína ^(*) | 140 | - |
| Óleo de milho | 40 | 40 |
| Sacarose | 100 | 100 |
| Celulose | 50 | 50 |
| Mistura de vitaminas ^(**) | 10 | 10 |
| Mistura de sais ^(***) | 35 | 35 |
| Amido de milho | 625 | 765 |
| Número de animais por grupo | 3 | 3 |

(*) O teor de proteína da caseína usada foi de 70 a 80%.

(**) Mistura de vitaminas: Acetato de retinol, colecalciferol 5, ácido p- amino benzóico, inositol, riboflavina, tiamina HCL, ácido fólico, biotina, cianocobalamina 3, d- α - tocoferol, sacarose q.s.p. As vitaminas foram adquiridas da Merk, Darmstadt, Alemanha.

(***) Mistura de sais: NaCl, HI, MgSO₄·7H₂O, CaCO₃, MnSO₄·H₂O, FeSO₄·7H₂O, CuSO₄·5H₂O, CoCl₂·6H₂O, KH₂PO₄. Os sais foram adquiridos do Reagen, Rio de Janeiro, Brasil.

Os componentes da dieta foram adicionados em ordem crescente de quantidade e, depois de misturados, foram peneirados para garantir a homogeneidade, sendo as dietas oferecidas em pó. Tanto as dietas quanto a água foram oferecidas aos grupos ad libidum durante todo o período experimental. Os animais utilizados foram mantidos sob ciclo periódico claro e escuro de 12 horas à temperatura média de 25±2°C no Biotério do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Ouro

Preto, confinados em gaiolas coletivas (3 animais por gaiola) do tipo metálica convencional para criação de camundongos com área rigorosamente de acordo com as recomendações internacionais de piso e altura por espécie e grupos de animais.

2. Avaliação dos parâmetros físicos dos animais

Após a divisão dos grupos experimentais, os animais passaram por um período de sete dias de aclimação das dietas experimentais, para apenas a partir desse período serem avaliados. Assim, com o intuito de determinar o efeito da deficiência protéica, em curto prazo, sobre as massas corpóreas dos animais, essas foram determinadas entre o 7º e 14º dia do experimento (uma semana após a introdução das dietas experimentais). Ao final do experimento, todos os animais foram sacrificados (por deslocamento cervical) e tiveram as massas de seus órgãos mensuradas. Os órgãos avaliados foram o fígado, baço, coração, pâncreas, cérebro, rins e os pulmões.

3. Avaliação dos parâmetros bioquímicos dos animais

Visando avaliar os efeitos da deficiência protéica, em curto prazo, em alguns parâmetros bioquímicos foram realizadas as avaliações das concentrações séricas de proteínas totais, albumina e globulinas dos animais investigados. A seguir, são descritos especificamente a metodologia empregada na determinação dos parâmetros bioquímicos mencionados anteriormente.

3.1. Proteínas totais

A avaliação da concentração sérica de proteínas totais foi realizada pelo método do Biureto, utilizando-se o kit comercial Labtest Diagnóstica S.A.®, Cat. 99, Lagoa Santa, MG, Brasil. Nesse método, os íons cobre (Cu⁺²) em meio alcalino (reagente de biureto) reagem com as ligações peptídicas das proteínas séricas formando cor púrpura, que tem absorvância máxima em 545 nm, proporcional à concentração das proteínas na amostra. O kit fornece um padrão com concentração 4,0 g/dL.

A realização da dosagem bioquímica de proteínas totais seguiu o procedimento simplificado na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidade de cada componente necessário à avaliação sérica de proteínas totais.

| | BRANCO | TESTE | PADRÃO |
|---------------------|---------|---------|---------|
| Amostra | - | 20 µL | - |
| Padrão | - | - | 20 µL |
| Água destilada | 20 µL | - | - |
| Reagente de biureto | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |

Após a homogeneização, os tubos foram incubados à temperatura de 37°C por 10 min. Em seguida, o espectrofotômetro foi zerado com o branco e as absorvâncias dos testes e padrão foram obtidas a 545 nm. Para se obter a concentração de proteínas totais nas amostras o seguinte cálculo foi realizado:

$$\text{Proteínas totais (g/dL)} = \frac{(\text{absorbância do teste/absorbância do padrão})}{4} \times (4 \text{ g/dL})$$

3.2. Albumina

A avaliação da concentração sérica de albumina foi realizada pelo sistema de medição que se baseia no desvio do pico de absorvidade máxima do corante verde de bromocresol, utilizando-se o kit comercial Labtest Diagnóstica S.A.®, Cat. 19, Lagoa Santa, MG, Brasil. A cor formada é proporcional à quantidade de albumina na amostra.

Para a realização da dosagem de albumina sérica foi adotado o procedimento simplificado na Tabela 3.

Tabela 3. Quantidade de cada componente necessário à avaliação sérica de albumina

| | BRANCO | TESTE | PADRÃO |
|-----------------|---------|---------|---------|
| Reagente de cor | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |
| Amostra | - | 10 µL | - |
| Padrão | - | - | 10 µL |

Após a realização desse procedimento os tubos foram misturados e depois de 2 minutos o espectrofotômetro foi zerado com o branco e as absorvâncias dos testes e do padrão foram obtidas a 630 nm. Para se obter a concentração de albumina nas amostras, o seguinte cálculo foi realizado:

$$\text{Albumina (g/dL)} = \frac{(\text{absorbância do teste/absorbância do padrão})}{3,8} \times 3,8$$

3.3. Globulinas

Para a determinação da concentração sérica de globulinas totais no sangue dos animais estudados, foram utilizados os resultados de proteínas totais e albumina. Para se obter a concentração de globulinas nas amostras, o seguinte cálculo foi adotado:

$$\text{Globulinas (g/dL)} = \text{proteínas totais (g/dL)} - \text{albumina (g/dL)}$$

2.4. Obtenção do Soro

Para a realização das avaliações bioquímicas, os animais ficaram em jejum por no mínimo 9h, sendo as coletas de sangue realizadas no plexo ocular e o sangue colocado em tubos de fundo cônico de 1,5 mL. Um volume de sangue de aproximadamente 400 µL foi obtido por animal. Após coagulação, as amostras de sangue foram centrifugadas a 600 xg por 10 min para obtenção do soro utilizado nas avaliações bioquímicas, as quais foram realizadas no mesmo dia. A Figura 1 apresenta o delineamento experimental do estudo.

Assim, com a adubação orgânica ou inorgânica feitas por fertilizantes comerciais, nutrientes são adicionados em excesso e tendem a escoar superficialmente pelo terreno. Os nutrientes podem escoar até atingir, eventualmente um lago, rio ou represa, podendo originar grandes danos à comunidade aquática, como os processos de eutrofização⁴ (7).

⁴ A eutrofização é o crescimento excessivo das plantas aquáticas, tanto planctônicas quanto aderidas, a níveis tais que sejam considerados como causadores de interferências com os usos desejáveis do corpo d'água (THOMANN e MUELLER, 1987 *apud* VON SPERLING, 1996).

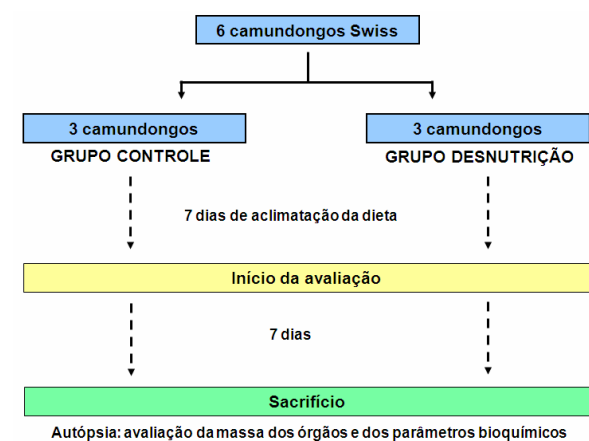


Figura 1. Delineamento experimental.

2.6. Análise estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Anderson-Darling e, em seguida, submetidos ao Teste t de Student. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando os valores de p foram menores que 0,05 ($p < 0,05$). Para isso, o software estatístico Minitab® foi utilizado (19).

2.7. Questões éticas relativas ao estudo

O presente trabalho foi realizado de acordo com as normas internacionais de proteção aos animais e com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Todos os procedimentos experimentais adotados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Parâmetros físicos

Os primeiros resultados deste trabalho dizem respeito à massa corpórea dos animais, avaliada entre o 7º e 14º dia experimental. Conforme demonstrado na Figura 2, foi possível observar uma diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) da massa corpórea dos animais submetidos à deficiência protéica, quando comparada à massa dos animais alimentados com dieta controle.

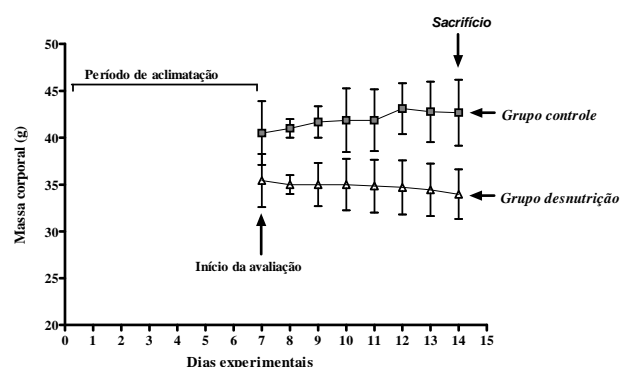


Figura 2. Variação da massa corpórea dos animais estudados. Os dados apresentados são expressos em média \pm desvio padrão. A análise estatística foi realizada pelo teste t de Student. Grupo Controle ($n = 3$) e desnutrição ($n = 3$).

Conforme demonstrado e discutido recentemente no estudo de Vituri et al. (20), os animais alimentados com dietas deficientes em proteínas apresentam uma acentuada redução no consumo de ração, comportamento esse que pode explicar, em grande parte, a intensa perda de massa corpórea dos animais. O tecido muscular esquelético é sensível à deficiência protéica por ser um reservatório de proteína no organismo (21) e dessa forma, quando há deficiência protéica na dieta esse tecido torna-se alvo de depleção (22, 23), ocasionando significativa perda de massa muscular e, conseqüentemente, corporal. Por outro lado, conforme estudos mostram que tanto o metabolismo de carboidratos quanto o de proteínas sofrem influência da carência de proteínas na dieta, apresentando redução dos estoques de glicogênio e proteínas musculares e hepática, fatos esses que podem ser responsáveis pela rápida diminuição da massa corpórea diante de uma situação de deficiência de proteínas na dieta (24, 25). Assim, sugerimos que estes fatos podem explicar, em grande parte, a redução significativa da massa corpórea dos animais submetidos à dieta de aprotéica, mesmo que por um curto período, que de acordo com Lucas (26), pode ser usada como um indicador básico de desnutrição protéica.

A queda de massa corpórea em função da ingestão de dietas deficientes em proteínas é uma resposta que vem se repetindo em vários estudos envolvendo a DP, sendo esse um fenômeno amplamente relatado na literatura (12-14, 17, 21, 27). Entretanto, há de se ressaltar que em todos esses estudos um protocolo experimental superior a 4 semanas de dieta hipoprotéica foi utilizado,

diferentemente do delineamento experimental usado no presente estudo.

No que tange à avaliação das massas dos órgãos avaliados, foi observada uma redução significativa na massa do fígado e do baço dos animais submetidos à deficiência protéica em relação aos animais do grupo controle (Figura 3 e 4), indicando que mesmo em um curto período de déficit protéico, efeitos negativos nesses órgãos são observados. A diminuição das massas desses órgãos pode refletir em danos nas funções desempenhadas pelos respectivos órgãos.

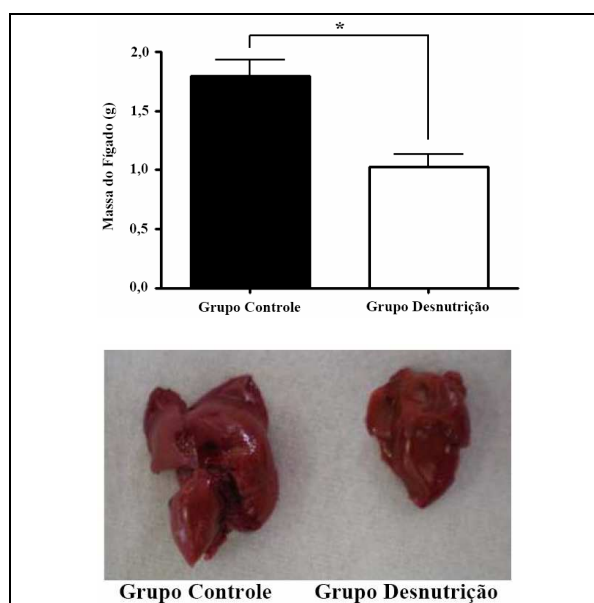


Figura 3. Massa (g) e aspecto visual do fígado dos animais estudados. *Diferenças entre os grupos são consideradas significativas ($p = 0,03$). Os resultados são expressos em média + desvio padrão. Grupo Controle ($n = 3$) e desnutrição ($n = 3$).

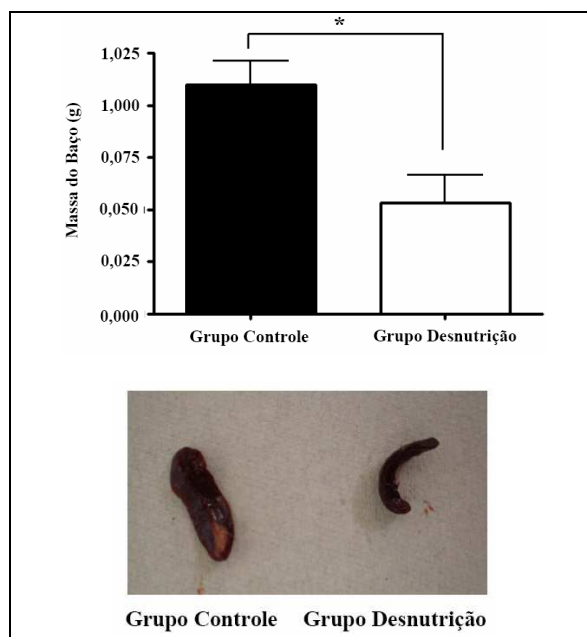


Figura 4. Massa (g) e aspecto visual do baço dos animais estudados. *Diferenças entre os grupos são consideradas significativas ($p = 0,03$). Os resultados são expressos em média + desvio padrão. Grupo Controle ($n = 3$) e desnutrição ($n = 3$).

A literatura aponta para o fato de que o fígado e o baço são órgãos responsáveis por importantes funções no organismo. O fígado, conforme destacado por Mies (28), funciona como um laboratório químico e realiza diversas funções vitais ao organismo, dentre elas, o armazenamento de diversas vitaminas; proporciona a liberação de glicose para os vários órgãos; pode transformar o excesso de glicídios e proteínas em lipídeos; fabrica várias proteínas do sangue; faz a desaminação dos aminoácidos para que possam ser queimados ou transformados em glicídios ou lipídeos; fabrica os demais aminoácidos do corpo, a partir dos aminoácidos essenciais; tem ação desintoxicante; entre outras. Já o baço, apresenta papel importante nas defesas do organismo, através dos mecanismos de filtração, fagocitose e síntese de fatores de complemento e imunoglobulinas, conforme descrito por Balfanz et al. (29), Schwartz et al. (30) e Witte et al. (31).

Quanto às avaliações das massas dos rins, pulmões e do pâncreas, foi observada uma forte tendência à diminuição das mesmas nos animais do grupo desnutrição, quando comparados com os animais do grupo controle (Figura 5, 6 e 7). Já quanto às avaliações das massas do cérebro e coração dos animais investigados (Figura 8 e 9), nenhuma diferença foi observada.

De acordo com Abreu et al. (27), a DP é causa de várias manifestações clínicas, porém as alterações mais aparentes são aquelas que se verificam nas medidas e no peso, tanto do corpo como um todo, quanto dos diversos órgãos, corroborando os resultados obtidos neste trabalho. Assim, nossos dados apontam para o fato de que não é necessário um período prolongado de deficiência protéica para que os sinais da desnutrição apareçam. Conforme descrito por Madi & Campos (32), Robbins et al. (33) e Nunes et al. (34) as alterações anatômicas na deficiência protéica podem ser generalizadas, como hipoplasia e atrofia dos tecidos e, conseqüentemente, diminuição do tamanho corporal e dos órgãos. Portanto, a análise da massa dos órgãos analisados (especialmente o fígado, baço, pulmões, coração, rins e pâncreas) nos permite verificar o comprometimento de suas massas e estruturas, em detrimento do curto prazo de deficiência protéica imposta aos animais.

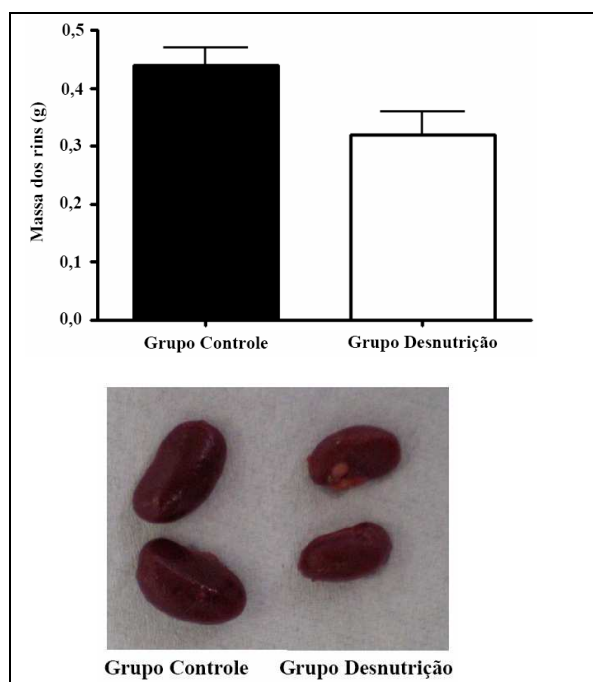


Figura 5. Massa (g) e aspecto visual dos rins dos animais estudados. Resultados expressos em média + desvio padrão ($p = 0,14$). Grupo Controle ($n = 3$) e Desnutrição ($n = 3$).

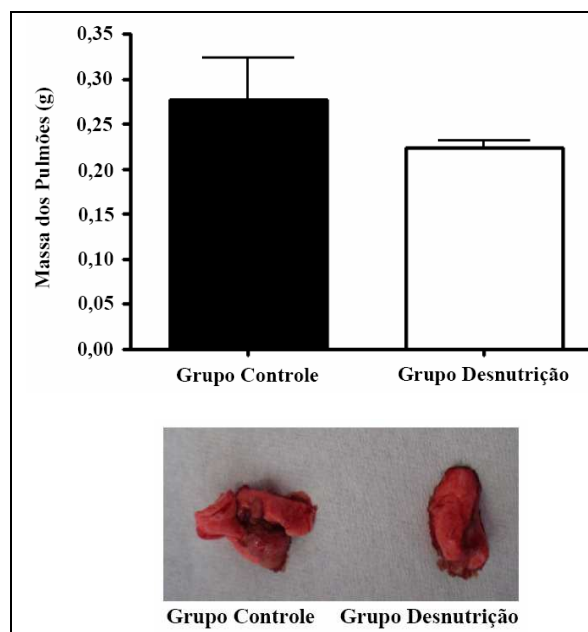


Figura 6. Massa (g) e aspecto visual dos pulmões dos animais estudados. Resultados expressos em média + desvio padrão ($p = 0,17$). Grupo Controle ($n = 3$) e Desnutrição ($n = 3$).

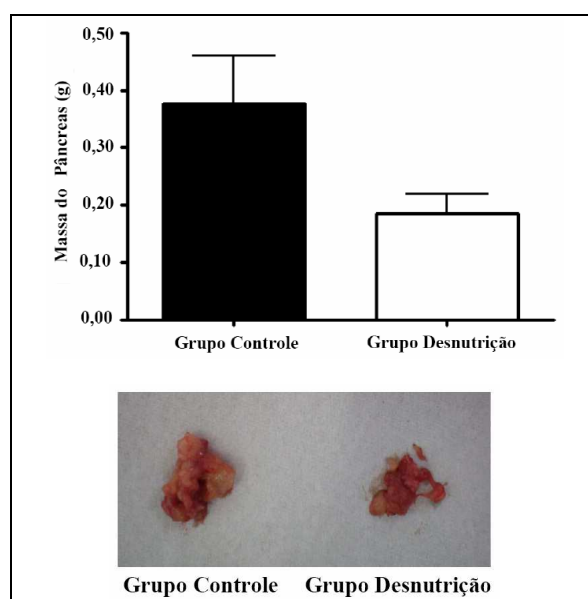


Figura 7. Massa (g) e aspecto visual do pâncreas dos animais estudados. Resultados expressos em média + desvio padrão ($p = 0,06$). Grupo Controle ($n = 3$) e Desnutrição ($n = 3$).

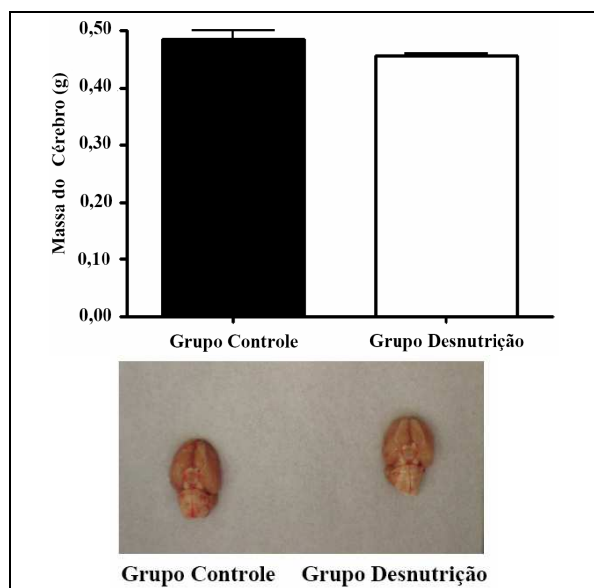


Figura 8. Massa (g) e aspecto visual do cérebro dos animais estudados. Resultados expressos em média + desvio padrão ($p = 0,27$). Grupo Controle ($n = 3$) e Desnutrição ($n = 3$).

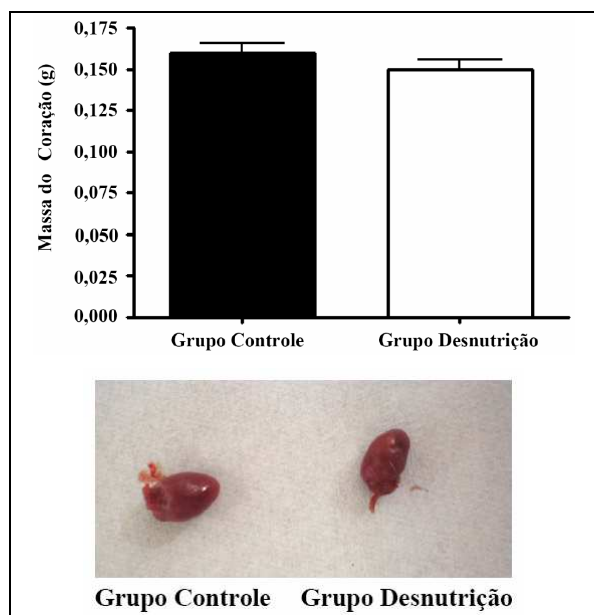


Figura 9. Massa (g) e aspecto visual do coração dos animais estudados. Resultados expressos em média + desvio padrão. Grupo Controle ($n = 3$) e Desnutrição ($n = 3$).

2. Parâmetros bioquímicos

Com relação às avaliações dos parâmetros bioquímicos, os dados obtidos no presente estudo não revelaram diferenças significativas entre as concentrações séricas de proteínas totais, albumina (Figura 10) e globulinas (dados não mostrados) nos animais do grupo desnutrição, resultados que podem ser explicados pelo curto prazo de deficiência protéica ao qual os animais foram submetidos.

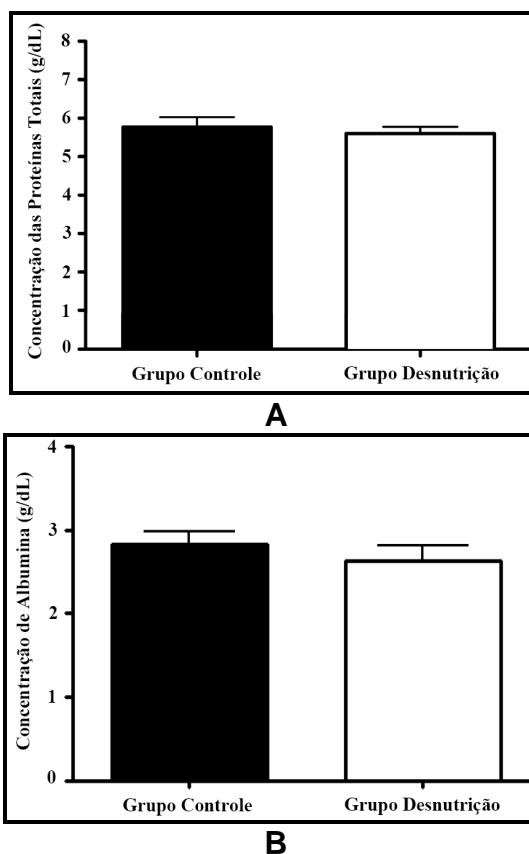


Figura 10. Concentrações séricas de proteínas totais (A) ($p = 0,64$) e albumina (B) ($p = 0,20$) dos animais estudados. Os resultados são expressos em média + desvio padrão. Grupo Controle ($n = 3$) e desnutrição ($n = 3$).

De qualquer forma, é importante ressaltar que a determinação das proteínas plasmáticas pode prover várias informações importantes que refletem o estado geral do indivíduo, tanto no que diz respeito ao seu estado nutricional, quanto à gravidade de doenças severas condicionantes de um estado clínico crítico à sua saúde. Os métodos mais frequentemente usados na avaliação da concentração das proteínas são aqueles que medem a concentração das proteínas totais, usualmente executados através da obtenção do soro do paciente ou animal (35). Conforme discutido por Fontoura et al. (36), a utilização das proteínas séricas como instrumento de avaliação de DP é considerada um importante e confiável medidor, sendo que a síntese das proteínas hepáticas depende da disponibilidade de aminoácidos e o indivíduo com desnutrição terá essa deficiência em seu organismo (37). Já com relação à albumina, esta é a mais abundante proteína plasmática, correspondendo a cerca de 50% das proteínas totais do soro humano (38). Dentre as funções desempenhadas pela albumina destacam-se: a participação na manutenção do volume

plasmático circulante e a manutenção do equilíbrio ácido-básico (39); envolvimento no transporte de uma ampla variedade de substâncias fisiológicas e atuação como reservatório de aminoácidos (40).

Embora não tenham sido observadas diferenças entre os grupos no que tange aos parâmetros bioquímicos, há de se ressaltar que vários estudos têm demonstrado os efeitos negativos da deficiência protéica nesses parâmetros, quando as avaliações são realizadas em um período de tempo maior de deficiência ao adotado no presente estudo.

No estudo de Oliveira & Angelis (41), por exemplo, foram verificadas reduções de até 90% na concentração de albumina plasmática, em camundongos Swiss alimentados com dietas com baixo teor protéico (3% de proteínas) e com dieta aprotéica. No estudo desenvolvido pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Hematologia Experimental da Universidade de São Paulo (USP) (14), os autores observaram, dentre outros aspectos, que camundongos Swiss com DP (alimentados com dieta contendo 4% de caseína) apresentaram uma concentração sérica de albumina significativamente menor do que a verificada nos animais do grupo controle (alimentados com dieta contendo 20% de caseína). Resultados similares também foram observados no trabalho de Xavier et al. (13), no qual os autores observaram que além dos camundongos Swiss, camundongos C57BL/6J alimentados com uma dieta hipoprotéica (4% de caseína), apresentaram baixa concentração de albumina sérica em relação ao grupo alimentado com dieta controle (20% de caseína)

Especificamente com relação às proteínas totais, baixas concentrações deste parâmetro bioquímico são uma característica comumente observada em seres humanos desnutridos (42) e em modelos animais de DP (27, 43-46). Abreu et al. (27), por exemplo, observaram, dentre outros aspectos, uma significativa diminuição da concentração sérica de proteínas totais de ratos com DP em relação ao grupo controle, sendo que resultados similares foram verificados nos estudos de Santhiago et al. (45), Borelli et al. (14), Serafim et al. (15), Xavier et al. (13), Couto et al. (46), Marim et al. (16) e mais recentemente no estudo de Malafaia et al. (17).

Em humanos, tem sido sugerido que a

hipoalbuminemia que acompanha quadros de desnutrição resulta da falta de alimentação ou do alto consumo de carboidratos em relação ao consumo de proteínas. No último caso, o alto consumo de carboidratos, estimularia a liberação de insulina, causando uma distribuição preferencial dos aminoácidos essenciais para os músculos ao invés do fígado (47,48), diminuindo a capacidade dos hepatócitos de sintetizar albumina (29). Se a ingestão de carboidratos for reduzida, acredita-se que o balanço hormonal se reverta e altas concentrações plasmáticas de cortisol induzam uma degradação muscular, tornando os aminoácidos disponíveis para o fígado. Isso permitiria uma proporção mais adequada da síntese hepática de albumina e a manutenção de sua concentração sérica, apesar da perda de peso (47,48).

Os resultados de Coward & Sawyer (47) com ratos alimentados com caseína ad libitum também demonstraram que quanto menor a relação proteína/calorias da dieta, maior é a redução do nível de albumina. Os autores argumentam que, provavelmente, a redução de massa corpórea e, portanto, de músculo nesses animais é tão grave que reduz substancialmente a capacidade do animal não só de prover a albumina extravascular, como de prover aminoácidos em quantidades adequadas para a síntese hepática, levando a grandes prejuízos da capacidade do fígado de sintetizar substâncias.

CONCLUSÕES

Baseado no que foi exposto, pudemos concluir que a deficiência protéica, mesmo que por um curto período de tempo, é capaz de proporcionar efeitos prejudiciais sobre os aspectos físicos dos animais, principalmente no que tange à massa corpórea e à massa de vários órgãos vitais dos mesmos. Esses resultados reforçam a importância do estado nutricional na manutenção da homeostasia do organismo, uma vez que, foi observado que não há necessidade de longos períodos de deficiência protéica para que os primeiros efeitos apareçam. Esperamos com este estudo contribuir com o elenco de estudos disponíveis na literatura que visam a esclarecer as estreitas relações entre o estado nutricional e o funcionamento do organismo. É importante ressaltar que este estudo não pretende ser exaustivo, sendo necessário que outros trabalhos sejam desenvolvidos a fim de avaliar

outros parâmetros não avaliados na presente pesquisa.

Diante da importância da manutenção do bom estado nutricional nos indivíduos e da constatação de que as proteínas são macromoléculas diretamente relacionadas às inúmeras funções orgânicas, é possível que outros aspectos influentes na homeostasia do organismo sejam afetados pela deficiência protéica, mesmo por um curto período de tempo. Nesse sentido, os estudos envolvendo esta temática são importantes, pois podem ajudar na superação de muitos desafios pertinentes à saúde das populações e até mesmo na instituição de medidas preventivas no que tange a deficiência protéica nos indivíduos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

Guilherme Malafaia
Régia Ferreira Martins
Marcelo Eustáquio Silva
E-mail: guilherme@nupeb.ufop.br

Recebido em 26/06/09

Aceito em 17/08/09

REFERÊNCIAS

- (1) MALAFAIA, G. Efeitos das deficiências de ferro e zinco no sistema imune. **Revista da Pesquisa & Pós-Graduação**, v. 8, n. 2, p. 5-9, 2007.
- (2) WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Malnutrition**. Quantifying the health impact at national and local levels. Geneva: World Health Organization, 2005.
- (3) MALAFAIA, G. O sinergismo entre a desnutrição protéico-calórica e a leishmaniose visceral. **Revista Saúde.Com**, Bahia, v. 4, n. 2, p. 134-147, 2008.
- (4) MALAFAIA, G. Malnutrition and infection: a review. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, 2009 (no prelo).
- (5) HUGHES, S.; KELLY, P. Interactions of malnutrition and immune impairment, with specific reference to immunity against parasites. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 11, p. 577-588, 2006.
- (6) CHAVES, N. **Nutrição básica e aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1985.
- (7) FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO), 2004. Disponível em <http://www.fao.org/>. Acesso em: 20 abr. 2007.
- (8) ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU), 2003. Disponível em <http://www.un.org>. Acesso em: 12 abr. 2007.
- (9) DE ONIS, M.; BLÖSSNER, M.; BORGHI, E.; MORRIS, R.; FRONGILLO, E. Methodology for estimating regional and global trends of child malnutrition. **Int J Epidemiol**, v. 33, p. 1260- 1270, 2004.
- (10) MILLIS, R.M.; OFFIAH, G.U. Dietary protein deficiency in pregnant mice and offspring. **Life Sciences**, v. 80, p. 1184-1188, 2007.
- (11) FERREIRA, H.S.; et al. The effectiveness of the "multi-mixture" as supplement to mineral and/or vitamin deficient diets, promoting weight gain in rats submitted to post-natal under-nourishment. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 63-74, 2005.
- (12) TOSTES, M.G.V. **Reflexo barorreceptor em ratos submetidos à recuperação nutricional após a desnutrição protéica**. 2005. 87 f. [Dissertação de Mestrado]. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, 2005.
- (13) XAVIER, J.G., et al. Protein-energy malnutrition alters histological and ultrastructural characteristics of the bone marrow and decreases haematopoiesis in adult mice. **Histology and Histopathology**, v. 22, p. 651-660, 2007.
- (14) BORELLI, P., et al. Reduction of erythroid progenitors in protein-energy malnutrition. **Journal of Nutrition**, v. 97, p. 307-314, 2007.
- (15) SERAFIM, T.D. The effect of malnutrition in the immune response of BALB/c mice in Leishmania chagasi infection. In: XXIII Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology and XXXIV Annual Meeting on Basic Research in Chagas' Disease. Caxambu, 2007. **Anais...** Caxambu, MG, p. 129-130, 2007.
- (16) MARIM, F.M. et al. Malnutrition in Leishmania chagasi infection model evaluation of histological spleen injuries. In: XXXV Annual Meeting on Basic Research in Chaga's Disease and XXIV Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology. Águas de Lindóia, 2008. **Anais...** Águas de Lindóia, SP, p. 131-132, 2008.
- (17) MALAFAIA G, SERAFIM TD, SILVA ME, PEDROSA ML, REZENDE AS. Protein-energy malnutrition decreases immune response to

Leishmania chagasi vaccine in BALB/c mice. **Parasite Immunology**, 2009, v. 31, n. 1, p. 41-49.

(18) REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; Jr. FAHEY, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, 1993, v. 123, p. 1939-51.

(19) MINITAB INC. **Minitab Statistical Software**, Release 14 for Windows [computer program]. Minitab® is a registered trademark of Minitab Inc. Pennsylvania, State College, 2003.

(20) VITURI, C.L.; ALVAREZ- SILVA, M.; TRENTIN, A.G.; BORELLI, P. Capacidade da matriz extracelular da medula óssea de induzir proliferação de células mielóides in vitro no modelo de desnutrição protéica em camundongos. **Braz J Pharma Sci**, 2008, v. 44, n. 3, p. 493- 500.

(21) ALVES, A.P.; DAMASO, A.R.; DAL- PAI, V. Efeito da desnutrição protéica pré e pós- natal sobre a morfologia, a diferenciação e o metabolismo do tecido muscular estriado esquelético em ratos. **Jornal de Pediatria** (Rio de Janeiro), 2008, v. 84, n. 3, p. 264- 271.

(22) DUBOWITZ, V. Enzyme histochemistry of skeletal muscle. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, 1965, v. 28, p.516- 24.

(23) OLIVEIRA, F.L.; OLIVEIRA, A.S.; SCHIMIDT, B.; AMÂNCIO, O.M. Desnutrição energética intra- uterina em ratos: alterações músculo- esqueléticas na 1ª e 2ª gerações. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, 1999, v. 75, p. 350- 6.

(24) WATERLOW, J.C.; WEISZ, J. The fat protein and nucleic acid of liver in malnourished human infant. **The Journal of Clinical Investigation**, 1956, v. 35, p. 346-54.

(25) ALLEYNE, G.A.O.; SCULLARD, G.H. Alterations in carbohydrate metabolism in Jamaican children with severe malnutrition. **Clinical Science**, 1969, v. 37, p. 631-42.

(26) LUCAS, A. Programming by early nutrition: an experimental approach. **Journal of Nutrition**, 1998, v. 128, n. 2, p. 401S-406S.

(27) ABREU, M.A.M.M.; WECKX, L.L.M.; HIRATA, C.H.W. Histological and ultrastructural aspects of the tongue in undernourished rats. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, 2006, v. 72, n. 4, p. 523-7.

(28) MIES S. Transplantes de fígado. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 1998, v. 44, n. 2, p. 127-34.

(29) BALFANZ, J.R., et al. Overwhelming sepsis following splenectomy for trauma. **Journal of Pediatrics**, 1976, v. 88, p. 88:458-60.

(30) SCHWARTZ, P.E., et al. Postsplenectomy sepsis and mortality in adults. **Journal of the American Medical Association**, 1982, v. 111, p. 1325-6.

(31) WITTE, C.L.; ESSER, M.J.; RAPPAPORT, W.D. Updating the management of salvageable splenic injury. **Annals of Surgery**, 1992, v. 215, p. 261-5.

(32) MADI, K.; CAMPOS, S.D. Desnutrição experimental: resultados anátomo-patológicos e bioquímicos da administração de dietas hipoprotéicas e ratos albinos jovens. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 1975, v. 73, n. 3, p. 153-181.

(33) ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. Distúrbios nutricionais. In: ROBBINS, S.L.; CONTRAN, V.; KUMAR, V. (Orgs). **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: **Interamericana**, 1986, p. 390.

(34) NUNES, M.L.; BATISTA, B.B.; MICHELI, F.; BATISTELLA, V. Effects of early malnutrition and nutritional rehabilitation in rats. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 78, n.1, p. 39-44, 2002.

(35) HENRY, J.B. **Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**. New York: W.B. Saunders Company, 1996.

(36) FONTOURA, C.S.M.; CRUZ, D.O.; LONDERO, L.G.; VIEIRA, R.M. Avaliação

nutricional de paciente crítico. **Rev Bras Ter Int**, v. 18, n. 3, p. 298- 306, 2006.

(37) LOGAN, S.; HILDEBRANDT, L.A. The use of prealbumin to enhance nutrition- intervention screening and monitoring of the malnourished patient. **Nutr Today**, v. 38, p. 134-135, 2003.

(38) SANTOS, N.S.J., et al. Serum albumin as nutritional marker of hemodialysis patients. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 339-349, 2004.

(39) DOWEIKO, J.P.; NOMPLEGGI, D.J. Role of albumin in human physiology and pathophysiology. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 15, n. 2, p. 207-11, 1991.

(40) WHICHER, J.; SPENCE, C. When is serum albumin worth measuring? **Journal of The Association for Clinical Biochemistry**, v. 24, p. 572-80, 1987.

(41) OLIVEIRA, I.M.V.; ANGELIS, R.C. Requisitos protéicos mínimos de diferentes fontes vegetais para ratos de laboratório em fase de crescimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 23-28, 2001.

(42) WATERLOW, J.C.; ALLEYNE, G.A.O. **Má nutrição protéica em crianças. Evolução dos conhecimentos nos últimos dez anos**. São Paulo: L.P.M. Editora, 1974.

(43) HEARD, C.R.C.; FUNGI, S.M.; WRIGHT, P.M. Biochemical characteristics of different forms of protein- energy malnutrition: an experimental model using young rats. **Br J Nutr**, v. 37, n. 1, p. 3- 21. 1977.

(44) LAING, C.J.; FRASER, D.R. Changes with malnutrition in the concentration of plasma vitamin D binding protein in growing rats. **Br J Nutr**, v. 88, p. 133-139, 2002.

(45) SANTHIAGO, V.; SILVA, A.S.R.; GOBATO, C.A.; MELLO, M.A.R. Treinamento físico durante a recuperação nutricional não afeta o metabolismo muscular da glicose de ratos. **Rev Bras Med Esporte**, v. 12, n. 2, p. 76- 80, 2006.

(46) COUTO, J.L.A.; VIEIRA, R.C.S.; BARBOSA, J.M.; MACHADO, S.S.; FERREIRA, H.S. Alterações da função hepática de camundongos desnutridos e infectados pelo *Schistosoma mansoni*. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, n. 4, p. 390- 393, 2008.

(47) COWARD, W.A.; WHITEHEAD, R.G.; LUNN, P.G. Reasons why hypoalbuminaemia may or not appear in protein- energy malnutrition. **Brit J Nutr**, v. 38, p. 115- 126, 1977.

(48) MOLDAWER, L.L.; BISTRAN, B.R.; BLACKBURN, G.L. Factors determining the preservation of protein status during protein deprivation. **Jornal of Nutrition**, v. 111, p. 1287- 1296, 1981.

(49) SMITH, J.E.; LUNN, P.G. Albumin- synthesizing capacity of hepatocytes isolated from rats fed diets differing in protein and energy content. **Ann Nutr Metabol**, v. 28, p. 281- 287, 1984.