

ESTUDO PONDERAL E BIOQUÍMICO DE ALGUNS ÓRGÃOS DE RATAS SUBMETIDAS À DESNUTRIÇÃO PROTÉICA OU CALÓRICA, APÓS O DESMAME

*Leda Ulson Mattos**

*Maria Josefina Leuba Salum***

*Maria Leonor Correa Pimentel Amaral****

MATTOS, L.U.; SALUM, M.J.L.; AMARAL, M.L.C.P. – Estudo ponderal e bioquímico de alguns órgãos de ratas submetidas à desnutrição protéica ou calórica, após o desmame. *Rev. Esc. Enf. USP*, 9 (1): 35–47, 1975.

Os autores fizeram um estudo ponderal e bioquímico do fígado, baço, rim, coração e pâncreas de ratas pertencentes a três grupos, com peso médio de 48 g, e que haviam sido alimentadas com três modelos experimentais de dietas, - balanceada, deficiente em proteínas ou em calorias -, até atingirem o referido peso médio. Os animais dos modelos hipoprotéico e hipocalórico ao atingirem o peso pré-estabelecido tinham 47 dias de idade e os da dieta balanceada 26 dias. Verificaram que as maiores alterações no peso e no comportamento bioquímico dos órgãos ocorreram no fígado e pâncreas dos animais com dieta hipoprotéica. Os órgãos dos animais que haviam sofrido restrição calórica não apresentaram diferenças significativas em relação aos dos animais considerados normais, com exceção do baço que, embora aparentemente não tivesse sua composição alterada, perdeu peso.

INTRODUÇÃO

Em estudos nutricionais ou farmacológicos utilizam-se ani-

* Professor Assistente Doutor das disciplinas **Nutrição e Dietética aplicadas à Enfermagem**.

** Estudante de graduação da Escola de Enfermagem, bolsista da FAPESP.

*** Estudante de graduação da Escola de Enfermagem.

mais *normais*, adultos ou em fase de crescimento, para aferir o valor nutritivo de um alimento ou a eficiência terapêutica de um medicamento. Assim, o medicamento a ser testado é administrado em doses tomando como base o peso corporal do animal, aceitando-se que o critério peso do animal seja suficiente para uniformizar as amostras, isto é, para torná-las homogêneas. Supõe-se que determinada droga administrada a animais escolhidos segundo o critério exposto, produza a mesma resposta terapêutica. No entanto, os parâmetros usados para avaliar a eficiência do material a ser testado, medicamento ou alimento, tais como aumento de peso, balanço nitrogenado e tempo de sobrevivência do animal, podem ser afetados por outros fatores não diretamente ligados ao peso (ROEDER & CHOW, 1971).

ROEDER & CHOW (1971) constataram que, em estudos nutricionais, o passado nutricional do animal pode ser potencialmente a causa das reações anômalas que tornam irregulares os resultados dos experimentos.

Em nossos estudos também observamos que animais de mesmo peso, mas de diversas procedências comportam-se, muitas vezes, diferentemente quando submetidos ao mesmo tratamento dietético, em relação ao balanço nitrogenado, tempo de sobrevivência ou teste de crescimento.

Alguns autores estudaram as alterações metabólicas dos animais em relação ao peso, à idade ou a ambos. BARROWS (1958) mostrou que a utilização da carne em lugar da caseína na dieta de ratos, aumenta o nível da enzima colinesterase sem afetar o peso dos animais.

FUKUDA & SIBATANI (1953) observaram que a restrição calórica mantém o DNA celular do fígado a um nível correspondente ao seu peso corporal, ou melhor, um animal em restrição calórica mantém o DNA celular no mesmo nível que um animal normal do mesmo peso. O DNA total do fígado aumenta com o peso corporal (CAMPBELL & KOSTERLITZ, 1949). A velocidade com que aumenta o peso do animal, o peso do fígado e o DNA no fígado é linear (MENDES & WATERLOW, 1958).

Por outro lado, animais nascidos de ratas desnutridas ou alimentados por ratas com dietas desbalanceadas são significativamente menores do que os de mães bem nutridas (STEPHAN & CHOW, 1968). Assim, uma população de animais de idade ou passado dietético desconhecido, pode

incluir animais de crescimento deficiente que são cronologicamente mais velhos que os bem nutridos de mesmo peso. Alguns animais podem, pela aparência, facilmente serem distinguidos dos bem nutridos, mas em alguns casos isso não é possível.

Se o número de animais utilizados nas experiências fosse grande, estes *anormais* seriam provavelmente distribuídos entre os grupos, e não iriam afetar os resultados. Porém, sabemos que em virtude de limitações de recursos de trabalho, nem sempre é possível lidarmos com número grande de animais.

Os animais considerados normais podem ter sofrido um mecanismo de adaptação, considerando-se que os processos nutricionais desencadeados pelos desequilíbrios da nutrição são extremamente dinâmicos.

Estas considerações nos levaram à realização do presente trabalho, no qual estudamos alguns órgãos de ratas com peso corporal médio de 48 g, que haviam atingido este peso através de tratamentos dietéticos diferentes. Esta pesquisa foi realizada em fêmeas, mas fizemos um estudo semelhante em machos (MATTOS e col., 1974).

Vários pesquisadores, estudando o comportamento ponderal e bioquímico de alguns órgãos de animais submetidos à desnutrição crônica ou ao jejum, encontraram diferenças significativas em determinados parâmetros estudados para avaliar não só em relação ao tratamento dietético que o animal recebia, mas também ao sexo do mesmo (WIDDOWSON & McCANCE, HARRISON, 1953).

Submetemos os animais a três modelos experimentais de dieta, representativos de algumas condições da nutrição humana, de maneira que estes resultados, dentro de certos limites, pudessem ser extrapolados para o homem.

Os modelos por nós utilizados foram:

Modelo I – balanceado

Modelo II – deficiente em proteínas

Modelo III – deficiente em calorias

Neste trabalho nos propusemos a:

1 — Estudar o comportamento ponderal do fígado, baço, rim, coração e pâncreas de ratas pertencentes a três grupos, com peso médio de 48g, e que haviam sido alimentadas com três modelos experimentais de dieta — balanceada, deficiente em proteínas ou deficiente em calorias — até atingirem o referido peso.

2 — Determinar o conteúdo de nitrogênio dos referidos órgãos, bem como os lipídeos totais e o conteúdo de água do fígado.

MATERIAL E MÉTODOS

1 — Animais e dietas

Animais: neste trabalho foram usados 30 animais (RATTUS NORWEGICUS, ALBINUS) Wistar, fêmeas, desmamados aos 21 dias e pesando em média 35 g.

Dietas: na tabela (1) apresentamos as dietas utilizadas e as respectivas composições.

2 — Métodos de dosagem

2.1 — Dosagem de nitrogênio: foram feitas pelo método de Kjeldahl modificado (ALBANESE, 1963). Para determinar o nitrogênio nos órgãos usamos o órgão inteiro ou alíquotas, como no caso do fígado.

2.2 — Dosagem de lipídeos: dosamos os lipídeos totais no fígado pelo método de FOLCH e STANLEY (1956).

2.3 — Determinação da água: uma alíquota de fígado foi colocada na estufa a 105°C até que o peso se mantenha constante. A quantidade de água perdida é calculada.

Tabela (1) - Composição das dietas (g/100g de dieta).

Ingredientes	% proteína na dieta	
	4(dieta B)	20(dieta A)
Caseína	5,3	26,8
(+) Mistura sais minerais	3,2	3,2
(++) Solução de vitaminas	1,6	1,6
Óleo de fígado de bacalhau	1,6	1,6
Óleo de algodão	4,8	4,8
Açúcar (sacarose)	83,2	62,0

(+) HEGSTED e col. (1941)

(++) Cada 100g de dieta foi suplementada com 1,6 ml de solução de vitaminas contendo, em mg: 0,32 de tiamina (HCL), 0,32 de riboflavina, 0,32 de piridoxina (HCL), 0,9 de pantotenato de cálcio, 0,32 de nicotinamida, 160 de cloreto de colina, 0,16 de ácido fólico, 16,0 de inositol, 0,01 de vitamina B₁₂ e 0,8 de vitamina K.

3 – Procedimentos experimentais

As 30 ratas, de diferentes ninhadas, foram misturadas e distribuídas ao acaso em 3 grupos de 10, correspondentes aos três modelos experimentais:

Modelo I ou grupo controle: os animais deste grupo foram alimentados, *ad libitum*, com dieta A, até atingirem o peso médio de 48g.

Modelo II: os animais foram submetidos à uma dieta hipoprotéica (dieta B) até atingirem o peso médio de 48g. A dieta foi fornecida *ad libitum*.

Modelo III: dez animais receberam a dieta A, mas em quantidade determinada, de maneira que a curva de crescimento deste modelo acompanhasse a do modelo II.

Quando o peso médio dos animais de cada modelo atingiu 48g, os animais foram sacrificados pelo método de STEAD & BROCK (1972) e os órgãos retirados e pesados. Foi feita a dosagem de nitrogênio do órgão inteiro, com exceção do fígado. Deste, foram tiradas três alíquotas: uma refrigerada a 15°C para a determinação dos lipídeos e as duas outras usadas imediatamente para a dosagem da água e do nitrogênio.

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Os animais com dieta deficiente em proteína (Modelo II) e em calorias (Modelo III) levaram 26 dias para alcançar o peso médio de 48g. Por outro lado, os animais que receberam a dieta balanceada ou controle alcançaram este peso em 5 dias; assim, os animais tem o mesmo peso, mas os dos Modelos II e III são 21 dias mais velhos que os do Modelo I.

Pudemos observar pelos resultados da tabela (2) que, entre os animais dos Modelos I e II não houve diferença significativa, ao nível de 1%, na ingestão de alimentos ou na caloria consumida.

Os animais do Modelo III ingeriram mais do dobro das proteínas e metade das calorias dos do Modelo II.

Na tabela (3) colocamos o peso corporal médio dos animais dos três modelos; peso médio dos órgãos estudados em gramas, e como porcentagem do peso corporal.

Tabela (2) - Média de ganho de peso corporal e média de ingestão de proteína, alimento e caloria.

Modelo	Duração da experiência (dias)	Ganho de peso (g/dia/rato)	Alimento ingerido (g/dia/rato)	Proteína ingerida (g/dia/rato)	Caloria consumida (Cal/dia/rato)
I ou Controle	5	2,34 (0,12)	9,44 (3,99)	1,89 (0,82)	37,76 (16,51)
II	26	0,28 ⁺ (0,01)	7,86 (4,71)	0,32 ⁺ (0,16)	31,44 (14,24)
III	26	0,28 ⁺ (0,08)	4,02 ^{+x} (0,00)	0,80 (0,00)	16,16 ^{+x} (0,00)

() os números entre parêntese indicam desvios-padrão

+ p 0,01 em relação ao controle

x p 0,01 em relação ao Modelo II.

Tabela (3) - Médias dos pesos corporais e dos pesos dos órgãos dos animais sacrificados ao atingirem 48g.

Grupo	Peso corporal (g)	Fígado		Baço		Rim		Coração		Pâncreas	
		g	g/%/PC	g	g/%/PC	g	g/%/PC	g	g/%/PC	g	g/%/PC
Modelo I	47,8	2,013 (0,080)	4,211 (0,088)	0,179 (0,064)	0,374 (0,029)	0,259 (0,024)	0,541 (0,070)	0,252 (0,034)	0,540 (0,072)	0,234 (0,035)	0,489 (0,061)
Modelo II	47,7	2,302 (0,210)	4,825* (0,110)	0,100 (0,081)	0,209 (0,051)	0,233 (0,031)	0,494 (0,064)	0,236 (0,023)	0,455 (0,054)	0,232 (0,021)	0,486 (0,040)
Modelo III	47,7	2,067 (0,090)	4,360* (0,199)	0,090* (0,031)	0,169* (0,032)	0,274 (0,042)	0,578 (0,082)	0,252 (0,031)	0,489 (0,071)	0,258 (0,033)	0,544 (0,066)

Tabela (4) - Médias do conteúdo de nitrogênio do fígado, baço, coração e rim dos animais dos três modelos.

Grupo	Peso Corporal (g)	Fígado		Baço		Coração		Rim		Pâncreas						
		g/órgão	mg%/PC	g/órgão	mg%/PC	g/órgão	mg%/PC	g/órgão	mg%/PC	g/órgão	mg%/PC					
Modelo I ou Controle	47,8	73,83 (3,11)	3,668 (0,064)	154,45 (8,12)	5,08 (0,12)	2,845 (0,076)	10,63 (1,34)	6,42 (0,87)	2,633 (0,174)	13,43 (1,22)	7,76 (2,21)	2,998 (0,134)	16,23 (3,21)	6,10 (1,71)	2,608 (0,243)	12,76 (2,73)
Modelo II	47,7	50,62 [*] (5,32)	2,199 [*] (0,193)	106,12 [*] (10,50)	3,09 [*] (0,38)	3,065 (0,231)	6,46 [*] (1,31)	6,46 (0,22)	2,733 (0,370)	13,54 (0,75)	6,64 (0,24)	2,852 (0,121)	13,92 (1,42)	3,63 [*] (0,40)	1,575 [*] (0,004)	7,65 [*] (0,11)
Modelo III	47,4	80,82 ^x (4,49)	3,706 ^x (0,500)	170,50 ^x (9,51)	2,60 [*] (0,22)	2,888 (0,125)	5,49 [*] (0,99)	7,08 (1,01)	2,720 (0,032)	14,94 (1,44)	6,25 (0,46)	3,011 (0,066)	17,40 (1,35)	7,27 ^x (0,22)	2,818 ^x (0,109)	15,33 ^x (1,02)

Teste Student

* p < 0,01 em relação ao controle

x p < 0,01 em relação ao modelo II

Tabela (5) - Média de lipídeos totais no fígado dos animais dos três modelos.

Grupo	Peso do fígado	g%/fígado	mg/órgão total	mg%/P.C.
Modelo I ou Controle	2,013	3,362 (0,326)	67,68 (6,71)	141,59 (33,29)
Modelo II	2,302	5,537* (0,943)	127,46* (12,21)	267,21* (37,33)
Modelo III	2,067	3,393 ^x * (0,572)	70,13 ^x (5,71)	147,95 ^x (29,18)

* p < 0,01 em relação ao controle

x p < 0,01 em relação ao modelo II

Tabela (6) - Porcentagem de água no fígado dos animais dos três modelos.

Grupo	g%/fígado
Modelo I ou Controle	70,68 (0,02)
Modelo II	72,00 (0,06)
Modelo III	69,92 (0,09)

Na tabela (4) colocamos os resultados das dosagens de N nos órgãos, em gramas por órgão total, em g por 100g. do órgão e em mg por 100g de peso corporal.

Tabela (6) – Porcentagem de água no fígado dos animais dos três modelos.

Grupo	g%/fígado
Modelo I ou Controle	70,68 (0,02)
Modelo II	72,00 (0,06)
Modelo III	69,92 (0,09)

Como pudemos observar os órgãos dos animais do Modelo III, restrito em quantidade de alimentos, comportaram-se da mesma maneira que os do grupo com dieta balanceada, com exceção do baço que se atrofiou, apresentando uma diminuição de peso de 50% (tabela 3). Esta variação de peso acompanhou aproximadamente a diminuição de nitrogênio do baço, em relação ao do controle (tabela 4), o que parece indicar que a composição do órgão não se alterou.

Os animais em carência protéica apresentaram uma atrofia do baço e correspondente diminuição de nitrogênio. As maiores alterações ocorreram no fígado e no pâncreas nos animais do Modelo II, de restrição protéica. O fígado aumentou de peso em relação ao dos animais do controle, mas esta alteração não foi significativa. Por outro lado, o órgão perdeu 32% de nitrogênio e sofreu um acúmulo de 88% dos lipídeos totais, consequentemente podemos supor que algum outro constituinte do fígado tenha diminuído. Os resultados que encontramos para as fêmeas diferem dos encontrados para os machos (MATTOS, 1974), principalmente no grupo restrito em calorias. Neste grupo houve atrofia do fígado e do pâncreas, embora o nitrogênio

por unidade de peso do órgão não se alterasse.

HARRISON (1953) encontrou uma diferença no comportamento fisiológico do fígado das fêmeas e machos quando deixados em jejum. Verificou que com quatro dias de jejum, em ambos os sexos, o fígado perdeu água, proteína, glicogênio e fosfolipídeos. Após este período as fêmeas acumularam lipídeos e os machos glicogênio.

CONCLUSÕES

Os animais dos três grupos, embora apresentassem o mesmo peso, demonstraram as seguintes diferenças ponderais e bioquímicas:

1. Os animais em restrição calórica apresentaram atrofia do baço, embora a diminuição de peso tenha acompanhado a de nitrogênio.
2. O fígado e o pâncreas dos animais em deficiência proteica não sofreram alteração de peso em relação ao controle, mas perderam nitrogênio e o fígado acumulou lipídeos.
3. O baço dos animais em carência protéica perdeu peso proporcionalmente a diminuição de nitrogênio.

MATTOS, L.U.; SALUM, M.J.L.; AMARAL, M.L.C.P. – Experimental protein-calorie malnutrition induced in early weaned female rats-Weight and biochemistry studies of some organs. *Rev. Esc. Enf. USP*, 9 (1) 35–47, 1975.

In order to study protein-calorie malnutrition two experimental models-calorie deficient and protein deficient models-have been produced in young female rats. When the mean weight of the rats of both models were 48g, the animals were killed. The spleen, liver, kidney, heart and pancreas were studied in relation to weight and nitrogen content, and compared to a control group of the same body weight. In the calorie deficient model only the spleen lost weight, but apparently its composition was unchanged. In the protein deficient model the weight of the liver and pancreas remained

similar to those of the control group, but their composition was modified: both organs lost nitrogen and the liver accumulated fat.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROWS, C.H. – The effect of dietary protein on the level of plasma cholinesterase of rats. *J. Nutr.*, **66**:515–530, 1958.
- FUKUDA, M. & SIBATANI, A. – Relation between the body weight and the average DNA content of liver nuclei in postnatal growth of the rat. *Exp. Cell. Res.*, **4**:236–238, 1953.
- HARRISON, M.F. – Effect of starvation on the composition of the liver cell. *Biochem. J.*, **55**:204, 1953.
- MATTOS, L.U. – Estudo ponderal e bioquímico de alguns órgãos de ratos submetidos à desnutrição protéica ou calórica após o desmame. (a publicar)
- MENDES, C.B. & WATERLOW, J.C. – The effect of a low protein diet, and refeeding on the composition of liver and muscle in the weaning rat. *Brit. J. Nutr.*, **12**:74, 1958.
- ROEDER, L.M. & CHOW, B.F. – Influence of the dietary history of the test animals on responses in pharmacological and nutritional studies. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **24**(8):947– , 1971.
- STEPHAN, J.K. & CHOW, B.F. – Growth of progeny from rats underfed during gestation only. *Fed. Proc.*, **27**:728, 1968 (abstr.).