

A UTILIZAÇÃO DE RATOS EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE CARÊNCIAS NUTRICIONAIS

Flávia Roseli Baptista Giacomelli*
Maria Raquel Marçal Natali**

GIACOMELLI, F. R. B.; MARÇAL-NATALI, M. R. A utilização de ratos em modelos experimentais de carências nutricionais. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 3(3): 239-249, 1999.

RESUMO: A manutenção de uma boa condição física, social e mental está ligada a uma ingestão adequada de nutrientes, tanto qualitativa como quantitativamente. Os efeitos de carências nutricionais em diversos órgãos, em especial o intestino delgado, bem como a forma de se provocar esta condição experimental é objetivo desta revisão. A utilização de ratos como modelo biológico em estudos experimentais destas carências é ampla, apresentando bons resultados que refletem, em sua grande maioria, aos encontrados em relação ao metabolismo de humanos desnutridos. Redução no teor protéico da dieta, redução na quantidade de alimento ofertado e variação no tamanho da ninhada são alguns dos modelos mais utilizados. A resposta dos diversos órgãos e estruturas a estas carências varia conforme o tempo de duração da restrição, o período em que se iniciou e o grau de renovação celular dos diversos órgãos.

PALAVRAS-CHAVE: carências nutricionais; intestino delgado; ratos.

THE USE OF RATS IN EXPERIMENTAL MODELS OF DEPRIVATION NUTRITION

GIACOMELLI, F. R. B.; MARÇAL-NATALI, M. R. The use of rats in experimental models of deprivation nutrition. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 3(3): 239-249, 1999.

ABSTRACT: The maintenance of a good physical, social and mental condition is related to an adequate nutrition, both qualitatively and quantitatively. The effects of deprivation nutrition on several organs, specially the small intestine, as well as the means of inducing this experimental condition, are the purpose of this review. The utilization of rats like biological models on this experimental studies is widely used showing good results and it generally corresponds to the results obtained with malnutrition human's metabolism. Reduction of the dietary protein level, reduction of food supply and litter number variations, are some of the most used models. The response of the diverse organs and structures to these deprivations varies with the deprivation period, when it started and the degree of the organs' cellular turnover.

KEY WORDS: deprivation nutrition; rats; small intestine.

Introdução

Cada célula do organismo apresenta uma organização adequada para a captação e utilização dos nutrientes, assim como a devolução de excretas. Desta forma, as células possuem sistemas de armazenamento de matérias primas e de energia.

Em condições nutricionais normais as células encontram-se em equilíbrio dinâmico, sendo que algumas substâncias são continuamente catabolizadas liberando energia e outras continuamente sintetizadas. As reações metabólicas asseguram o crescimento, a

maturação e a duplicação celular, assumindo significado diferente quando consideradas as fases de gestação, lactação, fases jovens e adulta do homem (OLIVEIRA *et al.* 1982).

Entre os nutrientes necessários à manutenção deste equilíbrio dinâmico destacamos as proteínas, definidas como moléculas de estruturas complexas, que constituem cerca de 50% do peso celular. Parte das moléculas protéicas funcionam como biocatalisadores (hormônios e enzimas), controlando processos como o crescimento, digestão, absorção e transporte. Outras proteínas

* Bióloga, Mestre em Melhoramento Genético Vegetal na Universidade Estadual de Maringá.

** Docente do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá, Doutoranda da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Botucatu – SP.

Endereço: Maria Raquel Marçal Natali. Departamento de Ciências Morfofisiológicas. Universidade Estadual de Maringá. Av. Colombo, 5790. 87020-900. Maringá-PR, Brasil.

atuam em diversos processos vitais, como por exemplo, no papel imunológico através da formação de anticorpos, participam da regulação osmótica (albumina), mecanismos de coagulação sanguínea (fibrinogênio) e funcionam ainda, como elementos estruturais (colágeno, elastina, miosina, queratina, etc.). Essas moléculas devem ser continuamente ressintetizadas pelo organismo, através da ingestão de proteínas pela dieta, nas quais veicularão os aminoácidos essenciais e os não essenciais para essa reposição, que deve ter valor nutritivo adequado, ou seja, possuir uma adequada distribuição qualitativa e quantitativa de aminoácidos (OLIVEIRA *et al.* 1982).

Quando a ingestão de proteínas é deficiente o organismo defende-se reduzindo a eliminação urinária de nitrogênio na tentativa de reequilibrar-se. Se a deficiência for muito grande e prolongada, essa redução chega até um mínimo em que o corpo entra em desequilíbrio protéico, iniciando-se um processo catabólico protéico. Essa resposta é o resultado final de adaptações que ocorrem em vários órgãos e que são diferentes para cada órgão e para cada tecido (YOUNG & SCRIMSHAW, 1977).

Em busca destas diferentes respostas, existem numerosos estudos à respeito de carências nutricionais, com uma multiplicidade de modelos experimentais, com as mais variadas abordagens e condições laboratoriais.

No transcorrer deste trabalho, são relatados dados a respeito da carência nutricional utilizando o rato como modelo biológico, procurando abordar os efeitos produzidos em diversos órgãos, dando ênfase aos efeitos provocados no intestino delgado.

Desenvolvimento

A utilização de ratos em modelo experimental de carência nutricional

Sabemos que os modelos de laboratórios não reproduzem, na totalidade, o desnutrido que se pretende estudar. A grande vantagem na utilização animal é que a carência é provocada no tempo e nos níveis desejados, quantitativa e qualitativamente. O rato, a cobaia, o porco e o macaco são os animais mais frequentemente utilizados para a reprodução do quadro da desnutrição protéico-calórica. Entretanto, admite-se que o porco e o macaco apresentem anorexia

intensa na carência de proteína (KIRSCH *et al.* 1968). Tal fato não ocorre com o rato, motivo pelo qual tem sido amplamente utilizado para a produção de desnutrição experimental (WINICK & NOBLE, 1966, BASS *et al.* 1970).

HEARD *et al.* (1977) estudando detalhadamente o modelo animal e utilizando o rato para a avaliação das características bioquímicas em diferentes formas de desnutrição protéico energética, sugerem a utilização destes animais na medida em que os resultados obtidos refletem, em sua grande maioria, os resultados encontrados em relação ao metabolismo de humanos desnutridos.

Além disso, WHITEHEAD (1980) citou dois objetivos que explicam a utilização de ratos para estudar o problema da desnutrição. O primeiro deles seria o de possibilitar o entendimento dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos fundamentais na desnutrição protéica e energética, e o segundo objetivo o de produzir réplicas dos tipos de desnutrição encontrados, como o marasmo e o kwashiorkor. Porém, EDOZIEN (1968) relatou a dificuldade na produção de edema em ratos, característica marcante no kwashiorkor.

AMORIM (1984), entretanto, observou edema nas patas e boca na maioria dos ratos recém-desmamados submetidos a uma dieta com 0% de proteína por 20 dias, mas o mesmo resultado não foi verificado nos grupos alimentados com 4% de proteína na dieta, possivelmente este teor de proteína seria suficiente para manter os níveis de albumina encontrado nestes animais.

Modelos utilizados para provocar a carência nutricional

Vários são os modelos experimentais utilizados para provocar a desnutrição em ratos. Entre os principais podemos destacar: redução no teor protéico da dieta, redução da quantidade alimentar, tamanho da ninhada e outros modelos, como por exemplo, ingestão de dieta líquida, insuficiência vascular, etc., podendo variar conforme o período ou metodologia empregada.

Redução no teor de proteínas

Os modelos experimentais de desnutrição utilizando a redução protéica na alimentação diferem quanto ao teor protéico da dieta, ao

período de vida em que se inicia a redução e a duração do mesmo, variando conforme o autor.

TAKANO (1964) submeteu ratos adultos (120 a 140g) alimentados com 27% de proteína a uma dieta aprotéica por três a quatro semanas. Trabalho similar foi desenvolvido por CAMPANA *et al.* (1975) onde induziram a desnutrição em ratos adultos (74 e 123 dias de idade) também através de uma dieta aprotéica, porém por um período de 28 e 32 dias. Dieta aprotéica também foi empregada nos experimentos de WAITZBERG *et al.* (1989) em ratos adultos (140 gramas) por um período de 21 dias, recebendo ração normal após esta data; e LAGO *et al.* (1993) que submeteram ratos adultos a dieta aprotéica por 36 dias, comparando com ratos que recebiam 20% de proteína.

Dieta hipoprotéica com 4% de proteína no período de gestação, comparando com grupos controles com dietas de 24% de proteína foi a metodologia utilizada por SHRADER *et al.* (1977) em seus grupos experimentais. Através de uma dieta contendo 1% de proteína associada a restrição desta em 50% do que era oferecido às ratas controles PATRÍCIO *et al.* (1984) induziram a desnutrição em ratas, por toda a gestação, primeira ou segunda metade da gestação.

AMORIM (1984) associou dois modelos para provocar a desnutrição pela redução no teor de proteínas: trabalhando com ratos machos recém-desmamados a uma dieta aprotéica por 20 dias e com ratos jovens (38g) alimentados com uma dieta com 4% de proteína por 42 e 84 dias.

PÊNZES (1967) utilizou como método em um de seus experimentos alterações nas concentrações de proteína de 6% e 45% após o desmame, comparando com o grupo controle recebendo 20% de proteína por quatro, oito e 12 dias.

Dieta contendo 6% de proteína foi empregada nos experimentos de ZEMAN (1969) e SHRADER & ZEMAN (1969) em ratas prenhes por todo o período de gestação comparando com o grupo controle que recebiam 30% de proteína. Do mesmo modo, YOUNOSZAI & RANSHAW (1973) trabalharam com ratas com gestação a termo e pré-termo alimentadas com uma dieta contendo 6% de proteína, diferindo do grupo controle por conter 26% de proteína. LOH *et al.* (1971) também utilizaram da redução no teor protéico para 6% para provocarem a desnutrição

comparando com grupo controle com 24% nos períodos de gestação e lactação.

NATALI *et al.* (1995) e TORREJAIS *et al.* (1995) utilizaram como modelo de desnutrição a redução protéica na gestação, lactação ou combinando-se os dois períodos, onde os grupos experimentais foram alimentados com uma dieta com 8% de proteína e os controles com 22%.

LIMA *et al.* (1993) e SULLIVAN *et al.* (1993), ofereceram aos grupos experimentais uma dieta com diferentes teores protéicos: 20, 16 e 6% nos períodos de lactação e pós-lactação por 49 dias e 19,14,10,6,3 e 2% nos períodos de desmame e adultos de três a 16 meses, respectivamente.

Redução da quantidade alimentar

Outro modelo de desnutrição é causada pela restrição na quantidade de alimento, como utilizado por KERSHAW *et al.* (1960) que ofereceram uma ração restrita (5 g diárias) com 20% de proteína por diferentes períodos, sendo que alguns grupos receberam ração normal e o grupo controle recebeu alimento à vontade.

Dieta restrita em 25% ou 50% do total de alimento dado aos grupos controles foi o modelo experimental adotado para causar a desnutrição em trabalhos como de CHOW & LEE (1964) que reduziram a alimentação das ratas nos períodos de gestação e lactação para 25% da alimentação consumida pelas ratas controle; WIRÉN *et al.* (1995) também diminuíram o conteúdo alimentar em 25% no grupo experimental de ratos com aproximadamente 250g, WINICK & NOBLE (1966) utilizaram, em parte do seu trabalho, uma dieta restrita em 50% do total dado aos grupos controles para ratos experimentais após o desmame e até 65 dias de idade; e YOUNG *et al.* (1987) submeteram ratas fêmeas a restrição alimentar recebendo 50% da comida consumida pelas ratas controles nos períodos de gestação, lactação e em ambos.

Trabalhos como de FIRMANSYAH *et al.* (1989) causaram a redução da quantidade alimentar, em ratos nos períodos pré e pós-natal, pós-desmame e adultos (10 semanas), diminuindo o consumo pela limitação da oferta de alimento, onde os grupos experimentais alimentavam-se com 50% da comida oferecida aos grupos controles, e CONBOY *et al.* (1987) que provocaram a desnutrição materna em dois

períodos de gestação, de 14 a 21 dias e de 7 a 21 dias, onde as mães experimentais receberam 50% do alimento consumido pelas mães controles.

Já alguns autores em seus estudos causaram a desnutrição pela privação de alimento nos filhotes de ratos no período de lactação (CAIRNIE & BENTLEY, 1967), ou por submeteram seu grupo experimental (ratos de 350-390g) a seis dias de jejum após duas semanas e meia de alimentação normal (STEINER *et al.*, 1968). De modo similar, KOOP *et al.* (1987) submeteram os ratos a um período de 12 e 96 horas de jejum sem acesso a água, sendo comparados com ratos alimentados normalmente com 19% de proteína e acesso a água. MILLER *et al.* (1987) compararam ratos (200-250g) alimentados normalmente com ratos que receberam a metade da comida por sete dias, e alimentados à vontade por quatro dias e jejum durante os três dias restantes.

LEE & LEBENTHAL (1983) provocaram a desnutrição no período de lactação em filhotes com 17 dias de idade com desmame precoce, comparado com filhotes que foram desmamados naturalmente aos 21-24 dias.

Tamanho da ninhada

Alguns autores em seus estudos provocaram a desnutrição em seus ratos experimentais através da variação no número de filhotes por ninhada, conseqüentemente limitando a oferta de alimento.

WINICK & NOBLE (1966) além da restrição calórica nos períodos de desmame e 65 dias de idade, também trabalharam com um grupo que mantinham as ninhadas experimentais com 18 filhotes e as controle com nove a 12 filhotes.

BASS *et al.* (1970) apresentaram em seus estudos ninhadas com 6 filhotes no grupo controle comparadas com ninhadas de 12 filhotes do grupo experimental que eram privados do aleitamento materno por um período de oito horas diárias na lactação até os 21 dias. Já PATHAK *et al.* (1981) aumentaram o número de filhotes das ninhadas experimentais para 12, 16 a 18 filhotes, reduzindo para cinco a oito o grupo controle. Da mesma forma, WURTMAN & MILLER (1976) também compararam diferentes tamanhos de ninhadas considerando o grupo controle com oito filhotes e os experimentais com dois, quatro, oito, 12 e 16 filhotes que foram amamentados até o 21º dia, sendo que 16 filhotes por ninhada no grupo experimental

foi a metodologia empregada no trabalho de HATCH *et al.* (1979) durante 19 dias de lactação e considerando o controle com 7 a 8 filhotes.

AMORIM (1984) utilizou em um de seus modelos para desnutrição ratos lactantes amamentados desde o nascimento na proporção de 20 filhotes para cada rata mãe por 20 dias. LAGO *et al.* (1993), no período de lactação, também adotaram ninhadas de 20 a 22 filhotes comparados com ninhadas controles de seis a oito filhotes.

Outros Modelos

Outros autores utilizam metodologias diferenciadas com outros fatores causando indiretamente um quadro clínico de desnutrição, associado muitas vezes aos métodos descritos anteriormente.

JANNE *et al.* (1977) provocaram a desnutrição através da mudança no hábito alimentar em ratos machos, com uma semana de idade, oferecendo a eles uma dieta líquida por quatro semanas. Já ZUCOLOTO *et al.* (1991) induziram a desnutrição em ratos adultos com a dieta no grupo experimental contendo 4% de fitohemaglutinina por 14 dias.

BUTS *et al.* (1986) associados a uma dieta contendo 23% de proteína, adicionaram 30 mg de ferro na dieta do grupo controle comparando com o experimental sem esta adição, por períodos de lactação e desmame. Trabalhando com ratas nos períodos de gestação e lactação por 19 dias, JIRAPINYO *et al.* (1988), combinaram a vitamina D com o tamanho da ninhada da seguinte forma: dois grupos receberam a vitamina D e tiveram o tamanho da ninhada ajustado para 10 (controle) e 13 filhotes, e um terceiro grupo sem vitamina D e com 10 filhotes na ninhada.

LEITCH *et al.* (1993) associaram o teor protéico com a infecção por *giardia*, em ratos com 12 semanas de idade, da seguinte forma: o grupo experimental recebeu uma dieta isocalórica com 5% de proteína e o controle com 20% de proteína, por três semanas. Os ratos experimentais, então foram infectados oralmente com a *giardia* e receberam este tratamento por mais 15 dias.

LEBENTHAL *et al.* (1981) e CHA *et al.* (1987) induziram o retardo no crescimento intra-uterino na gestação pela ligação das artérias placentárias, promovendo insuficiência vascular placentária.

Repercussões da desnutrição sobre vários órgãos

É possível observar portanto, grande variabilidade nas condições experimentais no período em que foi provocada a condição de carência e principalmente o tempo de duração desta condição.

Nos estudos com ratos adultos as necessidades protéicas não parecem diminuir com a idade. As quotas nutricionais recomendadas não sugerem qualquer redução na taxa protéica com a idade, como o fazem para as calorias. A necessidade de certos aminoácidos específicos pode ainda ser maior para "compensar" as alterações funcionais do organismo com a idade. A principal alteração fisiológica decorrente do envelhecimento é a redução do número de células funcionantes, o que resulta em lentificação dos processos metabólicos (MITCHELL *et al.* 1978).

Nota-se uma grande preocupação dos autores com a repercussão das carências nos períodos de gestação e de lactação dos animais, períodos considerados críticos para o crescimento e desenvolvimento celular.

WINICK (1970) ressaltou que existem três fases de crescimento para todos os órgãos na primeira fase ocorre um aumento no número de células, porém o tamanho do órgão permanece constante, portanto um crescimento hiperplásico; durante a segunda fase, o número de células continua aumentando, mas a uma velocidade menor do que na primeira fase e as células aumentam em tamanho, logo, a segunda fase caracteriza-se por crescimento hiperplásico e hipertrófico, e, finalmente durante a terceira fase, observa-se somente o aumento no tamanho das células, um crescimento apenas hipertrófico. Quando a desnutrição ocorre durante o período de crescimento hiperplásico a taxa de divisão celular é diminuída, resultando num órgão menor com menos células, visto que, a duração em que as células se dividem é fixa, e esta variação pode ser irreversível se este período estiver expirado. Quando a desnutrição ocorrer durante o período de crescimento hipertrófico, o aumento normal das células é impedido.

Para os ratos estes períodos estão distribuídos da seguinte forma: de zero a 21 dias de vida ocorreu hiperplasia celular em todos os órgãos, de 21 a 42 dias continua a hiperplasia em

todos os órgãos exceto no cérebro e pulmão e de 65 a 86 dias, hipertrofia celular em todos os órgãos, exceto no tecido linfóide. Esses estágios se fundem gradualmente dentro de um ou outro e variam na duração dentro de cada órgão.

Independente do modelo experimental utilizado, observa-se que a restrição de ingestão de proteínas na alimentação produz animais constitucionalmente inferiorizados, no entanto esta restrição afeta de modo diferente cada órgão. Segundo DEO (1978), tecidos que apresentam alto índice de renovação celular são afetados mais precocemente do que os que apresentam baixo índice de renovação. WINICK & NOBLE (1966) e FIRMANSYAH *et al.* (1989), afirmaram que a resposta celular à desnutrição é tempo-dependente, ou seja, depende do período em que esta se inicia e a duração do período de restrição alimentar.

Vários são os efeitos observados em quadros de desnutrição associados com os diversos modelos apresentados através de modificações comportamentais, redução no peso do corpo, peso dos órgãos, comprimento de alguns órgãos, perda de pêlos e modificações enzimáticas, bioquímicas e estruturais de quase todos os órgãos estudados, entre estes destacamos:

Cérebro

Redução no peso, no número de células, conteúdo de DNA e de proteínas totais são os efeitos observados no cérebro dos ratos jovens de mães com deficiência protéica (ZEMAN, 1969). Entretanto, ratos alimentados com dieta restrita após o desmame por 21 dias e realimentados, apresentaram diminuição proporcional do peso, do conteúdo de proteína, de DNA e RNA em todos os órgãos exceto no cérebro (WINICK & NOBLE, 1966).

Segundo SHRADER & ZEMAN (1969), ratos alimentados com baixos teores de proteína apresentavam no cérebro, redução no número de células da camada superficial do córtex cerebral, nas células de Purkinje e nas camadas granulares do córtex cerebelar. Observaram ainda, redução no número de neurônios multipolares sem diferir na localização e tamanho.

BASS *et al.* (1970) induziram a desnutrição em ratos durante as 3 primeiras semanas de vida, não conseguiram obter recuperação nos lipídios

da substância branca após reabilitação nutricional até a idade de 50 dias. Os lipídios da substância branca estavam reduzidos em 60% em comparação aos controles. Os autores concluíram que a desnutrição prejudicou a habilidade das células gliais de elaborarem mielina durante o período de recuperação.

CHA *et al.* (1987) provocaram severo retardo no crescimento intra-uterino de ratos, observando redução no peso do cérebro e no conteúdo de proteínas, lipídios e DNA de células cerebrais após duas semanas de vida. Redução no peso do cérebro também foi observado por LIMA *et al.* (1993) em ratos com deficiência protéica durante a lactação e pós-lactação, sendo que este efeito foi significativamente menor nos ratos que receberam 6% de proteína quando comparados aos que receberam 16, 20 e 22%. Relataram, ainda, que dietas com 16 e 20% de proteína promoveram um peso do corpo e cérebro adequados em ratos, e dietas com 6% de proteína resultaram em *deficit* do peso corporal e cérebro.

Fígado

Muitos trabalhos tem sido divulgados a respeito da regeneração hepática em ratos sob desnutrição protéico-calórica. Muitos concordam que a síntese de DNA é deprimida. A deficiência protéica resulta em alterações da gordura periportal consequência do transporte de triglicérides, devido à diminuição na síntese de lipoproteínas (DEO, 1978).

WINICK & NOBLE (1966) estudando a desnutrição em ratos verificaram que ratos com dieta restrita após o desmame 21 a 42 dias e com 65 dias de idade apresentaram uma diminuição do peso do fígado, conteúdo protéico e RNA, e de DNA somente para os ratos de 21 dias. Observaram ainda que estes valores recuperaram-se após a realimentação.

Redução no peso do fígado e diminuição do conteúdo de DNA, RNA e níveis de proteínas neste órgão foram os resultados obtidos por ZEMAN (1969) nos filhotes de mães com deficiência protéica durante a gestação. YOUNG *et al.* (1987) também observaram que os ratos nascidos nas mesmas condições anteriores apresentavam decréscimo no peso do fígado.

Nenhuma anormalidade na estrutura foi observada segundo SHRADER & ZEMAN (1969) nos ratos recém-nascidos de mães com

deficiência protéica durante a gestação. Entretanto, apresentavam o fígado com excessivo acúmulo de gordura nos hepatócitos, mas com atividade mitótica e vascularidade normais, decréscimo no número de células hematopoéticas, porém estas continuavam normais quanto ao tipo e localização. A esteatose hepática também foi observada por CAMPANA *et al.* (1975) nos ratos mantidos com dieta aprotéica. Já o nível de glicogênio no fígado foi o mesmo nos grupos onde os ratos receberam uma dieta aprotéica por 36 dias e, segundo LAGO *et al.* 1993, quando foram alimentados de 20 a 22 filhotes por mãe por 21 dias.

Os filhotes de ratos com retardo no crescimento intra-uterino apresentam o fígado com peso diminuído com um grande número de células de tamanho menor do que os dos ratos normais (CHA *et al.* 1987).

Pâncreas

O tecido acinar do pâncreas dos neonatos de mães com deficiência protéica apresentou-se reduzido. A atividade da fosfatase alcalina estava aumentada aos 18 e 19 dias no tecido pancreático fetal, e as demais enzimas presentes no pâncreas foram detectadas mas com atividade reduzida (SHRADER & ZEMAN, 1969). Segundo YOUNG *et al.* (1987) a concentração enzimática de lipase pancreática também apresentou-se reduzida nos filhotes de mães com 50% de restrição alimentar e amamentados com mães normais, quando comparados com os controles.

JIRAPINYO *et al.* (1988) verificaram que o peso do pâncreas, proteína pancreática, DNA, lipase e amilase apresentaram-se reduzidos nos grupos com vitamina D e 13 filhotes e sem vitamina D e 10 filhotes, quando comparados ao grupo que recebeu vitamina D e apresentava 10 filhotes na ninhada.

Rins

Redução no peso dos rins, no conteúdo de DNA, proteína e RNA total foram observados nos filhotes de mães com deficiência protéica amamentados em ninhadas de oito filhotes, desde o nascimento. Entretanto, quando as ninhadas foram reduzidas para quatro filhotes observou-se aumento do peso e do tamanho celular nestes órgãos, sem mudanças

significativas no número celular (ZEMAN 1969). LAGO *et al.* (1993) verificaram que ninhadas de 20 a 22 filhotes por mãe provocando o marasmo durante a lactação, apresentavam a gliconeogênese renal maior que os alimentados com dieta aprotéica por 36 dias induzindo o kwashiorkor.

A administração de uma dieta líquida por quatro semanas, como no trabalho de JANNE *et al.* (1977) não causaram mudanças significativas no peso dos rins.

Coração

WINICK & NOBLE (1966) relataram que ratos com restrição alimentar por 21 dias apresentavam o coração com peso reduzido e o conteúdo de proteínas, de DNA e RNA quando comparados com os controles. Os mesmos resultados foram observados por ZEMAN (1969) nas ninhadas com oito filhotes de mães com deficiência protéica. Entretanto, quando as ninhadas foram reduzidas para quatro filhotes estes valores aumentaram, como também o tamanho celular, sem que houvesse mudanças no número celular.

Sistema Tegumentar

A alteração principal observada em ratos neonatos desnutridos foi o retardo no desenvolvimento dos pêlos; as vibrissas, embora estruturalmente semelhantes às dos controles, eram menores que o normal. Os pêlos mostravam atraso do desenvolvimento e se apresentavam em menor número nos ratos recém-nascidos de mães com deficiência protéica. A epiderme apresentou-se com ausência das camadas granulosa e córnea. Histoquimicamente, nas camadas presentes na epiderme dos fetos desnutridos, a reatividade enzimática é normal quanto à distribuição, estando, porém, bastante reduzida. Igualmente, as células epiteliais do broto rudimentar do pêlo, assim como os componentes do tecido conjuntivo das papilas em formação, também apresentaram reatividade enzimática reduzida (SHRADER & ZEMAN 1969).

AMORIM (1984) observou que os ratos recém-desmamados submetidos a uma dieta aprotéica por 20 dias apresentavam os pêlos eriçados, quebradiços, com discreta alopecia em muitos deles, particularmente no dorso.

Repercussões da desnutrição sobre o intestino delgado

O intestino delgado é considerado um tecido de alta renovação celular, sendo que em ratos a mucosa é completamente renovada a cada dois dias.

O desenvolvimento pós-natal do intestino delgado tem recebido consideravelmente maior atenção do que outras partes do trato gastrointestinal. Segundo HENNING (1981), durante as três primeiras semanas de vida, o epitélio intestinal revela intensas variações de celularidade e enzimologia.

A capacidade digestiva do intestino delgado pode ser categorizada em dois amplos grupos: atividades que são altas ao nascimento e em seguida declinam, como por exemplo, a lactose e neuroaminidase e atividades que são baixas ou ausentes ao nascimento e que em seguida aparecem ou aumentam tais como a maltase e sucrase. Estas atividades são destacadas na mucosa do intestino delgado, e alterações na morfologia de suas células podem comprometer de forma severas todo o funcionamento intestinal.

Estas alterações são investigadas por muitos pesquisadores dentro da área de desnutrição. Entre eles destacamos:

Os efeitos da desnutrição em filhotes recém-nascidos de mães com deficiência protéica durante a gestação, apresentaram segundo TAKANO (1964), os 'vilos' jejunais mais estreitos e curtos do que o grupo controle, além disso, as células absortivas eram cubóides com o núcleo em posição central, em vez de colunares com o núcleo basal. Notaram também redução da borda estriada e uma certa atrofia da camada muscular. LOH *et al.* (1971) notaram ainda redução da captação de proteínas e ácidos graxos pelos enterócitos jejunais, decréscimo de organelas citoplasmáticas e formação de pequenos vacúolos nos enterócitos. Os autores sugeriram que esta redução indicaria diminuição da atividade funcional.

Retardo não somente no crescimento fetal, mas também no desenvolvimento do intestino fetal, com as vilosidades curtas e em menor número e uma redução no número de células absortivas foram observadas por SHRADER *et al.* (1977). Porém, após 12 dias de alimentação normal observa-se a recuperação o que sugere que a capacidade para a proliferação celular é

preservada apesar da imposição de dieta hipoprotéica às mães durante a gestação.

YOUNOSZAI & RANSHAW (1973), SHRADER *et al.* (1977) e HATCH *et al.* (1979) ressaltam que em casos de deficiência protéica durante a gestação, os filhotes apresentam peso intestinal mais afetado que o comprimento do mesmo.

A deficiência protéica em ratos nos períodos de lactação e adulto, foi analisada por AMORIM (1984), que observou uma diminuição na espessura total do intestino, na altura total da mucosa, no comprimento da vilosidade e na profundidade da cripta nos ratos desnutridos quando comparados aos controles. A altura e o número de enterócitos, de células caliciformes e linfócitos intraepiteliais nas vilosidades do jejuno proximal e íleo distal também apresentaram-se reduzidas. Observou ainda diminuição no número de células da cripta do jejuno proximal e íleo distal com conseqüente redução nos índices mitóticos e decréscimo no número de células caliciformes.

Quando analisados os efeitos da desnutrição protéica intra-uterina em diferentes períodos de gestação em ratas, verificou-se valores inferiores para a altura da vilosidade, altura total da mucosa, altura da zona críptica, altura do enterócito e índice mitótico, nos grupos desnutridos por toda a gestação ou na segunda metade (PATRÍCIO *et al.* 1984).

NATALI *et al.* (1995) descreveram que a mucosa duodenal de ratos, cujas mães foram desnutridas somente na gestação, no 60º dia de vida é semelhante à de animais de mesma idade cujas mães foram normo-alimentadas, apresentando as vilosidades altas, estreitas e organizadas. A desnutrição materna na lactação e na gestação e lactação afetam a túnica mucosa dos filhotes, resultando em vilosidades menos desenvolvidas que não se recuperam totalmente após 39 dias de dieta normal. No entanto não observou-se alteração na submucosa e nem na túnica muscular.

A desnutrição causada pela restrição alimentar durante a gestação e/ou lactação proporcionou, segundo YOUNG *et al.* (1987), filhotes com peso menor, diminuição no comprimento do intestino, na atividade da sucrase e maltase e aumento nos níveis de lactase, o que sugere um retardo na maturação intestinal.

Durante a gestação, CONBOY *et al.* (1987) também observaram que os ratos de mães desnutridas apresentavam os neurônios do gânglio mesentérico celíaco superior menores, e que estes formaram estruturas mais compactas quando comparados aos controles.

O peso, o comprimento e diâmetro intestinal, a espessura da mucosa, o conteúdo de proteína total da mucosa e os níveis de proteína/DNA, analisados por FIRMANSYAH *et al.* (1989) foram menores nos grupos desnutridos quando comparados aos controles.

Para a atividade da sucrase, maltase e lactase verificaram uma acentuada redução nos filhotes de ratas desnutridas na gestação e lactação, porém nos grupos desnutridos após o desmame e quando adultos, estas enzimas apresentaram-se com maior atividade do que os grupos com dieta normal.

KERSHAW *et al.* (1960) estudando o grau de variação na restrição alimentar, na absorção da glicose e da L-histidina pelo intestino de rato, observaram que durante o período de semi-jejum algum mecanismo compensatório levou a um aumento na habilidade do intestino em absorver a glicose e L-histidina contra um gradiente de concentração. O aumento na absorção ativa desaparece após alguns dias de dieta à vontade.

LEE & LEBENTHAL (1983) analisaram o efeito da desnutrição adquirida no período pós-natal, e verificaram que filhotes com desmame precoce (17 dias) apresentavam uma redução no comprimento do intestino, diminuição da lactase, aumento precoce da sucrase e maltase. Os filhotes tratados até os 25 dias tiveram o peso do corpo reduzido e redução no comprimento do intestino.

As criptas intestinais de ratos lactantes no 14º dia continham 80% de células a mais que os controles. O tamanho relativo nas regiões da cripta não se apresentaram alterados em relação a maturação celular, e a população celular dos vilos apresentou-se aumentada em 40% (CAIRNIE & BENTLEY, 1967).

STEINER *et al.* (1968) estudando o efeito do jejum em ratos adultos, verificaram redução no peso do intestino em proporção com o peso menor do corpo, decréscimo na população celular, RNA, conteúdo protéico e de água nas células individuais.

Nos ratos submetidos ao jejum, após 96 horas KOOP *et al.* (1987), observaram uma

significativa diminuição do plasma de colecistoquinina, na concentração desta no duodeno e redução no número de células contendo colecistoquinina duodenal. Estas mudanças foram menos pronunciadas nas partes distais do intestino delgado. A realimentação causou aumento no plasma e na concentração de colecistoquinina dos tecidos.

Os efeitos da desnutrição provocada pelo aumento no tamanho da ninhada no intestino delgado de ratos no período pós-natal foram observados segundo HATCH *et al.* (1979) que verificaram nos filhotes desnutridos, o peso total do corpo significativamente menor do que o grupo controle ao desmame e o peso médio do intestino delgado cerca de 67% do controle. Uma profunda alteração na estrutura e organização dos microvilos foram observados por PATHAK *et al.* (1981) ao desmame de ratos desnutridos durante o período pós-natal. A composição química da membrana das células absorptivas revelou um aumento nas proteínas, ácido siálico, colesterol e fosfolípidios da membrana, quando comparados ao controle.

Estes autores sugerem que a desnutrição considerada de “curta duração,” resulta numa condição de desgaste do tecido intestinal que leva ao surgimento de um mecanismo compensatório imposto pela ação de não aproveitar os nutrientes suficientes. Entretanto, se o período de desnutrição for prolongado acabaria com a reserva de nutrientes do tecido, podendo levar à deterioração funcional como é frequentemente visto em síndromes de má absorção associada à desnutrição.

LEBENTHAL *et al.* (1981) observaram que o retardo no crescimento intra-uterino no 3º trimestre levou a uma diminuição no peso do intestino proporcionalmente ao peso corporal, redução no tamanho do intestino delgado causado pela redução no número de células. A lactase e a fosfatase alcalina da borda em escova também apresentaram-se diminuídas, mas não afetou a maltase e enteroquinase.

A deficiência da vitamina D durante a gestação e lactação afeta as enzimas gastrointestinais quanto ao desenvolvimento. Estes efeitos, como o peso da mucosa, da proteína total da mucosa, de DNA e atividade da maltase e sucrase apresentaram-se reduzidos nos grupo com vitamina D e 13 filhotes e sem a vitamina D

e 10 filhotes na ninhada quando comparado ao grupo que recebeu vitamina D e teve sua ninhada com 10 filhotes (controles) (JIRAPINYO *et al.* 1988). Os resultados sugerem que a falta de vitamina D causa provavelmente baixo volume de leite o que resulta em restrição parcial da dieta dos filhotes.

ZUCOLOTO *et al.* (1991) verificaram que os ratos que receberam fitohemaglutinina na dieta apresentaram uma redução na população de enterócitos do vilos jejunal, que estimulou hiperplasia da cripta-vilos do epitélio do íleo com desenvolvimento da adaptação prolongada. Os parâmetros morfocinéticos das criptas do jejuno e íleo foram maiores que nos controles.

Segundo LEITCH *et al.* (1993) a desnutrição protéico-calórica correlaciona o aumento na infecção por *giardia* com uma diminuição na produção de enterócitos, migração e provavelmente a redução na infiltração linfocitária e o aumento da duração da infecção correlacionada com a migração celular nos vilos.

Considerações Finais

Discernir sobre as indagações científicas que discutem “a existência de um modelo experimental ideal de carência nutricional em animais de laboratório, ou se este modelo é capaz de fornecer respostas que refletem quadros de desnutrição em seres humanos”, assim como buscar o esclarecimento destas questões, são as bases que fundamentam esta revisão.

A compreensão destas questões torna-se limitada, frente à complexidade do tema. A possibilidade do entendimento dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos fundamentais na desnutrição protéica e energética faz com que o rato seja amplamente utilizado na produção de desnutrição experimental. Este estudo nos leva a crer na inexistência de um modelo ideal, e sim naquele que se mostre o mais adequado ao objetivo de cada investigação em particular, cabendo a todos eles a avaliação cuidadosa e indispensável dos parâmetros utilizados na determinação do animal desnutrido.

Desta forma, os resultados obtidos em cada modelo experimental estão amparados em parâmetros nutricionais já estabelecidos, tais como: peso corpóreo, comprimento do animal, peso de órgãos, dosagem de proteínas séricas e avaliação da carcaça do animal, sendo assim,

poderão refletir respostas associadas ao modelo a ser utilizado.

A complexidade e severidade destas respostas, sejam elas variações patológicas, ou adaptações morfológicas e funcionais são também dependentes do modelo proposto, cabendo ao investigador a limitação dos mesmos, para não incorrer em extrapolações ou generalizações duvidosas.

Referências Bibliográficas

- AMORIM, C. S. C. *Estudo morfológico da mucosa intestinal de ratos submetidos a desnutrição protéico-calórica experimental*. Ribeirão Preto: FMUSP-RP, 1984. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1984.
- BASS, N. H.; NETSKY, M. G.; YOUNG, E. Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. *Arch. Neurol.*, 23: 290-302, 1970.
- BUTS, J. P.; VAMECQ, J.; HOOF, F. V. Alteration of intracellular synthesis of surface membrane glycoproteins in small intestine of iron-deficient rats. *Am. J. Physiol.*, 251: 736-743, 1986.
- CAIRNIE, A. B.; BENTLEY, R. E. Cell proliferation studies in the intestinal epithelium of the rat: hyperplasia during lactation. *Exptl. Cell Res.*, 46: 428-40, 1967.
- CAMPANA, A. O. *et al.* Experimental protein deficiency in adult rats. *Rev. Bras. de Pesq. Med. e Biol.*, 8(3-4): 221-226, 1975.
- CHA, C. J. M.; GELARDI, N. L.; OH, W. Growth and cellular composition in rats with intrauterine growth retardation: effects of postnatal nutrition. *J. Nutr.*, 117: 1463-1468, 1987.
- CHOW, B. F.; LEE, C. J. Effect of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring. *J. Nutr.*, 82: 10-18, 1964.
- CONBOY, V. B.; SANTER, R. M.; SWIFT, G. L. Effects of prenatal undernutrition on prevertebral sympathetic neurons in the rat: a morphological and fluorescence histochemical study. *J. Anat.*, 154: 47-53, 1987.
- DEO, M. G. Cell biology of protein-calorie malnutrition. *Wdl. Rev. Nutr. Diet.*, 32: 49-95, 1978.
- EDOZIEN, J. C. Experimental kwashiorkor and marasmus. *Nature*, 220: 917-919, 1968.
- FIRMANSYAH, A.; SUNOTO, SUHARYONO. Effect of malnutrition during different periods on the small intestine of the rat. *Japan. J. Exp. Med.*, 59(1): 1-7, 1989.
- HATCH, T. F. *et al.* The effect of early postnatal acquired malnutrition on intestinal growth, disaccharidases and enterokinase. *J. Nutr.*, 109: 1874-1879, 1979.
- HEARD, C. R. C.; FRANGI, S. M.; WRIGHT, P. M. Biochemical characteristics of different forms of protein energy malnutrition: na experimental model using young rats. *Brit. J. Nutr.*, 37(1): 1-21, 1977.
- HENNING, S. J. Postnatal development: coordination of feeding, digestion and metabolism. *Am. J. Physiol.*, 241: 199-214, 1981.
- JANNE, P.; CARPENTIER, Y.; WILLEMS, G. Colonic mucosal atrophy induced by a liquid elemental diet in rats. *Dig. Diseases*, 22(9): 808-812, 1977.
- JIRAPINYO, P. *et al.* Vitamin D deficiency, pancreatic and small intestinal enzyme development in rats. *Biol. Neonate*, 54(1): 20-28, 1988.
- KERSHAW, T. G.; NEAME, K. D.; WISEMAN, G. The effect of semistarvation on absorption by the rat small intestine in vitro and in vivo. *J. Physiol.*, 152: 182-190, 1960.
- KIRSCH, R. E.; SAUNDERS, S. J.; BROCK, J. F. Animal models and human protein-caloric malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 21: 1225-1228, 1968.
- KOOP, I. *et al.* Effect of food deprivation on the function of the intestinal cholecystokinin-producing cell in the rat. *Digestion*, 38: 114-123, 1987.
- LAGO, E. S. *et al.* Rat models of protein and protein-energy malnutrition. *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 63: 52-56, 1993.
- LEBENTHAL, E. *et al.* Effect of intrauterine growth retardation on the activities of fetal intestinal enzymes in rats. *Biol. Neonate*, 39: 14-21, 1981.
- LEE, P. C.; LEBENTHAL, E. Early weanling and precocious development of small intestine in rats: genetic, dietary or hormonal control. *Pediatr. Res.*, 17: 645-650, 1983.
- LEITCH, G. J. *et al.* Effects of protein malnutrition on experimental giardiasis in the mongolian gerbil. *Scand. J. Gastroenterol.*, 28: 885-893, 1993.
- LIMA, J. G. *et al.* Comparison of the effects of lab chow and casein diets based on body and brain development of rats. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 26: 1069-1076, 1993.
- LOH, K. R. W.; SHRADER, R. E.; ZEMAN, F. J. Effect of maternal protein deprivation on neonatal intestinal absorption in rats. *J. Nutrition*, 101: 1663-1672, 1971.
- MILLER, D. L. *et al.* Food restriction and recovery of nonabsorbed indicators from the small intestine of the rat. *Digestion*, 38: 83-89, 1987.
- MITCHELL, H. S. *et al.* *Nutrição*. 7.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1978. 282-283p.
- NATALI, M. R. M. *et al.* Effects of maternal protein malnutrition on the duodenal mucous layer of rats. *Braz. J. Morphol. Sci.*, 12(1): 71-76, 1995.
- OLIVEIRA, J. E. D.; SANTOS, A. C.; WILSON, E. D. *Nutrição Básica*. São Paulo: Sarvier, 1982. 55-56p.
- PATHAK, R. M. *et al.* Intestinal brush border membrane structure and function: Effect of early postnatal undernutrition. *Pediatrics. Res.*, 15: 112-114, 1981.
- PATRÍCIO, F. R. S.; NÓBREGA, F. J.; TONETE, S. S. Q. Desnutrição intra-uterina em diferentes períodos de gestação em ratas: estudo do intestino delgado proximal ao nascimento e durante a recuperação nutricional. *Rev. Paul. Ped.*, 8: 43-52, 1984.
- PÉNZES, L. Effect of consecutive protein depletion and repletion on the growth of albino rats. *Acta Biol. Hung.*, 18(3): 335-344, 1967.
- SHRADER, R. E.; ZEMAN, F. J. Effect of maternal protein deprivation on morphological and enzymatic development of neonatal rat tissue. *J. Nutrition*, 99: 401-421, 1969.
- SHRADER, R. E.; FERLATTE, M. I.; ZEMAN, F. J. Early postnatal development of the intestine in progeny of protein-deprived rats. *Biol. Neonate*, 31: 181-198, 1977.
- STEINER, M. *et al.* Effect of starvation on the tissue composition of the small intestine in the rat. *Am. J. Physiol.*, 215(1): 75-77, 1968.
- SULLIVAN, D. A.; VAERMAN, J. P.; SOO, C. Influence of severe protein malnutrition on rat lacrimal, salivary and gastrointestinal immune expression during development, adulthood and ageing. *Immunology*, 78(2): 308-317, 1993.
- TAKANO, J. Intestinal changes in protein-deficient rats. *Exptl. Molec. Pathology*, 3: 224-231, 1964.
- TORREJAIS, M. M. *et al.* Effects of proteic malnutrition after breastfeeding on the morphology of the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum of rats. *Unimar*, 17(2): 315-327, 1995.
- WAITZBERG, D. L. *et al.* Resposta da composição corpórea à desnutrição e repleção nutricional experimental. *Acta Cirur. Bras.*, 4(2): 61-68, 1989.
- WHITEHEAD, R.G. Animal models for the study of protein-energy malnutrition. *Pro. Nutr. Soc.*, 39: 227-231, 1980.

- WINICK, M.; NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J. Nutrition*, 89: 300-306, 1966.
- WINICK, M. Nutrition and nerve cell growth. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, 29: 1510-1515, 1970.
- WIRÉN, M.; MAGNUSSON, K. E.; LARSSON, J. Enteral glutamine increases growth and absorptive capacity of intestinal mucosa in the malnourished rat. *Scand. J. Gastroenterol*, 30: 146-152, 1995.
- WURTMAN, J. J.; MILLER, S. A. Effect of litter size on weight gain in rats. *J. Nutrition*, 106: 697-701, 1976.
- YOUNG, C. M.; LEE, P. C.; LEBENTHAL, E. Maternal dietary restriction during pregnancy and lactation: Effect on digestive organ development in suckling rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 46: 36-40, 1987.
- YOUNG, V. R.; SCRIMSHAW, N. S. Human protein and aminoacid metabolism and requirements in relation to protein quality. In: _____. *Evaluation of proteins for human*. Bodwell, C. E. Aui-Connect., 1977. 327p.
- YOUNOSZAI, M. K.; RANSHAW, J. Gastrointestinal growth in the fetus and suckling rat pups: Effects of maternal dietary protein. *J. Nutrition*, 103: 454-461, 1973.
- ZEMAN, F. J. Effect of protein deficiency during gestation on postnatal cellular development in the young rat. *J. Nutrition*, 100: 530-538, 1969.
- ZUCOLOTO, S. *et al.* Effect of oral phytohaemagglutinin intake on cell adaptation in the epithelium of the small intestine of the rat. *Int. J. Exp. Path.*, 72: 41-45, 1991.

Recebido em: 24/07/99

Aceito em: 11/09/99