

Requisitos protéicos mínimos de diferentes fontes vegetais para ratos de laboratório em fase de crescimento*

Protein minimum requirements from some vegetable sources for laboratory growing rats

Ida Maria Vianna de OLIVEIRA¹; Rebeca Carlota de ANGELIS²

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Ida Maria Vianna de Oliveira
Departamento de Enfermagem em
Saúde Coletiva
Laboratório de Nutrição da Escola
de Enfermagem da USP
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 419
05403-000 – São Paulo – SP
e-mail: imvolve@usp.br

1- Departamento ENS – Laboratório de
Nutrição da Escola de Enfermagem da
USP – SP

2- Departamento de Fisiologia do
Centro de Nutrição do Instituto de
Ciências Biomédicas da USP – SP

RESUMO

Os requisitos mínimos de proteína para manutenção do peso e nitrogênio corporal de ratos em crescimento foram determinados, avaliando-se a utilização protéica de diferentes fontes vegetais em relação à caseína. O grau de comprometimento metabólico, nestas condições, foi avaliado através da análise de albumina e proteína total plasmáticas e de proteína hepática. Ratos albinos recém-desmamados, de ambos os sexos, foram submetidos a diferentes dietas experimentais (arroz a 3%, 5% e 7%; feijão a 6%, 8% e 10%; arroz-feijão a 4%, 6% e 8%; e caseína a 3%, 5% e 7%) e controles (caseína a 28% e aprotéica), durante 28 dias (50 dias de idade). A estimativa da porcentagem mínima de proteína se mostrou dependente da qualidade protéica e igual a 3,6; 7,4; 4,9; e 3,7%, respectivamente, para o arroz, o feijão, o arroz-feijão e a caseína. Os parâmetros bioquímicos avaliados mostraram redução significativa com níveis inadequados de proteína, além de adaptação metabólica à restrição protéica, sugerindo a possibilidade de se atenuar as consequências da deficiência qualitativa da proteína com um aumento da quantidade na dieta.

UNITERMOS: Proteínas; Animais de laboratório; Ratos; Proteínas vegetais.

INTRODUÇÃO

As necessidades mínimas de proteína requeridas para o crescimento e a manutenção do organismo são determinadas pela eficiência de sua utilização biológica, resultante da inter-relação entre a qualidade e a quantidade da proteína ingerida.

Sabe-se que a utilização durante o crescimento é maximizada e mais eficiente com níveis dietéticos de proteína menores do que os requeridos para manter as atividades orgânicas mínimas⁸. Miller; Payne¹⁵ consideram que tal eficiência na utilização líquida de proteína (NPU) cai, linearmente, quando o consumo protéico ultrapassa a quantidade exigida para a manutenção.

Também Hegsted; Neff¹⁰ mostram que, conforme o teor de proteína aumenta na dieta e o crescimento se aproxima do máximo, a eficiência de utilização tende a diminuir. É, porém, difícil definir com exatidão o nível em que isso ocorre, pois a eficiência de utilização depende não só das características individuais de crescimento do animal, ou seja, de sua capacidade de armazenar nitrogênio na forma de novos tecidos, como também, da natureza da proteína dietética¹⁰.

Contudo, tanto em níveis abaixo dos requeridos na fase de manutenção, como próximos aos da fase de crescimento máximo, podem ocorrer desvios da linearidade e, portanto, da resposta, induzindo a uma sub ou superestimação da qualidade da proteína e de sua utilização¹⁰.

Tais desvios ocasionados por altos níveis de ingestão são, provavelmente, consequência da desaminação e do uso de proteí-

nas em excesso como fonte energética, já que não são armazenadas no corpo em quantidade apreciável. Níveis muito baixos podem provocar uma resposta adaptativa do organismo animal à depleção protéica, aumentando a eficiência de utilização dos aminoácidos ou a capacidade de reutilizar aminoácidos para a síntese de proteína¹⁷.

Além disso, as mudanças do peso ou dos níveis de nitrogênio corporal, embora resultantes das diferenças na atividade simultânea de síntese e catabolismo de proteínas, não indicam com que intensidade esses processos ocorrem, nem as mudanças bioquímicas adaptativas que os controlam. Assim, outros mecanismos orgânicos responsáveis por tais alterações no metabolismo e, portanto, pela retenção e pela eficiência de utilização do nitrogênio devem ser considerados. Este trabalho procura determinar a quantidade mínima de proteína requerida por ratos albinos para manutenção do peso ou do nitrogênio corporal durante o crescimento e, também, avaliar alguns parâmetros bioquímicos que possam evidenciar alterações adaptativas ou o grau de comprometimento metabólico nestas condições.

MATERIAL E MÉTODO

Animais e tratamento: Foram utilizados 112 ratos (*Rattus Norvegicus* var. *albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*), de ambos os sexos, da linhagem Wistar, obtidos a partir de colônias *inbreed* mantidas no biotério do Centro de Nutrição, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas/USP. Os ani-

* Parcialmente financiado pela FINEP.

mais, recém-desmamados (21 dias de idade) e pesando entre 40-45 g, foram, aleatoriamente, distribuídos em cinco lotes, correspondendo às diferentes dietas e constituindo um total de doze grupos experimentais e dois controles, com 8 ratos em cada. Todos os animais foram alojados, individualmente, em gaiolas metabólicas de ferro galvanizado e tiveram acesso a água e alimento "ad libitum". Através de pesagem, foram controlados o consumo alimentar, a cada dois dias, e o peso dos animais, semanalmente.

Decorridos 28 dias do início da experiência, os animais foram submetidos a eutanásia por decapitação, após suave analgesia e jejum de 12 horas. O sangue foi coletado em tubos heparinizados e centrifugado, por 20 minutos a 2.000 rpm. A remoção dos fígados foi feita por laparotomia, sendo o congelamento imediato obtido por imersão em nitrogênio líquido. Todos os procedimentos foram efetuados a 4°C.

As carcaças, livres de órgãos e intestinos, foram pesadas, secas (105°C, até peso constante) e moídas para a determinação de nitrogênio total, efetuada através do método microkjeldahl.

Composição e preparo das dietas: O arroz e o feijão obtidos junto à Fazenda Santa Eliza, Instituto Agrônomo de Campinas - SP, foram autoclavados a 121°C, a 1 atm, por 15 minutos e 30 minutos, respectivamente, após maceração em água (arroz: 1:2 P/V por 50 minutos; feijão 13 P/V por 16 h) e, então, submetidos a secagem a 60°C em estufa ventilada (arroz por 16 h; feijão por 60 h). O material seco foi pulverizado em moinho de facas (tamiz 0,297 mm de abertura). As farinhas, assim obtidas, foram analisadas quanto ao nitrogênio total¹ e constituíram as fontes protéicas para as dietas experimentais que continham 10% de sacarose, 8% de óleo de soja, 4% de mistura salina, 1% de mistura vitamínica, 1% de celulose e

amido de milho (q.s.p.)². A caseína, adquirida comercialmente de Moinhos Tacrigy S/A, constituiu a fonte de proteína das dietas-controles. A adição das diferentes fontes protéicas para obtenção dos níveis planejados de caseína (3%,5%,7% e 28%), arroz (3%,5% e 7%), feijão (6%,8% e 10%) mistura de arroz-feijão (4%,6% e 8%) foi feita através da substituição do amido.

Estimativa dos requisitos protéicos mínimos: A indicação da quantidade mínima (em gramas ou em porcentagem) de cada proteína dietética avaliada foi dada pelo intercepto entre a linha de regressão, obtida da relação entre a variação no peso e a proteína ingerida, e o eixo das abscissas (y = 0).

Análises Bioquímicas: A proteína total plasmática (diluição 1V/V%) e a hepática (20 mg/ml de sacarose 0,3M) foram dosadas conforme o proposto por Lowry¹². A determinação da albumina plasmática foi feita após precipitação das globulinas pela técnica sugerida por Debro et al.⁶.

Análise estatística: Utilizou-se a análise de variância para verificar e localizar diferenças nos resultados, sendo a significância dos testes F e de Tukey verificada a 5%. A regressão linear foi utilizada na avaliação da inter-relação entre peso (ou nitrogênio corporal) e proteína ingerida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito de variações qualitativas da proteína em parâmetros biológicos – Considerando-se que o peso inicial dos diferentes grupos de animais se apresentou homogêneo, a variação ponderal que se observa na Tab. 1 foi, provavelmente, determinada pela dieta.

Tabela 1

Efeito da concentração de proteína dietética no peso corporal e no consumo alimentar e protéico de ratos em fase de crescimento. São Paulo, 1993¹.

Proteína da dieta	Proteína fonte	Peso				Consumo (g/dia)			
		Inicial (g)		Variação (g/dia)		Alimento (g/dia)		Proteína	
		machos	fêmeas	machos	fêmeas	machos	fêmeas	machos	fêmeas
arroz	3	41,1 ± 2,4 ^{ab}	39,5 ± 1,8 ^a	0,06 ± 0,06 ^{ef}	-0,08 ± 0,03 ^{ef}	4,4 ± 0,9 ^{fg}	5,0 ± 0,8 ^{defg}	0,15 ± 0,03	0,17 ± 0,03
	5	40,2 ± 1,6 ^a	40,2 ± 1,9 ^a	0,38 ± 0,04 ^d	0,27 ± 0,08 ^{cdef}	6,7 ± 0,2 ^{bcde}	5,8 ± 0,7 ^{cdef}	0,32 ± 0,01	0,28 ± 0,03
	7	41,0 ± 2,2 ^{ab}	40,5 ± 1,3 ^a	1,03 ± 0,12 ^c	0,71 ± 0,02 ^{cd}	8,2 ± 1,1 ^{ab}	7,0 ± 0,5 ^{abcd}	0,60 ± 0,08	0,51 ± 0,04
feijão	6	43,4 ± 1,8 ^{ab}	41,5 ± 1,1 ^a	-0,14 ± 0,06 ^{ef}	-0,16 ± 0,03 ^{ef}	4,7 ± 0,3 ^{fg}	4,2 ± 0,2 ^{fg}	0,27 ± 0,02	0,24 ± 0,01
	8	44,4 ± 2,1 ^{ab}	41,5 ± 1,9 ^a	0,06 ± 0,09 ^{de}	-0,08 ± 0,20 ^{ef}	4,6 ± 1,2 ^{fg}	4,4 ± 1,0 ^{efg}	0,37 ± 0,09	0,35 ± 0,08
	10	44,0 ± 2,3 ^{ab}	41,4 ± 1,1 ^a	0,23 ± 0,22 ^{de}	0,41 ± 0,05 ^{cde}	5,9 ± 1,2 ^{cdef}	6,2 ± 0,4 ^{bedef}	0,58 ± 0,11	0,61 ± 0,04
arroz-feijão	4	43,1 ± 2,0 ^{ab}	42,2 ± 2,0 ^a	-0,16 ± 0,07 ^{ef}	-0,28 ± 0,03 ^f	4,0 ± 0,3 ^{fg}	4,1 ± 0,4 ^{fg}	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,02
	6	43,0 ± 2,3 ^{ab}	42,5 ± 1,5 ^a	0,14 ± 0,17 ^{de}	0,18 ± 0,38 ^{def}	5,4 ± 0,4 ^{defg}	5,6 ± 1,7 ^{def}	0,33 ± 0,02	0,34 ± 0,10
	8	43,6 ± 2,0 ^{ab}	42,8 ± 1,7 ^a	1,01 ± 0,10 ^c	0,92 ± 0,14 ^{bc}	7,8 ± 0,6 ^{abc}	7,7 ± 0,6 ^{abc}	0,66 ± 0,05	0,65 ± 0,05
caseína	3	41,9 ± 1,4 ^{ab}	40,6 ± 2,7 ^a	0,08 ± 0,07 ^{de}	0,04 ± 0,03 ^{def}	5,2 ± 1,0 ^{efg}	5,8 ± 0,4 ^{cdef}	0,19 ± 0,04	0,22 ± 0,01
	5	40,8 ± 1,7 ^{ab}	41,9 ± 1,9 ^a	0,90 ± 0,24 ^c	0,68 ± 0,08 ^{cd}	7,1 ± 0,8 ^{bcd}	6,4 ± 0,5 ^{bcde}	0,39 ± 0,04	0,35 ± 0,03
	7	42,4 ± 2,3 ^{ab}	42,6 ± 2,1 ^a	1,84 ± 0,28 ^b	1,67 ± 0,58 ^b	8,5 ± 0,5 ^{ab}	8,1 ± 1,5 ^{ab}	0,60 ± 0,04	0,58 ± 0,11
caseína aprotéica	28	44,4 ± 1,7 ^{ab}	42,8 ± 1,5 ^a	4,6 ± 0,39 ^a	3,39 ± 0,34 ^a	9,7 ± 0,8 ^a	8,8 ± 0,4 ^a	2,70 ± 0,24	2,46 ± 0,11
	-	45,5 ± 1,2 ^b	42,6 ± 2,1 ^a	-0,38 ± 0,07 ^f	-0,36 ± 0,07 ^f	3,8 ± 0,3 ^g	3,5 ± 0,8 ^g	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,01

1- Os valores estão expressos em Média ± Desvio Padrão. Médias, na mesma coluna, seguidas de letras iguais (a, b, c, d ...) não diferem significativamente (p > 0,05).

Animais, consumindo caseína a 28%, tiveram maior aumento ponderal, que foi significativo em relação aos demais. O aumento do peso foi, para todos os grupos, proporcional ao teor protéico da dieta, mas se mostrou significativo, entre os três níveis usados, apenas para os machos que consumiram caseína ou arroz ou arroz-feijão entre níveis extremos de proteína.

O consumo dos baixos teores de arroz-feijão e de feijão determinou, aparentemente, maior perda de peso, porém não significativa. Nestes níveis, para todos os grupos, exceto para o de caseína, a redução no peso, assim como no consumo de alimentos, foi semelhante ao do grupo sob dieta aprotéica ($p > 0,05$).

Logo, a variação média de peso dos animais se mostrou bem correlacionada à ingestão de proteína [coeficiente de correlação médio (r) igual a $0,954 \pm 0,054$]. O mesmo foi observado por Chavez; Pellett³ ao avaliar, por bioensaios, a qualidade de proteínas em níveis de ingestão similares. Também Hegsted; Chang⁷ relacionaram o peso ganho (g) com a ingestão de nitrogênio (g/dia) ou proteína (%), obtendo valores lineares dentro de níveis de ingestão específicos para cada fonte protéica.

Já a ingestão de proteína, sendo uma função do consumo de alimentos, foi, tanto quanto este, diretamente proporcional à concentração de proteína na dieta ($r = 0,781 \pm 0,121$). Mercer et al.^{13,14}, usando um modelo matemático para analisar respostas fisiológicas, demonstraram que o total de alimento consumido é, fundamentalmente, relacionado à concentração de proteína na dieta cuja influência é maior entre níveis de 0-20%. Segundo esses autores, concentrações muito altas ou muito baixas na dieta levam à marcante depressão no consumo. Porém, com porcentagens aci-

ma de 18% e abaixo de 3%, a ingestão não mais corresponde ao nível de proteína. O nível de maior sensibilidade seria em torno de 6%, quando pequenas mudanças na concentração de proteína resultariam em grandes alterações na ingestão de alimento.

A análise da Tab. 1 evidencia essa influência para todas as dietas, exceto feijão, e, principalmente, para ratos machos. Assim, observa-se que o consumo alimentar é significativamente diferente com variações nos níveis ou teores na proteína de 3,0-4,0 para 7,0-8,0%, dentro da faixa sugerida por Mercer et al.¹⁴. A ingestão da dieta aprotéica, que apresentava nível abaixo de 3% de proteína, não foi substancialmente alterada ($p > 0,05$). O mesmo ocorreu com o consumo de caseína a 28%, que não diferiu do consumo das demais proteínas em níveis de 7 a 8%.

Pode-se, pois, considerar que a concentração de proteína na dieta regula o apetite e proporcionalmente a ingestão de alimento e proteína determinando assim o peso ganho e, portanto, a eficiência de crescimento¹⁴.

Como o peso foi diretamente correlacionado ao total de nitrogênio ($r = 0,968 \pm 0,016$) e este à água corporal ($r = 0,919 \pm 0,039$), o efeito da concentração de proteína pode ser estendido a esses parâmetros (Tab. 2). Correlações semelhantes têm sido obtidas por Hegsted e seus colaboradores^{7,8,9}, que demonstraram a relação linear existente entre peso e nitrogênio corporal em animais em crescimento. Também, verificaram correlações entre proteína ingerida e água corporal e entre água e nitrogênio corporais para animais de mesma idade^{9,19}.

Efeitos de variações qualitativas da proteína em parâmetros bioquímicos - Os resultados da Tab. 2 mostram a influên-

Tabela 2

Efeito da concentração de proteína dietética no total de água e de nitrogênio corporais retidos, na proteína e na albumina plasmáticas e na proteína hepática de ratos em fase de crescimento. São Paulo, 1993¹.

Proteína na dieta		Água corporal (g)		Nitrogênio corporal retido (g)2		Albumina plasmática	Proteína	
Fonte	%	machos	fêmeas	machos	fêmeas	(mg/ml)	plasmática (mg/ml)	hepática (mg/gF)
Arroz	3	18,2 ± 2,7	15,08 ± 0,8	-0,11 ± 0,12	-0,17 ± 0,04	1,39 ± 1,40 ^h	48,55 ± 8,04 ^f	268,76 ± 24,44 ^{abc}
	5	20,2 ± 3,2	19,8 ± 2,7	0,39 ± 0,10	0,16 ± 0,19	10,33 ± 3,41 ^{cde}	69,14 ± 17,20 ^{cdef}	276,96 ± 76,19 ^{abc}
	7	33,8 ± 4,8	32,0 ± 1,7	0,94 ± 0,06	0,76 ± 0,11	13,12 ± 4,17 ^{cd}	96,60 ± 32,41 ^{ab}	282,30 ± 56,86 ^{abc}
Feijão	6	23,4 ± 1,4	22,7 ± 1,0	-0,02 ± 0,09	-0,08 ± 0,08	3,24 ± 1,89 ^{gh*}	59,98 ± 12,19 ^{def*}	336,52 ± 24,93 ^{ab}
	8	25,7 ± 1,0	23,5 ± 2,1	0,24 ± 0,14	-0,05 ± 0,24	11,38 ± 5,55 ^{cdef*}	68,48 ± 20,62 ^{cdef*}	314,68 ± 49,21 ^{abc}
	10	29,6 ± 2,1	28,2 ± 1,0	0,47 ± 0,08	0,51 ± 0,08	13,35 ± 2,48 ^{cd*}	71,53 ± 7,71 ^{cdef*}	368,38 ± 37,78 [*]
Arroz-Feijão	4	22,0 ± 0,7	20,2 ± 0,9	-0,01 ± 0,09	-0,28 ± 0,16	4,00 ± 1,85 ^{fgh*}	55,03 ± 5,41 ^{ef*}	301,91 ± 31,26 ^{abc}
	6	25,8 ± 2,2	24,6 ± 3,3	0,21 ± 0,16	-0,12 ± 0,25	5,12 ± 2,16 ^{efgh}	63,62 ± 9,87 ^{def}	292,00 ± 16,77 ^{abc}
	8	38,4 ± 3,7	34,9 ± 1,0	0,97 ± 0,10	0,74 ± 0,13	8,34 ± 1,73 ^{defg}	78,15 ± 7,46 ^{bcd}	326,39 ± 26,80 ^{ab}
Caseína	3	24,5 ± 0,9	23,6 ± 1,3	0,24 ± 0,14	0,10 ± 0,22	8,22 ± 3,57 ^{defg}	59,87 ± 4,46 ^{def}	238,99 ± 41,89 ^{bc}
	5	32,2 ± 3,3	31,9 ± 2,0	1,00 ± 0,40	0,60 ± 0,21	14,43 ± 1,49 ^c	75,47 ± 5,75 ^{bcd}	247,97 ± 38,67 ^{bc}
	7	48,9 ± 6,0	43,5 ± 8,5	1,58 ± 0,32	1,33 ± 0,52	22,44 ± 4,03 ^b	87,62 ± 16,00 ^{bc}	253,56 ± 8,53 ^{bc}
Caseína Aprotéica (Ap)	28	105,6 ± 7,0	79,1 ± 5,5	0,97 ± 0,30	2,46 ± 0,46	38,44 ± 6,98 ^a	115,62 ± 9,45 ^a	323,94 ± 37,61 ^{abc}
	-	22,1 ± 0,8	20,9 ± 1,0	-	-	2,24 ± 1,01 ^{h*}	21,93 ± 2,85 ^g	223,56 ± 55,95 ^{c*}

1- Os valores estão expressos em Média ± Desvio Padrão. Médias na mesma coluna, seguidas de letras (a, b, c ...) iguais, não diferem significativamente ($p > 0,05$); n = 8 animais (4 machos e 4 fêmeas); * (n-1) animais; 2- Nitrogênio corporal retido = N retido na carcaça dos grupos experimentais - (N retido na carcaça do grupo aprotéico + N ingerido pelo grupo aprotéico); 3- Média ± Desvio Padrão (n = 4 animais machos).

cia do nível e da qualidade da proteína dietética nas concentrações plasmáticas de proteína total e de albumina em ratos jovens.

A restrição protéica durante o crescimento diminuiu significativamente o teor tanto de proteína como de albumina plasmáticas. Reduções, em torno de 50% no teor de proteína e de 90% no teor de albumina, foram obtidas com os níveis mais baixos de proteína dietética em relação à caseína a 28%, sendo, pois, mais marcantes para albumina. A restrição total de proteína na dieta resultou em diminuições ainda mais intensas, de 80 para proteína e de 94% para albumina.

As variações verificadas em ambos os parâmetros se mostraram dependentes e proporcionais ao nível de proteína na dieta. A resposta foi mais acentuada entre os dois primeiros níveis de ingestão, não aparecendo diferenças significativas, pelo menos para o arroz e o feijão, com aumentos muito acima da porcentagem de proteína requerida para a manutenção do peso ou do nitrogênio corporal (3,6 e 7,4%, respectivamente – Tab. 4).

Não houve, portanto, diferença significativa na concentração de albumina no plasma de animais consumindo dietas contendo 7% de arroz ou 10% de feijão em relação aos que consumiram 5% e 8%, respectivamente.

Com os níveis mais altos de ingestão, o teor de albumina e o de proteína total se apresentaram 2 a 10 vezes maiores que aqueles dos níveis mais baixos. Mesmo assim, nos níveis mais altos a concentração de albumina foi de apenas 30-50% e a de proteína 60-80% das concentrações apresentadas pelo grupo controle.

A concentração de albumina plasmática nos ratos do grupo controle foi similar àquela encontrada por Moldawer¹⁶, Coward; Sawyer⁵ e Coward et al.⁴, enquanto a depleção com os níveis mais baixos de proteína foi significativamente maior.

Avaliando o efeito da qualidade protéica, em níveis próximos de 7%, observaram-se teores significativamente mais elevados de albumina para a caseína em relação às demais dietas. No nível de 5%, animais que consumiram caseína apresentaram maior concentração de albumina ($p < 0,05$) do que os que ingeriram feijão e arroz-feijão. Com níveis mais baixos de ingestão (3%), as diferenças foram ainda menores, sendo significativas apenas entre caseína e arroz.

Verificou-se, pois, menor diferenciação qualitativa das proteínas nos níveis muito baixos, possivelmente, devido à maior variação das respostas.

Apesar disso, a proteína de origem animal (caseína) apresentou nos níveis baixos concentração mais elevada de albumina (mas não significativa) que as proteínas vegetais. Assim, animais alimentados com caseína a 3% e a 5% atingiram níveis plasmáticos de albumina, semelhantes apenas aos daqueles que consumiram arroz a 7%, arroz-feijão a 8% e feijão a 10%. Isto se justificaria por ser o perfil de aminoácidos da caseína superior ao do arroz e sobretudo ao do feijão, que, por sua grande limitação em sulfúridos, provavelmente reduziu a síntese de albumina para a qual esses aminoácidos são prioritários.

O mesmo foi obtido comparando-se a variação de peso corporal dos animais, o que reforçou a possibilidade de se atenuar, dentro de certos limites, as conseqüências da inferioridade qualitativa da proteína, através de um aumento de sua quantidade na dieta.

Já, as reduções de até 90% no conteúdo de albumina plasmática, com os níveis mais baixos de proteína e com dieta aprotéica, evidenciaram uma falha nos mecanismos de controle

homeostático que protegem a albumina intravascular, comum nos casos severos de desnutrição protéica^{11,12} e derivado, principalmente, do desequilíbrio da relação proteína/calorias (P%) da dieta^{4,5}.

Tem sido sugerido que a hipoalbuminemia que acompanha o desenvolvimento desses quadros de desnutrição associados ao “Kwashiorkor” resulta do alto consumo de carboidratos em relação à proteína (baixos P%). O alto consumo de carboidratos, estimulando a liberação de insulina, causaria uma distribuição preferencial do suprimento de aminoácidos essenciais para o músculo ao invés do fígado^{5,16}, alterando a capacidade de hepatócitos em sintetizar albumina¹⁹. Se a ingestão de alimento for reduzida, no entanto, acredita-se que o balanço hormonal se reverteria e altas concentrações plasmáticas de cortisol induziriam a um desgaste muscular, tornando os aminoácidos disponíveis para o fígado^{5,19}. Isto permitiria uma proporção mais adequada de síntese hepática de albumina e a manutenção de sua concentração sérica, apesar da perda de peso^{5,19}.

Entretanto, com a redução espontânea no consumo de alimento, observada em animais submetidos aos níveis mais baixos de proteína “ad libitum”, os resultados desse trabalho mostraram que a concentração de albumina plasmática não foi mantida. Tal fato vem confirmar que, apesar da existência de mecanismos capazes de limitar o aparecimento da hipoalbuminemia, a situação não permanece, indefinidamente, em equilíbrio^{11,20}. Os resultados de Coward; Sawyer⁵ com ratos alimentados com caseína “ad libitum” também demonstraram que quanto menor a relação proteína/calorias (P%) da dieta, maior a extensão com que a hipoalbuminemia, gradualmente, se desenvolve.

Esses autores⁴ argumentam que, provavelmente, a perda de peso e, portanto, de músculo, desses animais foi tão grande que reduziu substancialmente sua capacidade, não só de prover a albumina extravascular, como de prover aminoácidos em quantidade adequada para a síntese hepática, levando o metabolismo do fígado a total desarranjo e inabilidade sintética.

Contudo, o total de proteína hepática obtido no presente trabalho não evidenciou este fato, pelo menos para a mesma fonte protéica. Embora a concentração de proteína no fígado dos animais experimentais tenha sido menor que a apresentada pelo grupo controle, as diferenças não foram significativas.

Assim, não se notaram alterações significativas com menores relações proteína/calorias (P%). O mais provável, portanto, é que tenha ocorrido uma adaptação hepática à restrição protéica severa e contínua. Sabe-se que quando um animal é privado de proteína dietética o conteúdo protéico do fígado cai rápida e paralelamente à perda de peso nos primeiros dias. Contudo, esta perda rápida não é mantida por muito tempo, passando o conteúdo de proteína a diminuir vagarosamente¹¹, enquanto o peso do fígado permanece equilibrado¹⁸. A diminuição mais lenta e gradativa no total de proteína hepática pode significar um equilíbrio entre a atividade de síntese e degradação de proteínas citoplasmáticas com a continuidade da deficiência²⁰. Isto pode justificar os resultados relativamente próximos obtidos para proteína hepática com os diferentes e baixos níveis de proteína usados neste estudo.

Requisitos protéicos mínimos para manutenção do peso durante o crescimento - A análise das Tab. 3 e 4 mostrou que os requisitos mínimos de proteína para manter o peso estão relacionados com a qualidade da proteína que determinou a concentração necessária na dieta. Desta forma, proteínas de melhor quali-

dade foram necessárias em menores níveis na dieta, quando a ingestão de alimentos foi a mesma. Verificou-se, pois, que a quantidade de alimento necessária é praticamente a mesma para todas as fontes de proteína (± 5 g/dia), variando apenas a porcentagem de proteína na dieta. Concluindo, o requisito protéico mínimo recomendado para manter o peso dos animais durante a fase de crescimento foi de 3,2% para o arroz, assemelhando-se ao da caseína (3,7%) e um pouco maior para o arroz-feijão (4,9%). Contudo, maior porcentagem de proteína de feijão (7,4%) precisou ser ingerida para manter o peso dos animais.

Esta proporcionalidade também se evidenciou quando foi considerada a porcentagem das calorias totais fornecidas por proteínas (P%).

CONCLUSÃO

A estimativa da porcentagem mínima das diferentes fontes alimentares estudadas, para manutenção do peso de ratos em crescimento, refletiu a qualidade da proteína e foi igual a 3,6% para o arroz; 7,4% para o feijão; 4,9% para o arroz-feijão; e 3,7% para a caseína.

Tabela 3

Equações de Regressão obtidas para diferentes fontes protéicas, consumidas por ratos machos (M) e fêmeas (F) em fase de crescimento. São Paulo, 1993¹.

Proteína da dieta	Variáveis da regressão						
	quantidade de proteína ingerida-g (x) versus variação corporal (y)			% de proteína na dieta (x) versus variação corporal (y)			
	Peso	Água	Nitrogênio	Peso	Água	Nitrogênio	
M Arroz	Equação de regressão	y = -10,69+2,336x	y = -10,59+1,257x	y = -0,36+0,077x	y = -26,98+7,692x	y = -19,18+4,106x	y = -0,93+0,260x
	Coefficiente de correlação ² (r)	0,981	0,884	0,952	0,985	0,881	0,969
F	Equação de regressão	y = -10,85+2,159x	y = -13,30+1,675x	y = -0,59+0,094x	y = -19,85+5,505x	y = -19,83+4,183x	y = -0,97+0,237x
	Coefficiente de correlação (r)	0,968	0,970	0,957	0,983	0,965	0,960
M Feijão	Equação de regressão	y = -9,95+1,002x	y = -2,95+0,620x	y = -0,28+0,044x	y = -18,08+2,486x	y = -7,69+1,502x	y = -0,70+0,118x
	Coefficiente de correlação (r)	0,788	0,910	0,872	0,772	0,871	0,901
F	Equação de regressão	y = -16,76+1,633x	y = -2,29+0,555x	y = -0,56+0,062x	y = -28,45+3,814x	y = -6,40+1,314x	y = -0,97+0,140x
	Coefficiente de correlação (r)	0,947	0,904	0,963	0,830	0,804	0,778
M Arroz-Feijão	Equação de regressão	y = -15,65+2,336x	y = -6,04+1,184x	y = -0,35+0,069x	y = -33,31+6,959x	y = -14,42+3,427x	y = -0,87+0,206x
	Coefficiente de correlação (r)	0,981	0,968	0,966	0,946	0,910	0,928
F	Equação de regressão	y = -18,58+2,451x	y = -5,56+1,051x	y = -0,59+0,073x	y = -35,62+7,084x	y = -13,14+3,033x	y = -1,12+0,214x
	Coefficiente de correlação (r)	0,978	0,987	0,932	0,915	0,938	0,935
M Caseína	Equação de regressão	y = -21,59+4,32x	y = -9,45+2,126x	y = -0,38+0,119x	y = -53,56+14,687x	y = -25,23+7,232x	y = -1,22+0,398x
	Coefficiente de correlação (r)	0,991	0,964	0,932	0,967	0,942	0,898
F	Equação de regressão	y = -26,33 + 4,557	y = -8,31+1,915x	y = -0,69+0,127x	y = -50,59+13,423x	y = -19,93+5,897x	y = -1,31+0,365x
	Coefficiente de correlação (r)	0,994	0,918	0,964	0,907	0,875	0,855

1- Regressão linear por procedimento padrão²⁰; 2- Todos os coeficientes de correlação apresentados foram estatisticamente significativos (p < 0,01).

Também, a magnitude das alterações nos parâmetros biológicos e bioquímicos estudados permitiram constatar não só mudanças metabólicas adaptativas à inadequação protéica como

a possibilidade de se atenuar, dentro de certos limites, as conseqüências da inferioridade qualitativa da proteína com um aumento da sua quantidade na dieta.

Tabela 4

Estimativa dos requisitos mínimos de proteína e de alimento para a manutenção do peso corporal de ratos em fase de crescimento. São Paulo, 1993¹.

Proteína da dieta	Estimativas das necessidades mínimas ²				Alimento	
	g/28 dias	g/dia	% na dieta	% das Calorias (P%)	g/dia	Intervalo de Confiança (95%)
Arroz	4,80 ± 0,31 ^c	0,17 ± 0,01 ^c	3,6 ± 0,1 ^c	3,2	4,9	4,7 - 5,1 g/dia
Feijão	10,10 ± 0,23 ^a	0,36 ± 0,01 ^a	7,4 ± 0,1 ^a	7,0	4,8	4,6 - 5,0 g/dia
Arroz-Feijão	7,14 ± 0,62 ^b	0,25 ± 0,02 ^b	4,9 ± 0,2 ^b	4,7	4,8	4,6 - 5,0 g/dia
Caseína	5,39 ± 0,56 ^{bc}	0,19 ± 0,02 ^{bc}	3,7 ± 0,1 ^c	3,5	5,4	5,1 - 5,7 g/dia

1- Requisitos mínimos de proteína e de alimento; 2- Os resultados expressam a média obtida para machos e fêmeas. Médias na mesma coluna, seguidas de letras iguais (a, b, c ...), não diferem significativamente ($p > 0,05$).

SUMMARY

The protein minimum requirement for maintenance of body weight and nitrogen from growing rats was determined by protein utilization of some vegetable sources in relation to casein and by evaluation of some biochemical indicators (plasma protein and albumin, liver protein). Weanling Wistar rats were fed on experimental diets (3%, 5% or 7% rice; 6%, 8% or 10% bean; 4%, 6% or 8% rice-and-bean) and control diets (3%, 5%, 7% or 28% casein and free protein diet) during 28 days (50 days of age). The estimated minimal requirements of protein seems to be dependent on protein quality and were 3.6%; 7.4%; 4.9% and 3.7% respectively to rice, bean, rice-and-bean and casein. The biochemical parameters were significantly reduced in experimental groups when compared to casein 7% and 28% controls. The results obtained could suggest a metabolic adaptation to protein restriction and a possibility to overcome the poor protein quality by increasing the dietary protein quantity.

UNITERMS: Proteins; Laboratory animals; Rats; Vegetable proteins.

REFERÊNCIAS

- 1- AOAC. **Official methods of analysis**. 12.ed., Washington: W. Horwitz, 1975.
- 2- BENDER, A. E. Evaluation of protein quality: Methodological considerations. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 41, n. 3, p. 267-275, 1982.
- 3- CHAVEZ, J. F.; PELLET, P. L. Protein quality of some representative Latin American diets by rat bioassay. **Journal of Nutrition**, v. 106, n. 6, p. 792-801, 1976.
- 4- COWARD, W. A.; WHITEHEAD, R. G.; LUNN, P. G. Reasons why hypoalbuminaemia may or not appear in protein-energy malnutrition. **British Journal of Nutrition**, v. 38, n. 1, p. 115-126, 1977.
- 5- COWARD, W. A.; SAWYER, M. B. Whole body albumin mass and distribution in rats fed on low protein diets. **British Journal of Nutrition**, v. 37, n. 1, p. 127-134, 1977.
- 6- DEBRO, J. R.; TAVER, H.; KORNER, A. The determination of serum albumin and globulin by a new method. **Journal of Laboratory Clinical Medicine**, v. 50, n. 5, p. 728-732, 1957.
- 7- HEGSTED, D. M.; YET-OY CHANG. Protein utilization in growing rats. I. Relative growth index as a bioassay procedure. **Journal of Nutrition**, v. 85, n. 2, p. 159-168, 1965.
- 8- HEGSTED, D. M.; YET-OY CHANG. Protein utilization in growing rats at different levels of intake. **Journal of Nutrition**, v. 87, n. 1, p. 19-25, 1967.
- 9- HEGSTED, D. M.; NEFF, R.; WORCESTER, J. Determination of the relative nutritive value of proteins. Factors affecting precision and validity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 16, n. 2, p. 190-195, 1968.
- 10- HEGSTED, D. M.; NEFF, R. Efficiency of protein utilization in young rats at various levels of intake. **Journal of Nutrition**, v. 100, n. 10, p. 1173-1179, 1970.
- 11- KIRSCH, R.; FRITH, L.; BLACK, E.; HOFFENBERG, R. Regulation of albumin synthesis and catabolism by alteration of dietary protein. **Nature**, v. 217, n. 10, p. 578-579, 1968.
- 12- LOWRY, D. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, n. 1, p. 266-275, 1951.
- 13- MERCER, L. P.; MORGAN, P. H.; FLODIN, N. W.; DOMM, A. Prediction of food intakes and growth rates in weanling rats by the four-parameter model equation. **Nutrition Report International**, v. 19, n. 1, p. 1-8, 1979.
- 14- MERCER, L. P.; WATSON, D. F.; RAMLET, J. S. Control of food intake in the rat by dietary protein concentration. **Journal of Nutrition**, v. 111, n. 6, p. 1117-1123, 1981.
- 15- MILLER, D. S.; PAYNE, P. R. Problems in the prediction of protein values of diets - The influence of protein concentration. **British Journal of Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 11-19, 1961a.
- 16- MOLDAWER, L. L.; BISTRAN, B. R.; BLACKBURN, G. L. Factors determining the preservation of protein status during protein deprivation. **Journal of Nutrition**, v. 111, n. 7, p. 1287-1296, 1981.
- 17- PELLET, P. L. Protein quality evaluation revised. **Food Technology**, v. 32, n. 5, p. 60-79, 1978.
- 18- SATO, A.; NODA, K.; NATORI, Y. The effect of protein depletion in the rate of protein synthesis in rat liver. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 561, n. 2, p. 475-483, 1979.
- 19- SMITH, J. E.; LUNN, P. G. Albumin-synthesizing capacity of hepatocytes isolated from rats fed diets differing in protein and energy content. **Annals of Nutrition Metabolism**, v. 28, n. 2, p. 281-287, 1984.
- 20- WATERLOW, J. C.; GARLICK, P. J.; MILLWARD, D. J. **Protein turnover in mammalian tissues and in the whole body**. New York: Oxford North-Holland, 1978. p. 443-470; 630-695; 698-745.

Recebido para publicação: 12/05/1998
Aprovado para publicação: 23/03/2001