

Requisitos mínimos protéicos de diferentes fontes vegetais para ratos de laboratório adultos*

Protein minimum requirements from some vegetable sources for maintenance of mature laboratory 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 de Enfermagem em
Saúde Coletiva – Laboratório de
Nutrição da Escola de Enfermagem da
USP – SP
2- Departamento de Fisiologia – Setor
de Nutrição do ICB/USP-SP

RESUMO

O efeito da qualidade e da quantidade de diferentes fontes de proteína na dieta utilizada por ratos adultos foi determinado através de parâmetros biológicos e bioquímicos. Ratos albinos da linhagem Wistar, com 275 dias de idade, foram submetidos a dietas isocalóricas contendo três diferentes níveis de caseína (1%, 3% e 5%), arroz (3%, 5% e 7%), feijão (5%, 7% e 9%) e mistura de arroz-feijão (3%, 6% e 8%) e comparados a um grupo controle cuja fonte protéica foi a caseína a 28%, durante o período experimental de 28 dias. A estimativa da porcentagem mínima de proteína para manutenção do peso corporal se mostrou dependente da qualidade protéica e igual a 4,9%; 9,7%; 7,3% e 4,5g%, respectivamente para arroz, feijão, arroz-feijão e caseína. Os parâmetros bioquímicos avaliados (proteína, albumina plasmática e proteína hepática) mostraram-se pouco sensíveis às variações protéicas da dieta. A magnitude das mudanças observadas sugere uma adaptação metabólica aos níveis inadequados de proteína e a possibilidade de atenuar as conseqüências da inferioridade qualitativa da proteína com um aumento da sua quantidade na dieta. Reafirma, também, que a extensão com que a qualidade da proteína na dieta afeta sua necessidade depende do estágio de desenvolvimento fisiológico do animal.

UNITERMOS: Proteínas; Animais de laboratório; Proteínas vegetais.

INTRODUÇÃO

Com o envelhecimento, mudanças fisiológicas que ocorrem no animal podem afetar o metabolismo e, portanto, a deposição de proteína. Tem sido demonstrado, em ratos machos, que a renovação total de proteína, por unidade de peso, diminui conforme o animal cresce. A síntese protéica, num animal de 52 dias, é igual a 42 g/kg/dia e, naqueles com 323 dias, igual a 13,5 g/kg/dia²³. Há, portanto, com a idade, uma queda na proporção de síntese protéica intrínseca.

Além disso, de acordo com Reeds e Fuller¹³, conforme o animal envelhece e o seu crescimento declina, o aumento na síntese de proteínas corporais, que usualmente acompanha aumentos de ingestão (acima da requerida para manutenção), torna-se progressivamente menor. O limite seria alcançado no adulto quando um aumento na ingestão, acima da necessária para o equilíbrio nitrogenado, teria pouco efeito no nível de síntese protéica¹³. Portanto, a intensidade com que o consumo protéico afetaria a síntese e a degradação de proteínas corporais e, portanto, a necessidade de aminoácidos e de proteína parece depender do estágio de desenvolvimento fisiológico do animal^{13,15}.

Apesar do amplo estudo das necessidades de proteína de ratos recém-desmamados, aquelas de ratos adultos têm sido assunto de um número limitado de investigações que muitas vezes não especificam a idade dos animais.

Tanto técnicas de balanço nitrogenado⁶ e de retenção de nitrogênio^{3,18}, como de manutenção do peso ou da água corporal¹⁵, têm sido utilizadas para estimar as necessidades de proteína de ratos adultos. A maior parte dos estudos, no entanto, se refere à necessidade de caseína, sendo pouco disponíveis dados relativos a fontes vegetais, reconhecidamente de qualidade inferior.

Adicionalmente, as mudanças no peso, no total de nitrogênio ou no total de água corporal, embora sejam resultantes de diferenças na atividade simultânea de síntese e catabolismo de proteínas, não indicam com que intensidade esses processos ocorrem nem as mudanças fisiológicas adaptativas que os controlam.

O fígado é considerado um órgão importante na utilização da proteína da dieta^{10,19,22}, sendo, também, o único entre tecidos e órgãos cujo conteúdo absoluto de proteína se altera continuamente, em função do padrão de consumo alimentar e do metabolismo de proteínas fixas e plasmáticas²³. A concentração de proteínas e, sobretudo, a de albumina plasmática podem, pois, refletir o grau de desajuste na síntese hepática com a inadequação protéica^{5,24} e, assim, indiretamente, refletir o grau de utilização da proteína.

O presente trabalho pretende avaliar não só o efeito da qualidade protéica de fontes vegetais nas necessidades mínimas de proteína para manutenção do peso corporal de ratos adultos, mas as possíveis adaptações bioquímicas, refletidas por mudanças nas concentrações de proteína hepática e plasmática que se processam nesta situação.

* Parcialmente financiado pela FINESP.

MATERIAL E MÉTODO

Animais e dietas - Cerca de 130 ratos (*Rattus Norvegicus* var. *albinus*, *Rodentia*, *Mammalia*; 50% de cada sexo), recém-desmamados e de mesma idade, obtidos de colônias *inbreed* do biotério do Centro de Nutrição, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, foram mantidos sob as mesmas condições alimentares e ambientais. Ao atingirem a idade média de 275 dias, foram distribuídos em doze grupos experimentais que receberam dietas isocalóricas contendo três diferentes níveis de caseína (1%, 3%, 5%), de arroz (3%, 5%, 7%), de feijão (5%, 7%, 9%) e de uma mistura de arroz-feijão (3%, 6%, 8%) e em dois controles (caseína a 28% e dieta aptotética). Os animais alojados individualmente, em gaiolas metabólicas de zinco galvanizado, tiveram acesso a água e alimento *ad libitum*. Durante o período experimental de 28 dias, o peso de cada animal foi mensurado semanalmente, sendo o seu consumo alimentar avaliado, por pesagem da ração, a cada dois dias. As dietas foram preparadas conforme já descrito anteriormente¹².

Obtenção do material de ensaio - Ao término da experiência, os animais foram submetidos a eutanásia, por decapitação, sob anestesia com éter etílico, e após jejum de 12 horas. O sangue foi coletado em tubos heparinizados e centrifugado, por 20 minutos a 2.000 rpm, a 4°C. No plasma, mantido a 4°C, procedeu-se à análise de proteína total e albumina. Imediatamente após a eutanásia, foi feita a remoção dos fígados, seguida da lavagem em solução fisiológica, pesagem e transferência para nitrogênio líquido. O congelamento a -18°C foi mantido até as análises. Nas carcaças (corpo inteiro menos órgãos e sangue) pesadas, secas a 105°C (até peso constante) e pulverizadas, foi determinado o nitrogênio total.

Determinação do nitrogênio total - Foi efetuada pelo método microkjeldahl nas carcaças e dietas.

Determinação da proteína total - Foi dosada pelo método de Lowry et al.⁹, no plasma diluído (1 V/V%) e no homogenato integral de fígado (20 mg/ml de sacarose 0,3M).

Determinação de albumina plasmática - Foi feita através da técnica sugerida por Debro et al.²

Análise Estatística - Os resultados foram analisados estatisticamente através de Análise de Variância e de Regressão Linear²¹, sendo a significância dos testes F e de Tukey verificada ao nível de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais submetidos às concentrações mais baixas das diferentes proteínas perderam, gradativamente, mais peso, não diferindo significativamente do grupo sob dieta aptotética (Tab. 1). Com o aumento da concentração de proteína na dieta, observou-se uma diminuição na perda e mesmo no ganho de peso, que só foi significativo para os grupos alimentados com a dieta de caseína a 28%. Os animais machos deste grupo mostraram um ganho de peso significativamente maior que os dos demais grupos. O mesmo não ocorreu com as fêmeas cujo aumento ponderal só diferiu daqueles grupos alimentados com os níveis mais baixos de arroz-feijão e caseína.

Observou-se, ainda, que a perda de peso de ratos alimentados com caseína persistiu mesmo com os níveis de 3% e 5%. Resultados de Sheehan et al.¹⁸, com ratos fêmeas de 12 meses de idade, mostraram uma diminuição no peso apenas com concentrações de caseína iguais ou mais baixas do que 2,14%. Já, Fischer e Canolty³, em estudo com ratos mais velhos (15 e 25

Tabela 1

Efeito de diferentes fontes protéicas no consumo de alimento e de proteína de ratos adultos (300d de idade)¹.

Proteína na dieta		Peso inicial (g)		Variação ponderal (g/dia)		Consumo ² (g/dia)	
Fonte	%	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas	alimento	proteína
Arroz	3	323,2 ± 26,0 ^{a1}	230,2 ± 7,0 ^{a1}	-0,18 ± 0,26 ^{bcd}	-0,23 ± 0,28 ^{ab}	13,9 ± 1,2 ^a	0,50 ± 0,08
	5	324,6 ± 20,5 ^a	229,2 ± 7,0 ^a	0,26 ± 0,44 ^b	-0,12 ± 0,02 ^{ab}	12,8 ± 0,8 ^a	0,63 ± 0,08
	7	314,7 ± 22,5 ^a	233,2 ± 7,5 ^a	0,44 ± 0,17 ^{bc}	0,18 ± 0,20 ^{ab}	13,4 ± 0,9 ^a	0,94 ± 0,12
Feijão	5	327,9 ± 15,9 ^a	229,4 ± 15,2 ^a	-1,40 ± 0,57 ^{de}	-0,18 ± 0,15 ^{ab}	13,3 ± 1,1 ^a	0,72 ± 0,40
	7	320,5 ± 25,0 ^a	228,1 ± 7,6 ^a	-0,36 ± 0,20 ^{bcd}	-0,25 ± 0,12 ^{ab}	13,6 ± 1,2 ^a	0,98 ± 0,16
	9	299,0 ± 19,0 ^a	229,0 ± 7,0 ^a	-0,28 ± 0,17 ^{bd}	-0,22 ± 0,99 ^{ab}	12,4 ± 0,4 ^a	1,15 ± 0,16
Arroz-Feijão	3	325,4 ± 30,5 ^a	233,5 ± 8,8 ^a	-0,75 ± 0,22 ^{cde}	-0,81 ± 0,25 ^{bcd}	13,0 ± 1,4 ^a	0,43 ± 0,08
	6	325,6 ± 30,2 ^a	327,7 ± 11,0 ^a	0,12 ± 0,23 ^{bc}	-0,04 ± 0,16 ^{ab}	14,0 ± 0,8 ^a	0,86 ± 0,08
	8	332,0 ± 26,5 ^a	235,7 ± 12,2 ^a	0,16 ± 0,14 ^{bc}	0,09 ± 0,17 ^{ab}	13,4 ± 1,1 ^a	1,12 ± 0,16
Caseína	1	325,7 ± 23,8 ^a	226,5 ± 6,8 ^a	-1,39 ± 0,12 ^{de}	-1,32 ± 0,34 ^{cd}	11,8 ± 1,5 ^a	0,20 ± 0,04
	3	319,0 ± 21,2 ^a	227,4 ± 7,8 ^a	-0,61 ± 0,18 ^{bcd}	-0,35 ± 0,15 ^{abc}	12,4 ± 0,9 ^a	0,44 ± 0,05
	5	321,0 ± 20,7 ^a	229,2 ± 7,4 ^a	-0,10 ± 0,27 ^{bc}	-0,16 ± 0,34 ^{ab}	13,4 ± 1,2 ^a	0,60 ± 0,09
Caseína	28	320,0 ± 28,8 ^a	228,2 ± 6,5 ^a	1,76 ± 0,18 ^a	0,55 ± 0,13 ^a	13,3 ± 0,4 ^a	3,56 ± 0,33
Aptotética	-	315,5 ± 23,0 ^a	230,0 ± 7,2 ^a	-1,81 ± 0,18 ^c	-1,42 ± 0,25 ^d	11,0 ± 1,1 ^a	0,06 ± 0,01

1- Ensaios desenvolvidos no Laboratório de Nutrição em 1993. Os valores estão expressos em Média ± Desvio Padrão. Médias na mesma coluna, seguidas de letras iguais, não diferem significativamente ($p > 0,05$); 2 - Consumo médio de machos e fêmeas ($n = 8$).

meses), relataram ganho de peso com 2,16% de caseína suplementada com metionina na dieta. Entretanto, nesses trabalhos foram utilizados animais mais velhos e caseína suplementada com metionina, o que, provavelmente, determinou melhores resultados.

Também, o consumo de alimento “ad libitum”, relatado por esses autores, foi significativamente superior ao obtido neste trabalho. Durante o período experimental, nenhuma diferença significativa foi observada na média de ingestão diária de alimento pelos diferentes grupos. Rozovski e Temkin¹⁴ apresentaram resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo em relação ao consumo e à mudança de peso dos animais, que mostraram perda, mesmo com caseína a 5%. Observaram diferenças significativas apenas entre o grupo controle (caseína a 25%) e o grupo recebendo caseína a 3,5%. Já, Sheehan et al.¹⁸ notaram um aumento na ingestão de alimento com aumentos na porcentagem de proteína na dieta, embora esta variação não tenha sido significativa entre os níveis de 1,8; 2,8 e 3,8% de caseína.

Assim como o peso e o consumo alimentar, o nitrogênio e a água da carcaça (Tab. 1 e 2) não variaram significativamente com a ingestão protéica. Este fato justificou os baixos coeficientes de correlação, obtidos sobretudo entre a variação no nitrogênio e na água corporal e a porcentagem de proteína na dieta. Correlações melhores resultaram da relação entre mudança no peso corporal e no total de proteína ingerida (Tab. 3).

Os baixos coeficientes de correlação entre a porcentagem de proteína na dieta e a variação no nitrogênio e na água corporal só se justificam pela variabilidade nos dados individuais, visto

que o total de nitrogênio retido mostrou-se altamente correlacionado ao peso ganho ($r = 0,952 \pm 0,005$) e ainda ao total de água no corpo dos animais ($r = 0,938 \pm 0,015$). Porém, como o peso ganho representou a variação ponderal (peso final - peso no início da experiência), provavelmente, resultou em erros menores e melhores correlações.

Presume-se que a precisão do ensaio utilizando nitrogênio ou água corporal poderia ser melhorada pela análise de ambos os elementos na carcaça de um grupo de animais ao iniciar o período experimental⁷. Embora o nitrogênio corporal seja teoricamente considerado o melhor parâmetro de resposta para a utilização de proteína, as dificuldades de amostragem das carcaças dos animais e as numerosas manipulações envolvidas na determinação de nitrogênio têm resultado em grande variação nos dados. Isto tem levado alguns autores⁴ a sugerir a mudança na concentração da água corporal como medida mais simples e adequada. No entanto, Sheehan et al.¹⁸ apontam-na como menos sensível e questionam a acurácia de resultados assim obtidos.

Também, a medida do peso ganho pode ser insatisfatória se o total de proteína ou do nível de nitrogênio corporal for influenciado pela qualidade da dieta consumida⁷.

Entretanto, como são amplamente utilizadas, e, neste trabalho, levaram a melhores correlações que o nitrogênio e a água corporais, as equações de regressão (Tab. 3), relacionando variação no peso com a proteína ingerida, foram preferidas para o cálculo das necessidades de manutenção (Tab. 4).

Os resultados que têm sido relatados por diferentes autores, com relação aos requisitos mínimos de proteína, sobretudo de

Tabela 2

Efeito de diferentes fontes protéicas no total de nitrogênio, no total de água corporal, na proteína e albumina plasmáticas e na proteína hepática de ratos adultos (300d de idade)¹.

Proteína na dieta		Água corporal	Nitrogênio corporal	Proteína plasmática	Albumina plasmática	Proteína hepática ³
Fonte	%	(g)	(g)	(mg/ml)	(mg/ml)	(mg/gF)
Arroz	3	161,6 ± 25,0 ^a	1,1 ± 1,4 ^a	115,5 ± 11,8 ^{ghi}	36,6 ± 9,4 ^{bc}	196,3 ± 18,5 ^{abc}
	5	166,8 ± 21,4 ^a	2,0 ± 1,1 ^a	120,0 ± 21,0 ^{fgh}	58,4 ± 9,3 ^a	201,9 ± 20,1 ^{abc}
	7	163,5 ± 21,4 ^a	1,8 ± 1,0 ^a	129,4 ± 16,7 ^{efgh}	61,3 ± 16,7 ^a	222,8 ± 10,4 ^a
Feijão	5	154,4 ± 20,3 ^a	0,7 ± 1,0 ^a	164,4 ± 8,9 ^{cd}	33,0 ± 6,9 ^{bcd}	17,7 ± 12,3 ^{ab}
	7	159,8 ± 26,5 ^a	1,0 ± 0,8 ^a	208,8 ± 13,7 ^a	29,6 ± 7,2 ^{bcde}	231,8 ± 19,9 ^b
	9	157,8 ± 15,6 ^a	1,0 ± 0,8 ^a	195,7 ± 19,6 ^{ab}	32,6 ± 7,3 ^{bcd}	232,6 ± 13,5 ^b
Arroz-Feijão	3	148,7 ± 18,0 ^a	0,8 ± 1,3 ^a	143,7 ± 6,4 ^{cdef}	16,5 ± 5,8 ^c	166,4 ± 14,9 ^{bc}
	6	165,8 ± 15,4 ^a	1,7 ± 1,1 ^a	170,0 ± 16,5 ^{dc}	20,5 ± 7,3 ^{dc}	203,2 ± 18,3 ^{abc}
	8	166,8 ± 20,6 ^a	1,6 ± 0,7 ^a	139,0 ± 16,7 ^{defg}	22,3 ± 3,2 ^{cde}	215,5 ± 35,4 ^{ab}
Caseína	1	139,8 ± 15,9 ^a	0,3 ± 0,9 ^a	113,8 ± 8,9 ^{fghi}	29,9 ± 5,1 ^{bcde}	162,6 ± 24,0 ^c
	3	152,0 ± 16,9 ^a	1,3 ± 0,9 ^a	135,4 ± 19,4 ^{defg}	37,2 ± 9,6 ^b	213,8 ± 11,0 ^{abc}
	5	165,1 ± 17,8 ^a	1,3 ± 0,9 ^a	158,1 ± 14,9 ^{cde}	39,3 ± 10,0 ^b	233,9 ± 16,1 ^a
Caseína Aprotéica (Ap)	28	181,6 ± 20,6 ^a	1,7 ± 0,7 ^a	84,0 ± 37,6 ⁱ	27,8 ± 8,3 ^{bcde}	243,8 ± 30,4 ^a
	-	146,6 ± 17,8 ^a	— —	103,6 ± 12,7 ^{hi}	18,7 ± 4,5 ^{dc}	158,2 ± 17,5 ^c

1- Ensaios desenvolvidos no Laboratório de Nutrição em 1993. Os valores estão expressos em Média ± Desvio Padrão (n = 8 animais machos). Médias, na mesma coluna, seguidas de letras iguais não diferem significativamente (p > 0,05); 2- Nitrogênio corporal retido = N retido na carcaça (grupo teste) - (N retido carcaça do grupo aprotéico + N ingerido pelo grupo aprotéico); 3- Média ± Desvio Padrão (n = 4 animais).

Tabela 3

Equações de regressão obtidas para diferentes fontes protéicas, considerando ratos machos e fêmeas adultos - 300d de idade.

Proteína da Dieta	Variáveis da Regressão ¹						
	g de proteína ingerida (x) versus variação corporal (y)			% de proteína na dieta (x) versus variação corporal (y)			
	Peso	Água	Nitrogênio	Peso	Água	Nitrogênio	
Arroz							
M	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-29,31+1,560x	-14,79+1,422x	-0,09+0,092x	-20,62+4,918x	13,69+0,502x	1,37+0,107x
	Coeficiente de correlação (r) ³	0,632	0,319	0,383	0,459	0,026	0,102
F	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-24,00+1,339x	0,63+1,072x	-0,34+0,103x	-19,20+3,409x	17,30+0,247x	-0,16+0,298x
	Coeficiente de correlação (r)	0,685	0,443	0,641	0,472	0,028	0,504
Feijão							
M	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-78,23+2,115x	-36,48+1,410x	-1,00+0,067x	-77,29+7,948x	-5,73+1,224x	-0,17+0,095x
	Coeficiente de correlação (r)	0,700	0,442	0,479	0,604	0,088	0,157
F	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-0,54+0,217x	-22,32+1,597x	-0,57+0,059x	-4,55+0,208x	-14,93+0,469	-0,74+0,024x
	Coeficiente de correlação (r)	-0,186	0,495	0,443	-0,060	0,049	0,060
Arroz-Feijão							
M	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-36,50+1,199x	-25,79+1,401x	-0,88+0,036x	-37,15+5,137x	-15,37+4,120x	-1,38+0,067x
	Coeficiente de correção (r)	0,750	0,581	0,224	0,770	0,409	0,099
F	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-36,58+1,474x	-15,16+1,554x	-0,78+0,084x	-37,16+5,077x	-12,58+4,814x	-0,62+0,257x
	Coeficiente de correlação (r)	0,840	0,839	0,818	0,730	0,655	0,630
Caseína							
M	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-55,52+2,846x	-29,22+2,495x	-0,14+0,117x	-62,25+13,035x	-23,06+7,737x	-0,75+0,363x
	Coeficiente de correlação (r)	0,890	0,621	0,532	0,870	0,411	0,355
F	Equação de regressão ²	y=	y=	y=	y=	y=	
		-58,31+4,047x	-24,26+3,102x	-0,62+0,116x	-62,12+14,487x	-23,60+10,008x	-0,74+0,418x
	Coeficiente de correlação (r)	0,869	0,891	0,720	0,801	0,741	0,671

1 - Regressão linear por procedimento padrão²⁰; 2 - Ensaios desenvolvidos no Laboratório de Nutrição em 1993; 3 - Coeficiente de correlação (r).

caseína, para manutenção de animais adultos, apresentam pouca variação. Hartsook e Mitchell⁶ recomendaram níveis de 3,18% de caseína suplementada com metionina para animais com 342 dias de idade, estimados por balanço de nitrogênio. Said e Hegsted¹⁵ mediram o teor de água na carcaça de ratos mais jovens (pesando 200 g) para prever a quantidade mínima de 3,39% de caseína, requerida para mantê-la constante. Uma necessidade de 3,91% a 4,19% de caseína suplementada foi estimada por Sheehan et al.¹⁸ para manutenção do nitrogênio corporal de ratos fêmeas de 12 meses. O valor obtido por Smith e Johnson²⁰, através de balanço nitrogenado, foi intermediário (3,6% da dieta). Todos esses valores foram mais baixos que os recomendados pelo National Academy of Sciences¹¹, entre 4,0 e 4,4% de caseína suplementada com metionina.

A estimativa média obtida neste trabalho, para manutenção do peso do corpo de animais machos e fêmeas adultos, com aproximadamente 300 dias de idade (Tab. 4), foi de 4,5% de

caseína, sem suplementação na dieta e, portanto, similar à recomendada. Para as demais fontes, a quantidade de proteína necessária foi maior e dependente da qualidade protéica. Isto sugere a possibilidade de se atenuar as consequências de uma inferioridade qualitativa com um aumento na quantidade de proteína na dieta. Também Lourenço⁸, estudando a influência da qualidade da proteína dietética sobre o desenvolvimento corporal e, de alguns órgãos de ratos, concluiu que a quantidade de proteína na dieta poderia, em relação aos componentes por ele analisados (DNA, RNA e proteína de diferentes órgãos), minimizar a influência da qualidade, desde que os fatores limitantes não fossem totais.

Adicionalmente, os requisitos mínimos protéicos para a manutenção do peso de animais adultos (Tab. 4) mostrou-se maior que o observado para animais em crescimento, sob as mesmas condições de alimentação.

Benevenga et al.¹, em recente revisão de dados sobre requisitos de proteína e aminoácidos para manutenção e crescimen-

Tabela 4

Estimativa dos requisitos mínimos de proteína e alimento para manutenção do peso corporal de ratos adultos (300d de idade)¹.

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	18,36 ± 0,61 ^b	0,67 ± 0,02 ^b	4,9 ± 1,0 ^c	4,8	11,7	11,1 - 12,3 g/dia
Feijão	36,98 ± 0,00 ^a	1,32 ± 0,00 ^a	9,7 ± 0,0 ^{a*}	0,3	11,8	11,2 - 12,4 g/dia
Arroz-Feijão	27,63 ± 3,98 ^{ab}	0,99 ± 0,14 ^{ab}	7,3 ± 0,1 ^b	6,9	13,8	13,1 - 14,5 g/dia
Caseína	16,96 ± 3,61 ^b	0,60 ± 0,13 ^b	4,5 ± 0,3 ^c	4,3	13,3	12,6 - 14,0 g/dia

1- Ensaios desenvolvidos no Laboratório de Nutrição em 1993. Os valores estão expressos em Média ± Desvio Padrão. Médias na mesma coluna, seguidas de letras iguais, não diferem significativamente ($p > 0,05$); 2- Machos e fêmeas ($n = 8$). A quantidade mínima de cada proteína 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 ($y = 0$); * Apenas machos.

to de ratos de laboratório, afirmaram que, conforme o crescimento do animal diminui, o requisito de nitrogênio para a manutenção muda de $5 \pm 1\%$, do total requerido para manutenção e crescimento, para aproximadamente 100%. Evidenciaram, ainda, a alteração no padrão de aminoácidos, refletindo aquele de manutenção.

Considerando o total de proteína das diferentes fontes utilizadas neste estudo (consumo x porcentagem de proteína – Tab. 4), observou-se necessidade cinco vezes maior de proteína de feijão e duas vezes maior de arroz para animais adultos em relação aos animais em crescimento¹².

Proteínas limitantes em lisina, como as do arroz, têm sido consideradas mais eficientes para a manutenção do que para promover o crescimento^{15,16}, sendo a deficiência de lisina bem tolerada por animais adultos^{17,20}. Said e Hegsted¹⁷ apresentaram resultados em que ratos fêmeas adultos, submetidos a dieta sem lisina, perderam apenas 14% de seu peso, enquanto, sob dieta sem metionina, perderam 28%.

Hartsook e Mitchell⁶ têm considerado altamente provável que a proporção de aminoácidos requeridos se altere com a maturidade do animal, visto que a necessidade de aminoácidos individuais depende do tipo e da quantidade de tecidos a serem sintetizados e mantidos. Salientaram ainda que, proporcionalmente ao total de proteína da dieta, há menor necessidade de lisina e maior de sulfurados, principalmente cisteína, com o envelhecimento.

Tais diferenças nos requisitos para manutenção e para crescimento podem ser parcialmente explicadas pela habilidade do organismo animal adulto em preservar lisina e outros aminoácidos em vários graus. Os mecanismos que permitem esta relativa conservação de aminoácidos fazem parte, presumivelmente, de respostas adaptativas ao baixo suprimento, modificando a velocidade de catabolismo ou mesmo de síntese protéica⁶.

Pelos resultados da Tab. 2, realmente se constata, para ratos adultos, respostas menos acentuadas na concentração de proteína hepática e proteína plasmática, que aquelas obtidas para ratos em crescimento, alimentados com as mesmas fontes protéicas¹².

Assim, as variações na concentração de albumina plasmática em função da quantidade de proteína na dieta (Tab. 2)

não foram significativas em animais adultos a não ser entre os grupos que consumiram arroz (arroz a 3% apresentou concentração de albumina significativamente menor que arroz a 5% ou 7%). Os animais destes grupos (arroz a 5% e 7%) também apresentaram os valores mais altos de albumina e, juntamente com os que receberam caseína a 3% e 5%, diferiram significativamente do grupo aprotéico. Os demais grupos não foram significativamente diferentes do grupo aprotéico ou do grupo controle (caseína a 28%), indicando que os níveis utilizados de proteína foram suficientes para manter a concentração plasmática de albumina e também de proteína total. Outros autores¹⁸, entretanto, encontraram redução no total de proteína e albumina plasmáticas de ratos sob dieta de 2,14% ou mais baixa, quando comparados aos controles. Também para a concentração hepática de proteína, as alterações em função da dieta foram pequenas. Apenas o grupo controle (caseína a 28%) apresentou uma concentração significativamente maior que os grupos submetidos a porcentagens de proteína inferiores a 6%.

Os resultados obtidos por Rozovski e Temkin¹⁴ demonstraram que peso, proteína, RNA e DNA do fígado de ratos alimentados com caseína a 5% não diferiram significativamente dos alimentados com 25% de caseína. Já o fígado de animais que consumiram caseína a 3,5% apresentou diminuição significativa no conteúdo protéico, o que está de acordo com o obtido para caseína a 5%; 3% e 1% neste trabalho.

As mudanças observadas nestas variáveis evidenciaram uma boa adaptação dos animais adultos aos baixos níveis de proteína utilizados, sugerindo menores desajustes nos mecanismos homeostáticos e nos processos metabólicos que os controlam, em relação a animais jovens.

Esses resultados e o de outros autores^{1,2,6,15} parecem, pois, confirmar que o padrão de necessidade de proteína e aminoácidos pode ser, para ratos adultos, diferente daquele para ratos jovens.

Para conclusões definitivas seriam necessários novos estudos, utilizando suprimento conhecido de aminoácidos e avaliando a utilização protéica através de medidas diretas de síntese e de degradação celular, associadas aos parâmetros indiretos (biológicos ou bioquímicos) utilizados neste trabalho.

SUMMARY

The effect of the quality and quantity of dietary protein on its utilization and on requirement by adult rats was studied by means of biological and biochemical parameters. Wistar adult rats were fed, "ad libitum", isocaloric diets containing various levels of casein (1%, 3%, 5%), rice (3%, 6%, 7%), bean (5%, 7%, 9%) and a rice and bean mixture (3%, 6%, 8%) throughout the 28 days period, and were compared to a casein control group (28%). The dietary protein levels to maintain body weight for adult rats were 4.1 g%; 9.7 g%; 7.3 g% and 4.5 g% for rice, bean, rice-bean mixture and casein, respectively. Biochemical parameters (plasma protein, albumin and liver protein) were not a sensitive indicator of protein intake. The magnitude of the changes observed shows a metabolic adaptation to protein restriction and possibility to overcome the poor protein quality by increasing the dietary protein quantity. The extent to which protein quality affects protein utilization depends on the stage of the animal physiological development.

UNITERMS: Proteins; Laboratory animals; Vegetable proteins.

REFERÊNCIAS

- 1- BENEVENGA, N. J.; GAHL, M. J.; CRENSHAW, T. D.; FINKE, M. D. Protein and amino acid requirements for maintenance and amino acid requirements for growth of laboratory rats. **Journal of Nutrition**, v. 124, n. 3, p. 451-453, 1994.
- 2- 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.
- 3- FISCHER, J. E.; CANOLTY, N. L. Influence of age on protein and energy utilization in adult rats. **Journal of Nutrition**, v. 113, n. 6, p. 1095-1103, 1983.
- 4- GOETTSCH, M. Minimum protein requirement of the adult rats for 28 days periods of maintenance of body weights. **Journal of Nutrition**, v. 45, n. 4, p. 609-619, 1951.
- 5- HAY, R. W.; WHITEHEAD, R. G. Serum Albumin as a prognostic indicator in edematous malnutrition. **Lancet**, v. 2, n. 7932, p. 427-429, 1975.
- 6- HARTSOOK, E. W.; MITCHELL, H. H. The effect of age on the protein and methionine requirements of the rat. **Journal of Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 173-195, 1956.
- 7- 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.
- 8- LOURENÇO, E. J. **Influência da proteína da dieta sobre o desenvolvimento de órgãos de ratos**. 1975. 99 f. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 9- 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.
- 10- MUNRO, H. N. Adaptation of mammalian protein metabolism to amino acid supply. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 28, n. 2, p. 214-225, 1969.
- 11- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. **Nutrient requirements of laboratory animals**. Washington, National Research Council, 1972. n. 10, 115 p.
- 12- OLIVEIRA, I. M. V.; DE ANGELIS, R. C. Requisitos protéicos mínimos de diferentes fontes vegetais, para ratos de laboratório em fase de crescimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, 2001, no prelo.
- 13- REEDS, P. J.; FULLER, M. F. Nutrient intake and protein turnover. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 42, n. 3, p. 463-471, 1983.
- 14- ROZOVSKI, S. J.; TEMKIN, M. E. Protein malnutrition in Aged Rats: An experimental model. **Journal of Nutrition**, v. 114, n. 7, p. 1199-1203, 1984.
- 15- SAID, A. K.; HEGSTED, D. M. Evaluation of dietary protein quality in adult rats. **Journal of Nutrition**, v. 99, n. 4, p. 474-480, 1969.
- 16- SAID, A. K.; HEGSTED, D. M. Response of adult rats to low dietary levels of essential amino acids. **Journal of Nutrition**, v. 100, n. 11, p. 1363-1376, 1970.
- 17- SAID, A. K.; HEGSTED, D. M.; HAYES, K. C. Response of adult rats to deficient essential amino acids. **British Journal of Nutrition**, v. 31, n. 1, p. 47-57, 1974.
- 18- SHEEHAN, P. M.; CLEVIDENCE, B. A.; REYNOLDS, L. K.; THYE, F. W.; RITCHEY, S. J. Carcass nitrogen as a predictor of protein requirement of mature female rats. **Journal of Nutrition**, v. 111, n. 7, p. 1224-1230, 1981.
- 19- SIDRANSKY, H. Nutritional disturbances of protein metabolism in the liver. **American Journal of Pathology**, v. 84, n. 3, p. 649-667, 1976.
- 20- SMITH, E. B.; JOHNSON, B. C. Studies of amino acid requirements of adult rats. **British Journal of Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 17-27, 1967.
- 21- STEEL, R. G.; TORRIE, J. H. **Principles of procedure of statistics**. A biometrical approach. 2.ed. Tokyo: M. Graw-Hill Kogakuska, 1980. 663 p.
- 22- WATERLOW, J. C.; STEPHEN, J. M. L. Adaptation of the rat to a low protein diet - the effect of a reduced protein intake on the pattern of incorporation of L¹⁴C lysine. **British Journal of Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 461-484, 1966.
- 23- 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; 630-95; 698-745.
- 24- WHITEHEAD, R. G.; COWARD, W. A.; LUNN, P. G. Serum-albumin concentration and the onset of kwashiorkor. **Lancet**, v. 1, n. 7794, p. 63-66, 1973.

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