

Desnutrição protéica fetal/neonatal, ação da insulina e homeostase glicêmica na vida adulta: efeitos do jejum e do exercício agudo

CDD. 20.ed. 574.13

Patricia Berbel Leme de ALMEIDA*
Maria Alice Rostom de MELLO*

* Universidade Estadual Paulista – Rio Claro.

Resumo

O presente estudo foi delineado para avaliar os efeitos imediatos e tardios da restrição protéica durante a vida fetal e neonatal sobre a ação periférica da insulina em ratos. Ratas grávidas da linhagem Wistar foram alimentadas, durante a gravidez e a lactação, com dietas isocalóricas hipoprotéica (6% de proteína) e normoprotéica (17% de proteína), servidas à vontade. As crias foram desmamadas aos 21 dias e os machos foram separados e alimentados com dieta contendo 17% de proteína até a idade adulta (90 dias). As avaliações ocorreram ao desmame (21 dias) e aos 90 dias. Ao desmame, os animais hipoprotéicos apresentaram peso corporal, teores séricos de glicose e de insulina, significativamente menores em relação aos normoprotéicos. Os valores de Kitt (taxa de remoção de glicose) foram significativamente superiores nos animais hipoprotéicos em relação aos normoprotéicos. A captação e oxidação de glicose pelo músculo sóleo isolado não foram diferentes entre os animais dos dois grupos. Na idade adulta, os teores séricos de glicose, insulina, proteínas, albumina e ácidos graxos livres, os lipídios do fígado em condições basais e os valores de Kitt foram semelhantes nos animais de ambos os grupos, assim como a captação e a oxidação muscular de glicose pelo músculo sóleo isolado. Por outro lado, quando submetidos aos estresses de jejum de 48 horas e de exercício agudo, os animais hipo/normoprotéicos reduziram a captação e oxidação de glicose, fato este não observado entre os normoprotéicos. Esses resultados sugerem que o metabolismo glicídico esteja restabelecido após a realimentação na ausência de fatores estressantes. Contudo, a incapacidade em responder adequadamente a diferentes estresses pode levar à intolerância à glicose.

UNITERMOS: Desnutrição protéica; Recuperação nutricional; Insulina; Glicose; Músculo esquelético.

Introdução

A desnutrição permanece predominante em muitos países em desenvolvimento, onde a incidência do diabetes mellitus tornou-se crescente nas últimas décadas. Historicamente, formas avançadas de diabetes mellitus (diabetes tipo J, tipo K) foram descritas em países tropicais. Porém, apenas nos países onde a desnutrição é comum, essa forma rara de diabetes é considerada. Diabetes não-insulino dependente, sem levar em consideração a obesidade, contribui com 20% dos casos de diabetes nesses países. Apesar da desnutrição provavelmente influenciar o diabetes mellitus, não está claro se existe uma ligação casual entre as duas condições permanentes (SIDIBE, SOW, NTYONGA-PONO & NDOUR-MBAYE, 1999). Estudos epidemiológicos

mostraram que cerca de 45% de crianças que pesavam menos que 2,5 kg ao nascimento e 8 kg com um ano de idade, foram acometidas por diabetes e doenças cardiovasculares aos 64 anos (DESAI, CROWTHER, OZANNE, LUCAS & HALES, 1995; HALES, BARKER, CLARK, COX, FALL, OSMOND & WINTER, 1991; PASSOS, RAMOS & MOURA, 2000). Dados recentes indicam, também, que crianças nascidas em áreas pobres, onde o baixo peso ao nascer é prevalente, apresentam níveis elevados de colesterol e glicose séricos associados a baixos teores circulantes de insulina e hipertensão (KING, FINCH, ZIMMET & ALPERS, 1990; MIE, LAW, ZHANG, OSMOND, STEIN & BARKER, 2000). Estas anormalidades não são aquisições da vida adulta

porque elas podem estar presentes precocemente, aos três anos de idade (DESAI et al., 1995).

Estas alterações metabólicas e cardiovasculares que levam a doenças crônicas como diabetes e hipertensão são iniciadas “in útero”. Eventos biológicos na mãe, como desnutrição, transmitiriam sinais para o meio intra-uterino, que afetaria a programação do crescimento e da diferenciação celulares e alteraria o funcionamento de sistemas enzimáticos (DAHARI, REUSENS, REMACLE & HOET, 1995; OZANNE & HALES, 1999).

Os efeitos da desnutrição materna sobre o metabolismo glicídico da prole ao longo da vida têm sido focalizados experimentalmente em ratas grávidas alimentadas durante a gestação com dietas hipoprotéicas/normocalóricas e suas crias (LATORRACA, CARNEIRO, BOSCHERO & MELLO, 1998a; PENNINGTON, PENNINGTON, ELLINGTON, CARVER, SHIBLEY JUNIOR, JEANSONNE, LYNCH, ROBERSON, MILES, WORMINGTON & MEANS, 2001).

Filhotes nascidos de mães alimentadas com dietas hipoprotéicas apresentam baixo peso corporal (MELLO, CURY, VALLE & OLIVEIRA, 1987; OZANNE & HALES, 1999; PENNINGTON et al., 2001) e são hipoglicêmicos e hipoinsulinêmicos (MELLO et al., 1987). Quando ilhotas pancreáticas isoladas de fetos deficientes em proteína são estimuladas “in vitro” com secretagogos como glicose, leucina e arginina, a resposta insulínica é baixa (DAHARI, SNOECK, REUSENS, REMACLE & HOET, 1991; SOLIMAN, ELZALABANY, SALAMA & ANSANI, 2000). Após o desmame, a prole de ratas que sofreram restrição protéica dietética durante a gestação e lactação mostram redução na secreção de insulina induzida por glicose “in vivo” (LATORRACA et al., 1999). Quando suas ilhotas são estimuladas “in vitro” com glicose, leucina ou arginina, a secreção de insulina mostra-se significativamente menor em comparação com ilhotas controles (LATORRACA et al., 1999). Tais anormalias não são totalmente revertidas pela alimentação com dieta normoprotéica do nascimento ou desmame em diante (DAHARI et al., 1995; LATORRACA, REIS, CARNEIRO, MELLO, VELLOSO, SAAD & BOSCHERO, 1998b).

O crescimento e a função dos sítios de ação da insulina (fígado, tecido adiposo e músculo) também são alterados pela desnutrição intra-uterina e pós-natal. A restrição protéica modifica permanentemente a atividade das enzimas hepáticas glicoquinase e fosfoenolpiruvato carboxiquinase, envolvidas no metabolismo da glicose. Essa modificação, que consiste na redução da atividade da

glicoquinase e no aumento da atividade da fosfoenolpiruvato carboxiquinase, indica aumento da síntese e comprometimento da utilização da glicose (LATORRACA et al., 1998a; SOLIMAN et al., 2000). A regulação hormonal da produção de glicose também acha-se alterada nesse modelo animal. Em ratos adultos recuperados de desnutrição intra-uterina e neonatal, a insulina é incapaz de inibir a produção de glicose hepática estimulada pelo glucagon e ao mesmo tempo, esses animais são resistentes à ação do primeiro hormônio. Os níveis de receptores de glucagon estão reduzidos enquanto que a concentração de receptores de insulina e de transportador de glicose 2 (GLUT 2) encontram-se aumentados na membrana dos hepatócitos de ratos recuperados de desnutrição (BADALOO, BOYNE, REID, PERSAUD, FORRESTER, MILLWARD & JACKSON, 1999; MANZANO, 2001).

A desnutrição intra-uterina, ainda, reduz o tamanho das fibras musculares e dos adipócitos. A quantidade de receptores de insulina presentes na membrana dos tecidos muscular e adiposo está aumentada e os níveis de transportador de glicose 4 (GLUT 4) nas membranas desses tecidos não estão modificados em animais recuperados de desnutrição intra-uterina e pós natal (REIS, CARNEIRO, MELLO, BOSCHERO, SAAD & VELLOSO, 1997; ZANQUETA, 2001). O músculo estriado esquelético apresenta hipersensibilidade à insulina associada ao aumento nas etapas iniciais da sinalização intracelular do hormônio (LATORRACA et al., 1999).

É necessário destacar que, embora atrativo, o conceito de “programação metabólica desordenada” durante o desenvolvimento, que conduziu à hipótese de que eventos muito precoces levariam a perturbações da homeostase glicêmica na vida adulta, também tem sofrido críticas. HOLNESS e SUDGEN (1996) não constataram comprometimento importante na secreção de insulina estimulada pela glicose nem na ação da insulina em ratas adultas recuperadas de desnutrição protéica sofrida na vida intra-uterina e na lactação quando submetidas à sobrecarga metabólica da gravidez.

As evidências encontradas na literatura mostram que as influências do estado nutricional nas fases fetal e neonatal sobre eventos envolvidos na homeostasia glicêmica ainda não são bem compreendidas. Portanto, o presente estudo foi delineado para avaliar os efeitos imediatos e tardios da restrição protéica durante a vida intra-uterina e a lactação sobre a ação periférica da insulina em ratos recém desmamados e adultos, submetidos à situação de

resistência à insulina (jejum) e de hipersensibilidade ao hormônio (exercício). Inicialmente, estudamos os efeitos da desnutrição protéica sobre a ação da insulina “in vivo” analisando-se a sensibilidade ao hormônio, através de teste de tolerância à insulina.

Materiais e métodos

Foram utilizadas ratas adultas (90 dias de idade) da linhagem Wistar, as quais foram acasaladas com machos da mesma idade e linhagem por uma noite. A gravidez foi confirmada através de exame do esfregaço vaginal para a presença de espermatozoides. As ratas grávidas foram separadas ao acaso e alimentadas, durante a gravidez e a lactação, com dietas isocalóricas contendo 6% (dieta hipoprotéica) ou 17% (dieta normoprotéica) de proteína, servidas à vontade. As crias foram desmamadas aos 21 dias e os machos foram separados e mantidos com dieta com 17% de proteína até a idade adulta (90 dias).

A composição da dieta normoprotéica foi a seguinte (g/kg): caseína 202 (84% proteína); amido de milho 397; dextrina 30,5; sacarose 100; óleo de soja 70; mistura de sais 35 (AIN-93); mistura vitamínica 10 (AIN-93); cistina 3 e 1 cloridrato de colina 2,5. A dieta hipoprotéica diferiu nas quantidades de (g/kg): caseína 71,5 (84% proteína); amido de milho 480; dextrina 159; sacarose 121 e cistina 1. As composições das misturas de sais e vitaminas acham-se descritas em REEVES, NIELSEN e FAHEY (1993).

Os animais foram pesados uma vez por semana. Ao desmame e na idade adulta, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à insulina. Quarenta e oito horas após o teste, os ratos foram sacrificados por decapitação e as seguintes determinações foram efetuadas: teores séricos de glicose, ácidos graxos livres (AGL) (NOGUEIRA, STRUFALDI, HIRATA, ABDALA & HIRATA, 1990) e insulina (HERBERT, LAN, GOTLIEB & BLEICHER, 1967); teores hepáticos de glicogênio (HASSID & ABRAHAM, 1957) e gordura (NOGUEIRA et al., 1990). No momento do sacrifício, também, foram retiradas tiras longitudinais do músculo sóleo para a avaliação da ação da insulina sobre captação e oxidação de glicose “in vitro”. Na idade adulta, os animais foram adaptados ao meio líquido durante cinco dias (sem sobrecarga), sendo que o teste de tolerância à insulina e as avaliações do metabolismo glicídico muscular foram efetuadas com os animais em três condições diferentes: controle (estado alimentado, em repouso), exercício

Em seguida, investigamos o impacto da restrição protéica sobre a ação da insulina no metabolismo glicídico avaliando “in vitro” a captação e oxidação da glicose, síntese de glicogênio e produção de lactato por músculo esquelético isolado.

agudo (estado alimentado, imediatamente após uma sessão de 30 minutos de natação suportando sobrecarga de 5% do peso corporal) e jejum (48 horas de jejum, em repouso). As demais avaliações na idade adulta e todas realizadas ao desmame foram feitas nos animais na condição controle.

Teste de tolerância à insulina (TTI)

O teste para determinação dos níveis basais de glicose foi feito por meio de corte na extremidade da cauda. Para obtenção dos outros pontos da curva do TTI, injetou-se insulina na dose de 30 mU/100 g de peso corpóreo, via subcutânea, em cada animal. Após 30, 60 e 90 minutos foi coletado sangue da mesma forma descrita para os valores basais. Foi calculada a constante para o desaparecimento da glicose sérica (Kitt) a partir da fórmula $0,693/t1/2$. A glicose sérica $t1/2$ foi calculada pela inclinação da reta obtida através da análise dos mínimos quadrados das concentrações séricas de glicose 0-60 min após a administração da insulina (quando a concentração sérica de glicose normalmente cai linearmente).

Metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado

Ao desmame [21 dias], parte das crias foi sacrificada e tiveram o músculo sóleo isolado e incubado na presença de insulina [100 μ U/ml] e glicose [5, 5 mM, contendo U14C glicose e [3H] 2-deoxiglicose (2DG) para determinação de: captação e oxidação de glicose (MELLO, SOUZA, BRAGA, SANTOS, RIBEIRO & GOBATO, 2001). A captação de glicose foi avaliada utilizando-se a [H³] 2DG como marcador, a quantificação desse processo foi efetuada medindo-se a radioatividade do 3H contida na fase alcalina, por meio de contador de partículas beta. Para a estimativa da glicose oxidada (produção de CO₂), foi determinada a radioatividade do 14C existente na hiamina, líquido presente em frascos especiais colocados no sistema de incubação (MELLO et al., 2001). Os animais restantes passaram a

receber dieta normo [N = 17%] protéica até a idade adulta [90 dias], para destacar possíveis alterações remanescentes, quando foram submetidos às mesmas avaliações. Como controles, foram utilizados ratos sempre alimentados com dieta N. Os resultados

foram expressos como média \pm desvio padrão. Os dados foram analisados através do teste "t" de student para dados não pareados ou análise de variância para duas entradas, onde apropriado. Em todos os casos o nível de significância foi pré-fixado em 5%.

Resultados

Os animais alimentados com dieta hipoprotéica, contendo 6% de proteína, apresentaram peso corporal ao nascimento ($4,83 \pm 0,80$ g), peso corporal ao desmame ($34,41 \pm 5,82$ g) e ganho de peso corporal do nascimento ao desmame ($30,87 \pm 6,39$ g) significativamente menores quando comparados aos animais alimentados com dieta normoprotéica, 17% de proteína (peso ao nascimento - $5,37 \pm 0,48$ g; peso ao desmame - $130,99 \pm 13,41$ g; ganho de peso do nascimento ao desmame - $125,35 \pm 14,49$ g).

Os animais hipoprotéicos apresentaram redução dos teores séricos de glicose ($90,35 \pm 12,06$ mg/dl), proteína total ($4,04 \pm 0,24$ g/dl), albumina ($2,69 \pm 0,53$ g/dl) e insulina ($8,73 \pm 1,77$ μ u/ml) em relação aos animais normoprotéicos (glicose $106,58 \pm 7,44$ mg/dl; proteína total $5,11 \pm 0,26$ g/dl; albumina $4,05 \pm 0,33$ g/dl e insulina $21,44 \pm 7,46$ μ u/ml).

Os valores de AGL ($269,46 \pm 134,32$ e $227,49 \pm 90,63$ μ Eq/l) e glicogênio hepático ($3,74 \pm 0,26$ e $3,68 \pm 0,64$ mg/100 mg) foram semelhantes entre os animais normo e hipoprotéicos, respectivamente. Quanto aos lipídios hepáticos, os animais do grupo hipoprotéico apresentaram aumento ($31,70$

$\pm 15,27$ mg/100 mg) em relação aqueles do grupo normoprotéicos ($19,17 \pm 4,28$ mg/100 mg).

Em todos os tempos do Teste de Tolerância à Insulina (TTI) os maiores valores séricos de glicose foram constatados nos animais normoprotéicos (dados não apresentados). Por outro lado, os animais hipoprotéicos apresentaram maiores valores de Kitt ($4,07 \pm 0,95$) que os normoprotéicos ($2,93 \pm 0,87$).

A captação e oxidação de glicose pelo músculo sóleo foram semelhantes nos animais hipo (captação - $2,06 \pm 0,52$ μ mol/gh; oxidação - $17,62 \pm 5,46$ μ mol/gh) e normoprotéicos (captação - $2,57 \pm 0,95$ μ mol/gh; oxidação - $12,79 \pm 5,68$ μ mol/gh) do presente estudo.

Na idade adulta, o peso corporal dos animais hipo/normoprotéicos permaneceu significativamente menor que o dos normoprotéicos (TABELA 1). Em relação ao ganho de peso do desmame à idade adulta, foram encontradas diferenças significantes entre os dois grupos, sendo que os animais que receberam inicialmente a dieta hipoprotéica e depois a dieta normoprotéica (hipo/normoprotéicos) tiveram um aumento inferior ao dos animais normoprotéicos.

Resultados expressos como média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo.

*Diferença significativa ($p < 0,05$, teste "t" para dados não pareados) em relação ao grupo normoprotéico.

TABELA 1 - Peso corporal na idade adulta (g) e ganho de peso corporal do desmame à idade adulta (g).

	Normoprotéico	Hipo/normoprotéico
Peso corporal na idade adulta	$430,08 \pm 40,04$	$304,66 \pm 30,85^*$
Ganho de peso corporal	$299,29 \pm 36,88$	$270,25 \pm 29,90^*$

Na TABELA 2, encontram-se os resultados relativos a teores séricos de glicose, proteína total, albumina, ácidos graxos livres (AGL) e insulina; aqueles referentes a teores hepáticos de glicogênio e lipídios totais dos animais na idade adulta, em três condições diferentes: controle (estado alimentado, em repouso), exercício (estado alimentado, imediatamente após uma sessão de 30 minutos de natação suportando sobrecarga de 5% do peso corporal) e jejum (48 horas de jejum, em repouso).

No estado alimentado, em repouso, não foram encontradas diferenças significantes entre os animais

normoprotéico e hipo/normoprotéico nos teores séricos de glicose, proteína total, albumina, AGL, insulina e lipídios hepáticos, somente os teores hepáticos de glicogênio foram significativamente maiores nos animais hipo/normoprotéicos quando comparados aos normoprotéicos (TABELA 2).

Comparando os animais em jejum com a situação controle, os teores séricos de glicose foram significativamente menores nos grupos normoprotéicos e hipo/normoprotéicos. Enquanto para a proteína total e albumina séricas foram semelhantes nos animais

normoprotéicos, mas significativamente menores nos animais hipo/normoprotéicos. Em ambos os grupos (normoprotéico e hipo/normoprotéico) os ácidos graxos livres foram significativamente maiores no estado jejum em relação ao controle. A insulina sérica e os teores hepáticos de glicogênio foram significativamente menores nos animais em jejum. Os lipídios hepáticos foram semelhantes em ambos os grupos em jejum e na situação controle (TABELA 2).

Os teores séricos de glicose foram significativamente maiores nos grupos normoprotéicos e hipo/normoprotéicos imediatamente após o exercício em relação ao estado controle, enquanto a proteína total e albumina séricas foram semelhantes em ambos os grupos. Os ácidos

graxos livres foram significativamente maiores após o exercício em relação ao estado controle em ambos os grupos, enquanto a insulina sérica foi significativamente menor nos animais normoprotéicos e hipo/normoprotéicos. Em relação aos teores hepáticos de glicogênio, não houve diferença significante nos animais normoprotéicos, porém, nos animais hipo/normoprotéicos foram encontrados valores significativamente menores após o exercício em relação ao estado controle. Os lipídios hepáticos encontraram-se reduzidos nos animais normoprotéicos imediatamente após o exercício, enquanto nos animais hipo/normoprotéicos os resultados foram semelhantes em relação ao estado controle (TABELA 2).

TABELA 2 - Teores séricos de glicose (mg/dl), proteína total (g/dl), albumina (g/dl), ácidos graxos livres (AGL em $\mu\text{Eq/l}$) e insulina ($\mu\text{u/ml}$); teores hepáticos de glicogênio (mg/100 mg) e lipídios (mg/100 mg) dos animais na idade adulta, em três diferentes condições.

	Normoprotéico			Normo/Hipoprotéico		
	Controle	Jejum	Exercício	Controle	Jejum	Exercício
Glicose sérica	101,82 \pm 19,92	66,49* \pm 16,07	160,26* \pm 18,77	109,09 \pm 24,49	72,47* \pm 18,22	154,03* \pm 38,88
Proteína sérica	5,95 \pm 1,39	5,15 \pm 1,34	6,81 \pm 0,49	6,32 \pm 0,36	5,31* \pm 0,74	6,33 \pm 0,62
Albumina sérica	3,23 \pm 0,76	2,52 \pm 1,03	3,01 \pm 0,54	3,40 \pm 1,14	2,24* \pm 0,31	2,87 \pm 0,31
AGL	214,29 \pm 63,89	442,86* \pm 81,65	330,00* \pm 92,20	194,29 \pm 44,26	452,86* \pm 106,70	355,71* \pm 86,90
Insulina sérica	18,69 \pm 4,83	11,68* \pm 2,82	11,88* \pm 3,18	18,37 \pm 3,68	12,82* \pm 4,46	13,92* \pm 3,60
Glicogênio Hepático	5,83 \pm 1,34	0,75* \pm 0,09	5,10 \pm 1,30	7,16** \pm 1,02	0,72* \pm 0,09	4,75* \pm 1,29
Lipídios Hepáticos	7,19 \pm 0,89	7,15 \pm 0,62	6,60* \pm 0,93	6,80 \pm 0,53	7,76 \pm 2,05	6,57 \pm 0,78

Resultados expressos como média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo.

* Controle é a situação onde o animal se encontra no estado alimentado em repouso.

* Diferença significativa ($p < 0,05$, teste "t" para dados não pareados) em relação ao respectivo grupo controle.

** Diferença significativa ($p < 0,05$, teste "t" não pareado) em relação ao grupo normoprotéico controle.

Os teores de glicose no soro dos animais e taxa de remoção da glicose (Kitt) durante Teste de Tolerância à Insulina (TTI) realizado na idade adulta, nas três condições: controle, exercício e jejum, acham-se na TABELA 3.

Na situação controle, foram encontradas diferenças significantes entre os animais normoprotéicos e hipo/normoprotéicos nos valores de glicose sérica antes de iniciar o teste (tempo 0) e aos 90 minutos do TTI, sendo os maiores valores verificados nos animais hipo/normoprotéicos. Na Kitt (taxa de remoção de glicose) não houve diferença significativa entre os dois grupos no estado alimentado, em repouso (TABELA 3).

Na situação jejum, em relação à controle, os teores séricos de glicose foram significativamente menores em

ambos os grupos nos tempos 0, 30, 60 e na Kitt, sendo que aos 90 minutos do TTI, somente no grupo hipo/normoprotéico essa diferença foi encontrada (TABELA 3).

Os teores séricos de glicose foram significativamente maiores nos grupos normoprotéicos e hipo/normoprotéicos imediatamente após o exercício em relação ao estado controle antes de iniciar o teste (tempo 0) e aos 30 minutos do TTI. Nos tempos 60 e 90, não foram encontradas diferenças significantes em ambos os grupos quando comparados às respectivas situações controles. A Kitt foi significativamente menor nos grupos normoprotéicos e hipo/normoprotéicos após o exercício em relação ao estado controle (TABELA 3).

Resultados expressos como média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo.

° Controle é a situação onde o animal se encontra no estado alimentado em repouso.

* Diferença significativa ($p < 0,05$, teste "t" para dados não pareados) em relação ao respectivo grupo controle.

** Diferença significativa ($p < 0,05$, teste "t" para dados não pareados) em relação ao grupo normoprotéico controle.

TABELA 3 - Teores de glicose (mg/dl) no soro dos animais e taxa de remoção da glicose (Kitt em % min) durante teste de tolerância à glicose na idade adulta, em três condições diferentes.

Tempo (min) após administração de insulina	Normoprotéico			Normo/Hipoprotéico		
	Controle°	Jejum	Exercício	Controle°	Jejum	Exercício
0	85,00 \pm 8,92	57,87* \pm 3,63	107,22* \pm 11,13	94,00** \pm 8,86	54,84* \pm 5,24	112,61* \pm 18,04
30	58,33 \pm 6,33	48,78* \pm 9,31	81,11* \pm 12,06	59,33 \pm 4,66	45,75* \pm 11,38	91,30* \pm 17,87
60	64,00 \pm 8,14	41,21* \pm 4,09	67,22 \pm 13,97	59,67 \pm 7,77	38,48* \pm 2,87	65,22 \pm 12,64
90	50,66 \pm 22,28	42,04 \pm 4,42	68,88 \pm 20,49	67,00** \pm 7,93	34,85* \pm 2,58	57,39 \pm 13,57
Kitt	1,258 \pm 0,268	0,765* \pm 0,247	0,946* \pm 0,314	1,494 \pm 0,347	0,849* \pm 0,473	0,712* \pm 0,437

Na TABELA 4 encontram-se a captação e oxidação de glicose pelo músculo sóleo dos animais na idade adulta, nas três condições: controle, exercício e jejum.

Na situação controle, não foram encontradas diferenças significantes entre os animais normoprotéico e hipoprotéico na captação e a oxidação de glicose pelo músculo sóleo (TABELA 4). Comparando os animais em jejum com os animais na situação controle, verificou-se que a captação e oxidação de glicose foi semelhante nos animais normoprotéicos e

significamente menor nos animais hipoprotéicos/normoprotéicos. A captação de glicose foi significamente maior nos animais normoprotéicos imediatamente após o exercício em relação ao estado controle, enquanto nos animais hipoprotéicos/normoprotéicos não foram encontradas diferenças significantes entre as duas situações. Não foram encontradas diferenças significantes entre as duas situações, imediatamente após o exercício e controle, na oxidação de glicose em ambos os grupos (TABELA 4).

Resultados expressos como média \pm desvio padrão de 10 animais por grupo.

° Controle é a situação onde o animal se encontra no estado alimentado em repouso.

* Diferença significativa ($p < 0,05$, teste "t" para dados não pareados) em relação ao respectivo grupo controle.

TABELA 4 - Teores de glicogênio (mg/100 mg), captação e oxidação de glicose (μ mol/gh), síntese de glicogênio (μ mol/gh) e produção de lactato (μ mol/gh) pelo músculo sóleo dos animais na idade adulta, em três condições diferentes.

	Normoprotéico			Normo/Hipoprotéico		
	Controle°	Jejum	Exercício	Controle°	Jejum	Exercício
Captação de glicose	3,95 \pm 0,57	3,61 \pm 0,72	4,61* \pm 0,29	4,63 \pm 1,02	3,88* \pm 0,42	4,60 \pm 0,59
Oxidação de glicose	17,88 \pm 5,05	20,93 \pm 11,29	22,21 \pm 7,70	22,31 \pm 4,70	17,38* \pm 5,00	19,62 \pm 6,11

Discussão

Os resultados referentes ao peso corporal ao nascimento, peso corporal ao desmame e ganho de peso corporal indicam que a alimentação das ratas, do período de gestação até o desmame, com a dieta de 6% de proteína foi eficaz em causar um quadro de desnutrição nos filhotes. TORUN e CHEW (1994), relatam que a diminuição do peso corporal é uma medida clínica utilizada para caracterizar a desnutrição protéico-energética, sendo este parâmetro significamente menor nos animais alimentados com dieta de baixo valor nutritivo em relação aos animais alimentados com dieta contendo valores e quantidades adequadas de nutrientes, principalmente proteína. Segundo LOPEZ-PEDROSA, TORRES,

FERNANDEZ, RIOS e GIL (1998), o peso corporal em porcos desnutridos foi 50% menor do que em porcos saudáveis.

A redução do ganho de peso na desnutrição tem sido relacionada a alterações funcionais e morfológicas, principalmente no pâncreas exócrino e epitélio entérico, que comprometem a digestão e absorção de nutrientes (TORUN & CHEW, 1994). Dessa forma, a ingestão inadequada de proteínas retarda o crescimento e pode levar o organismo a redução do aproveitamento alimentar (MANZANO, 2001; MARCONDES, 1976). Com a reduzida eficiência do alimento, o baixo peso corporal em animais submetidos à desnutrição protéica é um fenômeno

bastante relatado na literatura (GOBATTO & MELLO, 1991; LATORRACA et al., 1998b; PENNINGTON et al., 2001). Todas essas diferenças observadas entre os animais mantidos com dieta hipoprotéica e aqueles mantidos com dieta normoprotéica, provavelmente foram desencadeadas pela desigualdade no teor protéico da dieta, uma vez que as dietas tinham o mesmo conteúdo energético e estudos prévios utilizando as mesmas dietas aqui empregadas não mostraram redução da ingestão alimentar em animais hipoprotéicos (LATORRACA et al., 1998a).

A redução de peso corporal está, provavelmente, associada com os baixos níveis séricos de glicose nos filhotes das mães desnutridas quando comparados com os filhotes das mães eutróficas, uma vez que estudos anteriores apontaram inter-relação entre hipoglicemia e retardo no crescimento fetal (MELLO et al., 1987). Os resultados referentes à glicose sérica dos filhotes confirmam dados descritos anteriormente na literatura onde os valores de glicose encontrados em organismos desnutridos são geralmente menores do que os observados em eutróficos (GOBATTO, 1997; LATORRACA et al., 1998b; SHILS, OLSON & SHIKE, 1994).

A redução ponderal também pode estar relacionada ao suprimento reduzido de insulina da mãe, já que o conteúdo de insulina do pâncreas endócrino materno tem-se mostrado significativamente reduzido em ratas alimentadas com dieta hipoprotéica no período de gestação (DAHARI et al., 1995). A insulina exerce importante efeito no crescimento de órgãos e no metabolismo fetal, como avaliado pela hiperinsulinemia e macrosomia de filhotes de mães diabéticas (VAN ASSCHE & AERTS, 1979). No presente estudo, os valores de insulina sérica também foram inferiores nos filhotes hipoprotéicos quando comparados aos normoprotéicos, confirmando resultados de outros estudos encontrados na literatura (DAS, RAMESCH, AGARWAL, MISHRA & BHATT, 1998; SOLIMAN et al., 2000). A reduzida secreção de insulina pode resultar do decréscimo na síntese de insulina em animais desnutridos. A restrição protéica durante a gestação produz uma variedade de mudanças no pâncreas das crias, incluindo a redução no tamanho das ilhotas e uma diminuída proliferação de células b (LATORRACA et al., 1998b).

No presente estudo, os animais alimentados com dieta hipoprotéica apresentaram diminuição nos níveis de proteínas totais e albumina séricos quando comparados com os animais que receberam dieta normoprotéica, confirmando alguns resultados já descritos na literatura (COWARD & WHITEHEAD,

1972; LATORRACA et al., 1998b). Porém, há relatos que contradizem esses achados, nos quais foram verificadas concentrações semelhantes de proteínas totais e albumina séricas nos grupos experimental e controle (LOPEZ-PEDROSA et al., 1998; MELLO, 1985). Essas controvérsias podem estar relacionadas com o tempo de duração da desnutrição e da idade dos animais.

Os teores de AGL dos animais hipoprotéicos do presente estudo tenderam a ser menores do que os normoprotéicos. Isto confirma dados anteriores da literatura (LOPEZ-PEDROSA et al., 1998; NOGUEIRA, 2000; SOLIMAN et al., 2000). Muitos fatores podem contribuir para essa deficiência, como a deficiência na absorção e a inadequada utilização de lipídios, deficiência na síntese ou aumento da degradação oxidativa de ácidos graxos (FRANCO, HOTTA, JORGE & DOS SANTOS, 1999; HOUSSAINI, FOULON, IRAQI, PAYEN & GROSLAMBERT, 1999). Estudos experimentais com animais têm mostrado que a 6-desaturase, uma enzima chave na síntese de ácidos graxos essenciais, encontra-se inibida no jejum e na deficiência de insulina, proteína e zinco, condições freqüentemente observadas em crianças desnutridas (DE TOMAS, MERCURI & RODRIGO, 1980; GOLDEN & GOLDEN, 1981).

Com relação aos lipídios hepáticos, houve um aumento significativo nos animais hipoprotéicos em relação aos normoprotéicos, o que confirma os resultados encontrados na literatura (HEARD, FRANJI, WRIGHT & McCARTNEY, 1977; MELLO, 1985). Concentrações elevadas de lipídios no fígado na desnutrição protéica, podem ser provenientes da constante oferta de carboidratos pela dieta, sendo que a dieta utilizada no presente estudo possui característica hiperglicídica, em conseqüência da troca de parte das proteínas por carboidratos, a fim de que as dietas normo e hipoprotéica sejam isocalóricas.

Outra hipótese seria o transporte deficiente de lipídios para fora do fígado. Ocorreriam defeitos na liberação de triglicérides hepáticos, conseqüentes à redução de proteínas transportadoras, cuja síntese seria sensível à restrição protéica da dieta. O transporte de lipídios a partir do fígado seria prejudicado, o que explicaria o acúmulo de lipídios hepáticos com a ingestão de dieta deficiente em proteínas (COWARD & WHITEHEAD, 1972; KUMAR, DEO & RAMALINGASWANI, 1972). Além disso, LEWIS, HANSEN, WITTMAN, SRUT e STEWART (1964) sugeriram que o acúmulo de lipídios hepáticos na desnutrição protéica poderia ser devido ao aumento no influxo de AGL, resultando na síntese aumentada de triglicérides hepáticos.

A captação e oxidação de glicose pelo músculo sóleo foram semelhantes nos animais hipo e normoprotéicos do presente estudo, o que confirma os resultados encontrados anteriormente na literatura (GOBATO, 1997). Porém, há estudos que mostraram maior captação de glicose pelo músculo sóleo isolado de animais desnutridos em relação aos controles (CRACE, SWENNE, KHON, STRAIN & MILNER, 1990; OZANNE & HALES, 1999).

Resultados que merecem destaque especial são aqueles referentes à glicose e à insulina séricas. Tomados em conjunto, esses resultados apontam um paradoxo metabólico já descrito anteriormente na desnutrição, ou seja, baixa glicemia em presença de baixa insulinemia (GOBATO, 1997; OKITOLONDA, BRICHARD & HENQUIN, 1987). Algumas hipóteses podem ser aventadas para explicar esse fenômeno. Uma delas seria a menor absorção intestinal de carboidratos na desnutrição; outra possibilidade seria a maior captação de glicose pelo tecido muscular em função de maior sensibilidade à insulina. Também poderia ocorrer aumento da utilização de carboidratos pelo fígado. A primeira hipótese parece não ser a mais adequada para explicar esse fenômeno, pois VILLANI (2001) observou semelhança na absorção intestinal de glicose entre grupos de ratos desnutridos e controle. A segunda hipótese não foi confirmada no presente estudo, pois não houve diferença significativa entre os valores de captação de glicose pelo músculo sóleo. Apesar disso, a ausência de intolerância à glicose a despeito de níveis diminuídos de insulina em animais com deficiência protéica tem sido atribuída a alta sensibilidade periférica à insulina (CRACE et al., 1990; REIS et al., 1997; SOLIMAN et al., 2000).

No presente estudo, aumento da captação periférica da glicose não pode ser totalmente descartado como fator atuante na manutenção da homeostase glicêmica mesmo em condições de hipoinsulinismo, uma vez que os animais hipoprotéicos mostraram maior taxa de remoção da glicose sérica em resposta à insulina exógena (Kitt) do que os normoprotéicos, confirmando resultados já descritos anteriormente (LATORRACA et al., 1998b).

Considerando a terceira hipótese (aumento da utilização de carboidratos pelo fígado), os resultados do presente estudo quanto aos teores hepáticos de glicogênio, que se mostraram semelhantes nos dois grupos, oferecem pouca informação. Contudo, a hipótese parece aceitável, uma vez que se demonstrou, em camundongos, que a supressão dos receptores de insulina (GLUT-4) no fígado implica

em efeito mais pronunciado na ação da insulina (i.e. resistência severa à insulina) do que a supressão dos mesmos receptores no músculo esquelético (BADALOO et al., 1999). Dessa forma, pelo menos em roedores, o fígado parece ter papel mais importante na depuração de glicose do que o músculo.

Uma outra possibilidade que não foi aqui explorada é a captação e a utilização da glicose pelo tecido adiposo. Maior utilização do substrato por esse tecido poderia concorrer para evitar a elevação da glicemia. Essa hipótese parece bastante plausível. Recentemente foi demonstrado aumento na quantidade do transportador de glicose GLUT-4 no tecido adiposo periepídídimal de ratos recém desmamados submetidos à restrição protéico-calórica (ZANQUETTA, 2001). Além disso, no mesmo trabalho, demonstrou-se aumento da translocação do referido transportador para a membrana plasmática em resposta à insulina.

Segundo TORUN e CHEW (1994), o ganho de peso corpóreo é um dos critérios mais práticos utilizados para verificar se houve recuperação nutricional após período de exposição à dieta com baixo teor protéico. Quanto à eficiência e à velocidade de recuperação nutricional, foi verificado que no homem, assim como nos animais, os efeitos tardios da desnutrição são mais graves quanto mais precocemente a mesma se instale (WATERLOW & ALLEYNE, 1974).

No presente estudo, o peso corporal dos animais hipo/normoprotéicos na idade adulta e o ganho de peso do desmame à idade adulta foi significativamente menor que o dos normoprotéicos. Esses resultados confirmam os encontrados por LATORRACA et al. (1998b), onde o ganho de peso corporal dos animais alimentados com uma dieta hipoprotéica durante a gestação e lactação e recuperados após o desmame foi significativamente menor em comparação com os animais normoprotéicos. Nesse sentido, o fato de o grupo hipo/normoprotéico (desnutrido e posteriormente recuperado) mostrar ganho de peso do desmame à idade adulta inferior ao dos animais normoprotéicos, é indicativo de que a recuperação nutricional foi parcial.

Os teores séricos de glicose, proteína total, albumina, ácidos graxos livres (AGL) e insulina, bem como os teores hepáticos de glicogênio e lipídios totais dos animais na idade adulta, foram analisados nas três condições: controle, exercício e jejum.

Na situação controle, os teores séricos de glicose, proteína total, albumina, AGL e insulina foram restabelecidos, pois não houve diferença significativa entre os animais normoprotéicos e os hipo/normoprotéicos. Isto confirma estudos anteriores

(GOBATTO, 1997; LATORRACA et al., 1998b; MOREIRA, 2000), onde os teores séricos de glicose, proteína total, albumina, ácidos graxos livres (AGL) e insulina foram semelhantes entre animais desnutridos e posteriormente recuperados e animais eutróficos, e sugere a eficácia do protocolo de dieta em promover a restauração dessas variáveis bioquímicas, ao menos na ausência de estresse. Para averiguar se a homeostase do meio interno seria preservada nos animais previamente desnutridos na vigência de estresse, os mesmos foram submetidos ao jejum e ao exercício agudo.

Comparando os animais em jejum com a situação controle, os teores séricos de glicose foram significativamente menores nos grupos normoprotéico e hipo/normoprotéico. Os teores séricos de glicose foram significativamente maiores nos grupos normoprotéico e hipo/normoprotéico imediatamente após o exercício em relação ao estado controle. Isso mostra que os dois grupos responderam da mesma maneira em situações diferentes: jejum e exercício, dando indícios de recuperação nutricional por parte dos hipo/normoprotéicos. GOBATTO (1997) encontrou resultados semelhantes nos valores de glicose sérica entre animais controles sedentários e treinados, e recuperados sedentários e treinados, mostrando assim que o estado nutricional e o treinamento físico não alteraram os níveis séricos de glicose.

Em ambos os grupos, os ácidos graxos livres foram significativamente maiores no estado jejum e após o exercício agudo em relação ao controle. GOBATTO (1997) não encontrou diferença significativa entre os animais treinados e sedentários, independente do estado nutricional (normoprotéicos e recuperados) nas concentrações de ácidos graxos livres.

A insulina sérica foi significativamente menor nos animais de ambos os grupos, em jejum e após uma sessão de exercício em comparação com a situação controle, conforme esperado. Em conjunto, esses resultados referentes à glicose e insulina séricas, sugerem que o protocolo de dieta empregado foi eficiente em restaurar a capacidade bioquímica dos animais inicialmente desnutridos em responder adequadamente ao estresse do jejum e do exercício agudo em relação a esses parâmetros.

Em relação às proteínas totais e albumina séricas no jejum, foram encontrados valores semelhantes ao estado controle nos animais normoprotéicos, mas significativamente menores nos animais hipo/normoprotéicos. Isso indica que o comprometimento do metabolismo protéico desencadeado pela

desnutrição protéica precoce permanece mesmo após a realimentação por período prolongado com dieta contendo teor adequado de proteína. Quando submetidos ao estresse do jejum, as alterações remanescentes são destacadas. Por outro lado, a proteína total e albumina séricas foram semelhantes em ambos os grupos (normoprotéicos e hipo/normoprotéicos) após o exercício e na situação controle, confirmando resultados anteriores (GOBATTO, 1997; MOREIRA, 2000), onde animais treinados e sedentários, independente do estado nutricional (controle ou recuperado), apresentaram teores séricos de proteína e albumina semelhantes.

Em resumo, a análise dos resultados referente à proteínas totais e albumina séricas sugerem que a manutenção da homeostase nos indivíduos recuperados de desnutrição é frágil. Em vigência de estresse, o equilíbrio é quebrado, podendo aparecer anomalias.

Na idade adulta, em situação controle, os teores hepáticos de glicogênio foram significativamente maiores nos animais hipo/normoprotéicos quando comparados aos normoprotéicos, enquanto ao desmame os teores hepáticos de glicogênio achavam-se semelhantes entre os dois grupos. Dessa forma, pode-se observar uma manifestação tardia da desnutrição dos animais em relação a esse parâmetro. MOREIRA (2000) não encontrou diferença significativa nas concentrações hepáticas de glicogênio entre animais controles e recuperados. Porém, GOBATTO (1997) encontrou resultados diferentes dos demais estudos, onde animais desnutridos apresentaram valores hepáticos de glicogênio elevados em comparação ao grupo controle e, na fase de recuperação, esses animais apresentaram menores teores hepáticos de glicogênio. Essas diferenças entre os resultados do presente estudo e aqueles dos estudos de MOREIRA (2000) e GOBATTO (1997) podem ser devidas ao fato de que o presente estudo analisou a desnutrição fetal e neonatal, enquanto que os demais analisaram desnutrição apenas pós-natal.

Quando submetidos ao jejum, os animais de ambos os grupos (normoprotéicos e hipo/normoprotéicos) apresentaram teores hepáticos de glicogênio significativamente menores em relação à situação controle. Em relação aos teores hepáticos de glicogênio após o exercício agudo e na situação controle, não houve diferença significativa nos animais normoprotéicos. Por outro lado, nos animais hipo/normoprotéicos foram encontrados valores significativamente menores após o exercício em relação ao estado controle. Isto sugere que os animais

normoprotéicos não precisaram dos estoques de glicogênio hepático durante o exercício de natação, ao passo que os hipo/normoprotéicos utilizaram esse substrato como fonte energética durante esse exercício. Mais uma vez aqui parece haver ruptura da homeostase quando os animais recuperados da desnutrição são submetidos ao estresse.

Na situação controle, os lipídios hepáticos foram restabelecidos com a recuperação nutricional, pois não houve diferença significativa entre os animais normoprotéicos e os hipo/normoprotéicos, enquanto que ao desmame esses valores estavam significativamente maiores nos animais hipoprotéicos. Em jejum, os teores de lipídios hepáticos foram semelhantes em ambos os grupos em relação à situação controle. Porém, esses valores encontraram-se significativamente reduzidos nos animais normoprotéicos imediatamente após o exercício, ao passo que nos animais hipo/normoprotéicos os resultados foram semelhantes em relação ao estado controle. Isto pode ser reflexo remanescente de defeitos na liberação de triglicérides hepáticos conseqüentes à redução de proteínas transportadoras ocasionada pela desnutrição (KUMAR, DEO & RAMALINGASWAMI, 1972).

Os teores de glicose no soro dos animais e taxa de remoção da glicose (Kitt) durante Teste de Tolerância à Insulina (TTI) também foi realizado na idade adulta, nas três condições: controle, exercício e jejum.

Na situação controle, foram encontradas diferenças significantes entre os animais normoprotéicos e hipo/normoprotéicos nos valores de glicose sérica antes de iniciar o teste (tempo 0) e aos 90 minutos do TTI, sendo os maiores valores observados nos animais hipo/normoprotéicos. MOREIRA (2000) encontrou maiores valores de glicose sérica em animais recuperados nos tempos 30, 60 e 180 minutos do TTI, em relação aos animais controles. Em conjunto, os resultados do presente estudo e aqueles relatados por MOREIRA (2000) parecem corroborar com a hipótese de que eventos precoces na vida do animal podem determinar alterações duradouras na homeostase glicêmica e na resposta à insulina. Na situação jejum, em relação à controle, os teores séricos de glicose foram significativamente menores em ambos os grupos nos tempos 0, 30 e 60, sendo que aos 90 minutos do TTI, somente no grupo hipo/normoprotéico essa diferença foi encontrada.

Os teores séricos de glicose foram significativamente maiores nos grupos normoprotéicos e hipo/normoprotéicos imediatamente após o exercício em relação ao estado controle antes de iniciar o teste

(tempo 0) e aos 30 minutos do TTI. Nos tempos 60 e 90, não foram encontradas diferenças significantes em ambos os grupos quando comparados às respectivas situações controles.

Na Kitt (taxa de remoção de glicose) não houve diferença significativa entre os dois grupos na situação controle, confirmando resultados encontrados na literatura (MOREIRA, 2000). Porém, esses resultados diferem dos encontrados por LATORRACA et al. (1998b), onde os animais recuperados apresentaram maior taxa de desaparecimento da glicose sérica (Kitt) após injeção intravenosa de insulina em relação ao estado controle. A Kitt foi significativamente menor nos grupos normoprotéicos e hipo/normoprotéicos tanto no jejum, quanto após o exercício, em relação à situação controle.

Na idade adulta, a captação e oxidação de glicose pelo músculo sóleo dos animais também foram analisados nas três condições: controle, exercício e jejum.

Na situação controle, não foram constatadas diferenças significantes entre os dois grupos na captação de glicose. Contrariamente, GOBARTO (1997) encontrou maior captação de glicose pelo músculo sóleo nos animais controles em relação aos recuperados na condição de repouso. Em jejum, a captação de glicose foi semelhante nos animais normoprotéicos e significativamente menor nos animais hipo/normoprotéicos. Em relação ao exercício agudo, os animais normoprotéicos apresentaram maiores valores de captação de glicose comparados à situação controle, enquanto os animais hipo/normoprotéicos apresentaram valores semelhantes.

Quanto à oxidação de glicose, não foram constatadas diferenças significantes entre os dois grupos na situação controle. Em jejum, a oxidação de glicose foi semelhante nos animais normoprotéicos e significativamente menor nos animais hipo/normoprotéicos quando comparados à situação controle. Esses resultados mostram que eventos nutricionais precoces estariam "programando" alterações duradouras no metabolismo glicídico que são postas em evidência em condições de estresse. Por outro lado, não foram encontradas diferenças significantes entre o exercício agudo e a situação controle nos animais de ambos os grupos.

Tomados em conjunto, os resultados do presente estudo indicam que a restrição protéica fetal/neonatal leva a adaptações que capacitam o organismo a manter a homeostase glicêmica na ausência de estresse. Contudo, a incapacidade em responder adequadamente a diferentes estresses pode romper o equilíbrio e levar à intolerância à glicose posteriormente na vida.

Conclusões

A partir dos resultados apresentados ao desmame podemos concluir que:

- 1) A diminuição do ganho de peso, dos níveis séricos de glicose, proteína, albumina, insulina, e o concomitante aumento das concentrações de lipídios hepáticos observados em filhotes de ratas alimentadas com dieta hipoprotéica durante a gestação e lactação, indicam que a dieta com baixo teor protéico foi eficiente para produzir quadro de desnutrição protéica;
- 2) Os animais hipoprotéicos não apresentaram hiperglicemia a despeito das baixas concentrações de insulina sérica. Isso pode ser atribuído, pelo menos em parte, ao aumento na taxa de remoção da glicose sérica em resposta à insulina.
- 3) O aumento da resposta à insulina deve acontecer em tecidos diferentes do muscular, pois não foi verificado aumento da captação de glicose pelo músculo esquelético.

De acordo com os resultados apresentados na idade adulta, podemos concluir que:

- 1) Os níveis séricos de glicose, insulina e ácidos graxos livres observados nos animais hipo/normoprotéicos na idade adulta sugerem que o protocolo de dieta empregado foi eficiente para restaurar, pelo menos parcialmente, a homeostase do meio interno. Porém, a análise dos resultados referentes à proteínas totais e albumina séricas, glicogênio e lipídios hepáticos, sugerem que a manutenção da homeostase nos animais

recuperados de desnutrição é frágil, pois em vigência do estresse do jejum e do exercício o equilíbrio é quebrado.

- 2) Na ausência de estresse, os animais hipo/normoprotéicos e normoprotéicos apresentaram captação e oxidação de glicose, síntese e teor de glicogênio no músculo esquelético semelhantes, por outro lado, quando submetidos ao jejum ou exercício agudo os animais hipo/normoprotéicos aparentam dificuldade em mobilizar o glicogênio muscular e oxidar a glicose disponível, reforçando a hipótese de fragilidade nos mecanismos homeostáticos desses animais.
- 3) Os animais hipo/normoprotéicos apresentaram valores glicêmicos superiores aos dos normoprotéicos no Teste de Tolerância à Insulina (TTI), mesmo na ausência de estresse, sugerindo menor captação de glicose periférica em resposta à insulina. Isso pode ser devido ao aumento da resistência periférica à insulina, levando esses animais a uma situação que pode predispor ao diabetes mellitus.
- 4) Tomados em conjunto, os resultados do presente estudo indicam que a restrição protéica fetal/neonatal levam a adaptações que capacitam o organismo a manter a homeostase glicêmica na ausência de estresses. Contudo, a incapacidade em responder adequadamente a diferentes estresses pode romper o equilíbrio e levar à intolerância à glicose posteriormente na vida.

Abstract

Fetal/neonatal protein restriction, insulin action and glucose homeostasis in adult life: effects on fasting and acute exercise

The present study was designed to test the hypothesis that poor fetal-neonatal nutrition predisposes adult animals to glucose homeostasis perturbations or diabetes. Pregnant and lactating rats were fed with an isocaloric low (6%) protein diet or a normal (17%) protein diet. The male offspring were tested at weaning (21 days) and in the adult age (90 days). From weaning on all animals were fed with the normal protein diet. At weaning the offspring born to low protein-fed dams had lower body weight, serum glucose and insulin, but higher Kitt than normal protein rats. The serum insulin-stimulated glucose uptake and oxidation by soleous muscle were not different from normal protein. At the adult age, despite of the lower weight, the offspring born to low protein-fed dams showed serum glucose, serum insulin and Kitt similar to the normal protein offspring. Soleous muscle glucose uptake and oxidation differed from normal protein rats. On the other hand, when submitted to 48 hours fast and acute exercise the protein restricted offspring showed reduced muscle glucose uptake and oxidation. These results indicate that poor fetal neonatal nutrition leads to adaptations which enable the maintenance of

glucose homeostasis in some circumstances. However, an inability to respond to different stresses may tip the balance towards glucose intolerance later in life.

UNITERMS: Protein malnutrition; Nutritional recuperation; Insulin; Glucose; Muscle.

Referências

- BADALOO, A.; BOYNE, M.; REID, M.; PERSAUD, C.; FORRESTER, T.; MILLWARD, J.; JACKSON, A.A. Dietary protein, growth and urea kinetics in severely malnourished children and during recovery. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.129, p.969-79, 1999.
- COWARD, W.A.; WHITEHEAD, R.G. Changes in serum b-lipoprotein concentration during the development of kwashiorkor and in recovery. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v.27, p.383-9, 1972.
- CRACE, C.J.; SWENNE, I.; KHON, P.G.; STRAIN, J.; MILNER, R.D.G. Protein energy malnutrition induces changes in insulin sensitivity. *Diabetes Metabolism*, New York, v.16, p.484-91, 1990.
- DAHARI, S.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J.J. Nutritional influences on pancreatic development and potential links with non-insulin dependent diabetes. *Proceedings of the Nutrition Society*, Cambridge, v.54, p.345-56, 1995.
- DAHARI, S.; SNOECK, A.; REUSENS, B.; REMACLE, C.; HOET, J.J. Islet function in offspring of mothers on low-protein diet during gestation. *Diabetes*, New York, v.40, n.2, p.115-20, 1991.
- DAS, B.K.; RAMESCH, J.; AGARWAL, J.K.; MISHRA, O.P.; BHATT, R.P. Blood sugar and serum insulin response in protein-energy malnutrition. *Journal of Tropical Pediatrics*, London, v.44, p.139-41, 1998.
- DESAI, M.; CROWTHER, N.J.; OZANNE, S.E.; LUCAS, A.; HALES, C.N. Adult glucose and lipid-metabolism may be programmed fetal life. *Biochemical Society Transactions*, London, v.23, p. 331-5, 1995.
- De TOMAS, M.E.; MERCURI, D.; RODRIGO, A. Effects of dietary protein and essential fatty acid deficiency on liver A5, A6 e A9 desaturase activities in the early developing rat. *Journal of Nutritional*, Philadelphia, v.110, p.599, 1980.
- FRANCO, V.H.M.; HOTTA, J.K.S.; JORGE, S.M.; DOS SANTOS, J.E. Plasma fatty acids in children with grade III protein-energy malnutrition in its different clinical forms: marasmus, marasmic kwashiorkor and kwashiorkor. *Journal of Tropical Pediatrics*, London, v. 45, p. 71-5, 1999.
- GOBATTO, C.A. *Metabolismo glicídico em músculo sóleo isolado de ratos desnutridos e recuperados: efeito dos ácidos graxos livres e do treinamento físico*. 1997. Tese (Doutorado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R. Desnutrição, recuperação e treinamento físico: um modelo experimental utilizando ratos jovens. Resultados preliminares. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADE DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 1991. *Anais...* [S.l.: s.n.], 1991. p.255.
- GOLDEN, M.H.N.; GOLDEN, B.E. Effect of zinc supplementation on the dietary intake, rate of weight gain, and energy cost of tissue deposition in children recovering from severe malnutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, New York, v.34, p. 900-8, 1981.
- HALES, C.N.; BARKER, D.J.P.; CLARK, P.M.S.; COX, L.J.; FALL, C.; OSMOND, C.; WINTER, P.D. Fetal and infant growth and impaired glucose-tolerance at age 64. *British Medical Journal*, Edinburgh, v.303, n. 6809, p.1019-22, 1991.
- HASSID, W.Z.; ABRAHAM, S. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. *Methods in Enzymology*, New York, v.3, p.34-50, 1957.
- HEARD, C.R.C.; FRANJL, S.M.; WRIGHT, P.M.; McCARTNEY, P.R. Biochemical characteristics of different forms of protein-energy malnutrition. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v.37, p.1-21, 1977.
- HERBERT, V.; LAN, K.S.; GOTLIEB, C.W.; BLEICHER, S.J. Coated charcoal immunoassay of insulin. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Baltimore, v.25, p.1375-84, 1967.
- HOLNESS, M.J.; SUGDEN, M.C. Suboptimal protein nutrition in early life later influences insulin action in pregnant rats. *Diabetologia*, New York, v.39, n.1, p.12-21, 1996.
- HOUSSAINI, F.Z.S.; FOULON, T.; IRAQI, M.R.; PAYEN, N.; GROSLAMBERT, P. Lipids, lipoproteins and fatty acids during infantile marasmus in the Fes area of Morocco. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Paris, v.53, p.278-83, 1999.
- KING, H.; FINCH, C.; ZIMMET, P.; ALPERS, M. Plasma-glucose and insulin responses in young papua new guineans (aged 10-19 years). *Diabetes Research and Clinical Practice*, Amsterdam, v.10, n.2, p.153-9, 1990.

- KUMAR, V.; DEO, M.G.; RAMALINGASWAMI, V. Mechanism of fatty liver in protein deficiency: an experimental study in the rhesus monkey. *Gastroenterology*, New York, v.62, p.445-51, 1972.
- LATORRACA, M.Q.; CARNEIRO, E.M.; BOSCHERO, A.C.; MELLO, M.A.R. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v.80, n.3, p.291-7, 1998a.
- LATORRACA, M.Q.; CARNEIRO, E.M.; MELLO, M.A.R.; BOSCHERO, A.C. Reduced insulin secretion in response to nutrients in islets from malnourished young rats is associated with a diminished calcium uptake. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.10, p.37-43, 1999.
- LATORRACA, M.Q.; REIS, M.A.B.; CARNEIRO, E.M.; MELLO, M.A.R.; VELLOSO, L.A.; SAAD, M.J.A.; BOSCHERO, A.C. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.128, n.10, p.1643-9, 1998b.
- LEWIS, B.; HANSEN, J.D.L.; WITTMAN, W.; KRUT, L.H.; STEWART, F. Plasma free fatty acids in kwashiorkor and the pathogenesis of the fatty liver. *American Journal of Clinical Nutrition*, New York, v.15, p.161-8, 1964.
- LOPEZ-PEDROSA, J.M.; TORRES, M.I.; FERNANDEZ, M.I.; RIOS, A.; GIL, A. Severe malnutrition alters lipid composition and fatty acid profile of small intestine in Newborn Piglets. *The Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.128, n.2, p.224-33, 1998.
- MANZANO, A.M.C. Hipoalbuminemia en diálisis: es marcador de desnutrición o de inflamación? *La Revista de Investigación Clínica*, Mexico, v.53, n.2, p.152-8, 2001.
- MARCONDES, E. *Desnutrição*. São Paulo: Savier, 1976.
- MELLO, M.A.R. *Desnutrição proteico-calórica, gravidez e desenvolvimento materno: estudo comparativo de alterações corporais e metabólicas entre ratas jovens e adultas*. 1985. 125 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MELLO, M.A.R.; CURY, L.; VALLE, L.B.S.; OLIVEIRA, R.M. Protein-calorie malnutrition in the young pregnant rat factors involved in fetal growth impairment. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, Ribeirão Preto, v.20, n.5, p.575-7, 1987.
- MELLO, M.A.R.; SOUZA, C.T.; BRAGA, L.R.; SANTOS, S.W.; RIBEIRO, Z.A.; GOBATTO, C.A. Glucose tolerance and insulin action in monosodium glutamate (MSG) obese trained rats. *Physiological Chemistry and Physics Medical NMR*, New York, v.33, p.63-71, 2001.
- MIE, J.; LAW, C.; ZHANG, K.; OSMOND, C.; STEIN, C.; BARKER, D. Effects of infant birthweight and maternal body mass index in pregnancy on components of the insulin resistance syndrome in China. *Annals of Internal Medicine*, Philadelphia, v.132, n.4, p.253-60, 2000.
- MOREIRA, V.M. *Função endócrina do pâncreas de ratos frente ao treinamento físico durante recuperação de desnutrição protéica*. 2000. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- NOGUEIRA, D.M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M.A.; ABDALA, D.S.P.; HIRATA, R.D.C. Sangue: parte I. In: NOGUEIRA, D.M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M.A.; ABDALA, D.S.P.; HIRATA, R.D.C. (Eds.) *Métodos de bioquímica clínica*. São Paulo: Pancast, 1990.
- NOGUEIRA, S.C.B. *Desnutrição protéica e treinamento físico: efeitos sobre a ação periférica da insulina*. 2000. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.
- OKITOLONDA, W.; BRICHARD, S.M.; HENQUIN, J.C. Repercussions of chronic protein-calorie malnutrition on glucose homeostasis in the rat. *Diabetologia*, New York, v.30, p.946-51, 1987.
- OZANNE, S.E.; HALES, C.N. The long-term consequences of intra-uterine protein malnutrition for glucose metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society*, Cambridge, v.58, p.615-9, 1999.
- PASSOS, M.C.F.; RAMOS, C.F.; MOURA, E.G. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. *Nutrition Research*, Tarrytown, v.20, n.11, p.1603-12, 2000.
- PENNINGTON, S.N.; PENNINGTON, J.S.; ELLINGTON, L.D.; CARVER, F.M.; SHIBLEY JUNIOR, J.A.; JEANSONNE, N.; LYNCH, S.A.; ROBERSON, L.A.; MILES, D.S.; WORMINGTON, E.P.; MEANS, L.W. The effect of maternal malnutrition during pregnancy in the rat on the offspring's weight, glucose uptake, glucose transporter protein levels and behaviors. *Nutrition Research*, Tarrytown, v.21, p.755-69, 2001.
- REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 purified diets for Laboratory rodents: final reports of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.123, n.11, p.1939-51, 1993.
- REIS, M.A.B.; CARNEIRO, E.M.; MELLO, M.A.R.; BOSCHERO, A.C.; SAAD, M.J.; VELLOSO, L.A. Glucose induced insulin secretion is impaired and insulin phosphorylation of the insulin receptor and insulin receptor substrate-I are increased in protein - deficient rats. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.127, p.403-10, 1997.

- SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M. Modern nutrition in health and disease. 8th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. v.1.
- SIDIBE, E.H.; SOW, A.M.; NTYONGA-PONO, M.P.; NDOUR-MBAYE, N.M. Role of malnutrition in diabetes mellitus. *Semaine des hopitaux, Paris*, v.75, p.467-74, 1999.
- SOLIMAN, A.T.; ELZALABANY, M.M.; SALAMA, M.; ANSARI, B.M. Serum leptin concentrations during severe protein-energy malnutrition: correlation with growth parameters and endocrine function. *Metabolism Clinical and Experimental*, New York, v.49, p.819-25, 2000.
- TORUN, B.; CHEW, F. Protein energy malnutrition. In: SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; HIKE, M. *Modern nutrition in health and disease*. 8th ed. Philadelphia,: Lea & Febiger, 1994. p.950-76.
- VAN ASSCHE, F.A.; AERTS, L. The fetal endocrine pancreas. *Contributions to Gynecology and Obstetrics*, Berlin, v.5, p.44-57, 1979.
- VILLANI, M.C.M. Efeitos da suplementação de leucina e/ou deficiência de metionina na dieta sobre o crescimento tumoral e aspectos ponderais bioquímicos e nutricionais de ratos adultos portadores de carcinossarcoma de Walker 256. 2001. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- WATERLOW, J.C.; ALLEYNE, G.A.O. Má nutrição protéica em crianças: evolução dos conhecimentos nos últimos dez anos. São Paulo: LPM, 1974.
- ZANQUETTA, M.M. Papel da desnutrição e da pinealectomia no metabolismo de carboidratos e na ação periférica da insulina. 2001. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

ENDEREÇO

Patrícia Berbel Leme de Almeida
R. Conde Luiz Eduardo Matarazzo, 250, apto. K 31
05356-000 - São Paulo - SP - BRASIL
e-mail: patriciaberbel@pop.com.br

Recebido para publicação: 18/2/2002
Revisado: 20/10/2003
Aceito: 24/10/2003