

DESNUTRIÇÃO PROTEICO-ENERGÉTICA EM RATOS

Respostas dos animais desnutridos à privação protéica total

*Leda Ulson Mattos **

MATTOS, L. U. Desnutrição protéico-energética em ratos: respostas dos animais desnutridos à privação protéica total. *Rev. Esc. Enf. USP, São Paulo, 13(1):19-27, 1979.*

A autora estuda a resposta dos modelos experimentais que mimetizam o Kwashiorkor-marasmático e o marasmo à privação protéica total, usando como parâmetros o teor de nitrogênio do fígado e do pâncreas e de lípídeos totais no fígado.

INTRODUÇÃO

Embora não seja possível fornecer cifras exatas da incidência da má nutrição protéica no homem, trata-se, indubitavelmente, de um problema ainda sério em certas áreas, tais como: África, Ásia, América do Sul e Central³¹.

O problema das denominações para as diferentes formas clínicas de má nutrição infantil ainda é causa de dificuldades e confusões. A maioria dos pesquisadores ainda reconhece duas síndromes — Kwashiorkor e marasmo. WATERLOW³⁰ afirmou que estas duas síndromes não podem ser «estritamente distintas, pois uma pode ser convertida na outra por acréscimo ou decréscimo de calorías». MONTGOMERY²⁰ considera o marasmo e o Kwashiorkor como os dois extremos de uma mesma síndrome e afirma que as crianças marasmáticas são famintas e as com Kwashiorkor se recusam a comer.

GARROW et alii¹⁴ afirmaram: «as duas formas clínicas de desnutrição infantil são: o marasmo, caracterizado pelo retardo de crescimento, anorexia e irritabilidade ou apatia; e o Kwashiorkor, no qual os mesmos sintomas estão presentes, além de edema, fígado aumentado, dermatoses, lesões da mucosa da boca. Há grande evidência de que ambas as síndromes são provocadas por ingestão inadequada de proteína. Supõe-se que o Kwashiorkor desenvolva-se quando a ingestão calórica é aproximadamente adequada, e o marasmo quando há carência tanto de proteínas quanto de calorías».

A FAO/WHO³³ propôs, para o Kwashiorkor, marasmo e edema da fome, a denominação de desnutrição protéico-calórica.

Todas as investigações e esforços orientados no sentido de detectar ou prevenir a desnutrição significariam uma contribuição à resolução de um problema crucial do presente momento. Entretanto, cabe-nos assinalar que os modelos de desnutrição em animais, com o objetivo de investigar problemas relacionados com os da espécie humana, constituem fontes de estudo para a compreensão de mecanismos biológicos, sem as complicações que comumente acompanham o problema no ser

* Professor Adjunto da disciplina Nutrição e Dietética aplicada à Enfermagem da EEUSP.

humanos, isto é, a deficiência de outros nutrientes e a intercorrência de parasitoses e infecções¹⁹.

Na criação dos modelos experimentais, a maior dificuldade é a anorexia resultante do uso prolongado de dietas hipoprotéicas, que conduzem a uma pequena ingestão de alimentos e conseqüente deficiência calórica. Para produzir o modelo experimental de deficiência protéica com um nível calórico normal, os animais devem ser alimentados com teor de proteína suficientemente baixo para conduzir à depleção protéica, mas a quantidade de alimento deve ser tal que não leve ao *déficit* calórico. Para a prevenção deste, vários autores^{2,22} usaram a alimentação forçada, fornecendo ao animal uma quantidade de alimento maior do que o mesmo ingeriria *ad libitum*, se a dieta fosse hipoprotéica, e menor, se ela fosse normoprotéica.

DEO et alii⁸ provocaram deficiência protéica em macacos Rhesus, alimentando-os por sonda, com uma dieta hipoprotéica, normal em outros nutrientes. SIDRANSKY & FARBER²⁵, SIDRANSKY & BABA²³, SIDRANSKY & CLARK²⁴ induziram em ratos, pesando em média 100g, sinais de deficiências semelhantes aos do Kwashiorkor, alimentando-os por sonda, com dietas deficientes em um único amino-ácido essencial.

Alguns autores criticam a alimentação por sonda por ser antifisiológica e limitar a aplicabilidade dos resultados à nutrição humana^{19,26}. KIRSCH et alii¹⁹, para abolir a alimentação forçada, usaram um grupo controle diferente do comumente usado. Estes autores submetteram um grupo de animais a uma dieta normal em proteínas e calorias, mas restrita em quantidade de alimento, de maneira a que o alimento ingerido por este grupo fosse isocalórico em relação ao ingerido por um grupo recebendo dieta hipoprotéica *ad libitum*.

Como os animais com peso médio de 150g, alimentados com dieta pobre em proteínas, só apresentam sinais de deficiência após 5 semanas, STEAD & BROCK²⁶ sugeriram utilizar ratos mais jovens, isto é, logo após o desmame. Estes animais entram rapidamente em depleção protéica, o que eliminaria a influência da anorexia, provocada pela ingestão prolongada de dietas hipoprotéicas sobre a ingestão calórica. Estes resultados também seriam aplicáveis à desnutrição manifestada em crianças logo após o desmame.

WIDDOWSON & WHITEHEAD³² conseguiram modelos de deficiência protéica e calórica. O modelo deficiente em proteínas foi conseguido alimentando animais recém-desmamados com dieta contendo 4% de caseína; o deficiente em calorias, alimentando os animais com dieta controle contendo 20% de caseína, em quantidade limitada, de maneira a que o crescimento médio deste grupo fosse igual ao do deficiente em proteínas.

Em nosso trabalho utilizamos dois modelos baseados em WIDDOWSON & WHITEHEAD³²: um de deficiência de proteína em relação às calorias e que mimetiza a síndrome de Kwashiorkor, e outro de deficiência alimentar, tanto de proteínas quanto de calorias e que mimetiza o marasmo. Estudamos a resposta dos animais, com estas duas síndromes, à carência protéica total.

Segundo alguns autores^{15,16,18,29} a dieta que antecede a carência protéica interfere na capacidade de resistência do animal à privação protéica total. HOLT et alii¹⁸ verificaram que um teor muito alto de proteína na dieta (70%) que antecede a carência protéica não aumenta a resistência dos animais à referida carência. VAUGHAN et alii²⁹ sugeriram que animais recebendo dietas altas em proteínas

apresentam catabolismo acelerado, que continua acelerado mesmo após a redução do nível protéico da dieta.

MATERIAL E MÉTODO

1. *Material*

Animais de experiência: utilizamos 41 ratos (*RATTUS NORWEGICUS*, *ALBINUS*) Wistar, obtidos do biotério Central da Faculdade de Medicina da USP, desmamados aos 21 dias e pesando em média 40g.

Dietas. Todas continham aproximadamente 400 calorias/100g de dieta e apresentavam a seguinte composição:

Componentes	Dietas		
	20% proteína	4% proteína	aprotéica
Caseína	26,4	5,3	—
Misura de sais minerais	3,2	3,2	3,2
Solução de vitaminas	1,6	1,6	1,6
Óleo de algodão	6,0	6,0	6,0
Óleo de fígado de bacalhau	1,6	1,6	1,6
Amido	41,2	62,3	68,8
Açúcar	20,0	20,0	20,0

2. *Procedimentos experimentais*

Após o desmame, 5 ratos foram sacrificados pela técnica de *STEAD & BROCK*²⁶, após um jejum de 12 horas. O pâncreas e o fígado dos mesmos foram retirados e sofreram tratamento idêntico ao descrito a seguir. Os dados obtidos destes animais constituíram a *linha de base*. Os 36 animais restantes foram distribuídos ao acaso em 3 grupos, de acordo com o seguinte esquema:

Modelo C (controle) 10 animais
 Modelo A 13 animais
 Modelo B 13 animais

Os animais dos modelos C e A receberam dietas contendo 20% e 4% de caseína, respectivamente, *ad libitum*, e os do modelo B, dieta com 20% de caseína em quantidade restrita, de maneira a que os animais deste grupo mantivessem o mesmo crescimento que os do modelo A. Este período experimental durou 21 dias e constituiu a *Fase I*. No final deste período foram sacrificados 5 animais de cada grupo.

Os animais restantes de cada modelo foram submetidos a uma dieta aprotéica durante 15 dias, após o que foram sacrificados. Esta fase constituiu a *Fase II* do experimento.

Os fígados e os pâncreas foram pesados frescos. Em alíquotas, foram dosados o nitrogênio e os lipídeos do fígado e o nitrogênio do pâncreas.

3. Métodos de dosagem

3.1. Dosagem de nitrogênio. Todas as dosagens de nitrogênio foram feitas pelo método de Kjeldahl modificado ALBANESE¹.

3.2. Dosagem de lipídeos — o método usado foi o de FOLCH et alii¹¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da linha de base, fase I e fase II, serão apresentados e discutidos concomitantemente.

Na Tabela 1 apresentamos o peso médio dos animais na linha de base e a média semanal dos pesos dos animais dos 3 modelos nas fases I e II.

Na Tabela 2 colocamos a média de variação de peso corporal e a média de alimento, proteína e calorias ingeridas, nos diferentes modelos, nas duas fases.

Colocando em um gráfico a porcentagem de proteínas e calorias ingeridas pelos animais dos 3 modelos, vemos que os modelos B e A seguem o esquema de Behar (citado por BEGHIN³) para Kwashiorkor marasmático e marasmo. Neste esquema consideramos as quantidades de calorias e proteínas ingeridas pelo grupo controle (modelo C) como cobrindo as necessidades do animal.

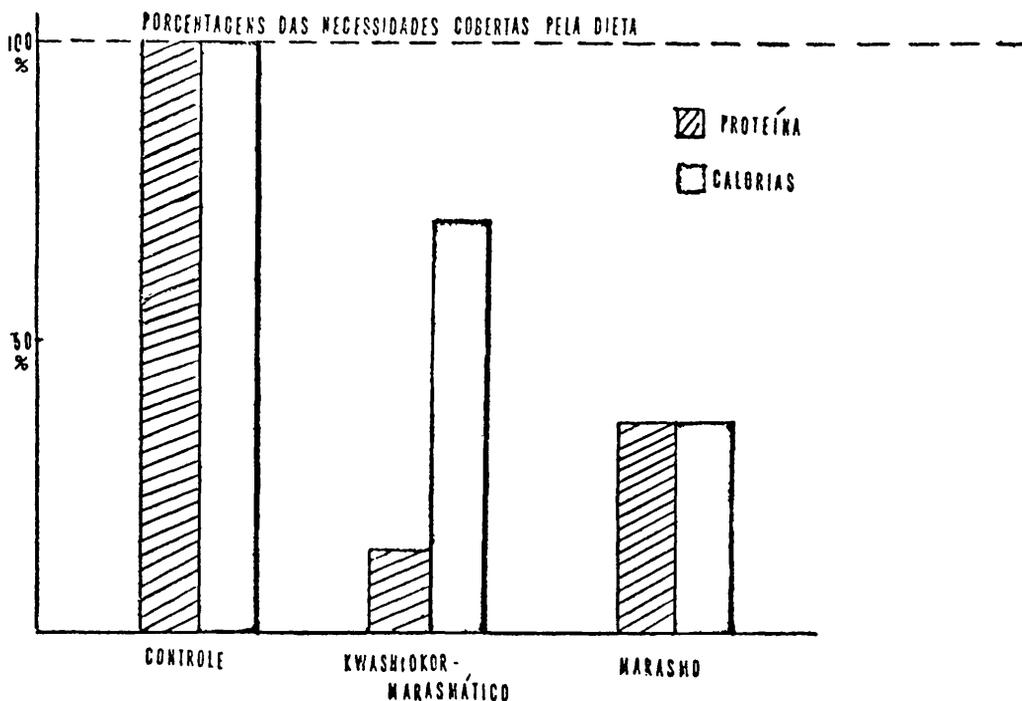


TABELA 1

Peso médio dos animais na linha de base e média semanal do peso dos animais, no final das fases I e II, nos três modelos.

Fase Semana	Linha de Base	Fase I			Fase II	
		1. ^a	2. ^a	3. ^a	1. ^a	2. ^a
Modelo						
Controle (Modelo C)	40,27 (3,92)	73,76 (6,64)	110,40 (10,4)	139,81 (5,54)	126,82 (16,75)	109,57 (14,30)
Modelo A	40,27 (3,92)	47,63* (5,37)	50,36* (4,03)	53,50* (5,04)	43,48* (7,15)	42,10* (6,75)
Modelo B	40,27 (3,92)	48,38* (1,79)	49,30* (1,79)	53,40* (2,51)	55,88* (3,44)	48,04* (2,33)

* DIFERENÇA significativa em relação ao controle ($p < 0,05$).

● DIFERENÇA significativa em relação ao modelo A ($p < 0,05$).

Pudemos verificar na Tabela 1 que os animais com deficiência protéica (modelo A) tiveram um atraso no crescimento de aproximadamente 60% em relação ao controle. Segundo WATERLOW³¹, este atraso é um mecanismo de adaptação para que o animal possa sobreviver. No entanto, indaga-se «até que ponto o atraso no crescimento pode ser considerado mecanismo de adaptação, compatível com a vida, e não uma falha nos mecanismos homeostáticos que compensariam esta deficiência protéica» HARPER¹⁷.

Como podemos ver nas Tabelas 1 e 2, os animais recebendo uma dieta com porcentagem baixa de proteína (4%) necessitam mais calorias (35,87 cal) para manter o mesmo peso corporal que os animais que recebem uma dieta adequada em composição, mas inadequada em quantidade (17,6 cal). É o que FRIER et alii¹³ chamam de «paradoxo das calorias».

TABELA 2

Média de variação de peso corporal, média do alimento, proteína e calorias ingeridas, nos diferentes modelos, nas duas fases.

Modelos	C		A		B	
	I	II	I	II	I	II
Variáveis						
Varição do peso corporal (g/dia/rato)	+4,74 (0,68)	-2,01 (0,82)	+0,63* (0,14)	-0,76 ^x (0,11)	+0,66* (0,11)	-0,41 ^{x+} (0,08)
Alimento ingerido	12,85 (1,45)	11,73 (1,34)	9,03* (2,34)	5,08 ^x (1,02)	4,40*● (0,88)	5,83 ^x (0,38)
Proteína ingerida	2,57 (0,28)	—	0,36* (0,10)	—	0,88*● (0,22)	—
Calorias ingeridas	51,39 (5,63)	47,28 (5,77)	35,87* (9,84)	20,81 ^x (3,45)	17,60*● (3,45)	23,05 ^x (2,11)

* $p < 0,05$ entre modelo A e B e o modelo C na fase I.

● $p < 0,05$ entre os modelos B e A na fase I.

x $p < 0,05$ entre os modelos A e B e o C na fase II.

+ $p < 0,05$ entre os modelos B e A na fase II.

TABELA 3

Peso dos órgãos, nitrogênio do fígado e pâncreas e lipídeos do fígado nos 3 modelos, na linha de base e nas duas fases experimentais.

Variáveis	Fases		Fase I			Fase II	
	Linha de Base	Modelo C	Modelo A	Modelo B	Modelo C	Modelo A	Modelo B
Peso Animal (g)	40,27 (3,92)	139,81 (15,54)	53,50* (5,04)	53,40* (2,51)	109,57 (14,47)	42,10* (6,75)	48,04* (2,23)
Peso Fígado (g)	1,627 (0,292)	5,946 (0,707)	2,210* (0,337)	2,124* (0,148)	4,582 (0,509)	2,231* (0,579)	1,964* (0,135)
Fígado g/% Peso corporal	4,311 (0,661)	4,247 (0,245)	4,130 (0,524)	3,979° (0,244)	4,211 (0,302)	5,255* (0,610)	4,030° (0,218)
Nitrogênio g/% Fígado	3,300 (0,146)	3,333 (0,133)	2,790* (0,293)	3,677*° (0,280)	2,937 (0,268)	2,724 (0,350)	2,948 (0,177)
Lipídeos g/% Fígado	3,285 (0,202)	3,213 (0,103)	4,377* (0,966)	2,645*° (0,171)	5,180 (1,558)	6,371 (2,742)	5,113 (1,415)
Peso Pâncreas (g)	0,137 (0,039)	0,504 (0,072)	0,276* (0,056)	0,264* (0,064)	0,420 (0,108)	0,209* (0,065)	0,138*° (0,018)
Pâncreas g/% Peso corporal	0,355 (0,130)	0,362 (0,052)	0,515* (0,09)	0,494° (0,114)	0,378 (0,151)	0,484° (0,085)	0,288*° (0,032)
Nitrogênio g/% Pâncreas	3,220 (0,367)	2,631 (0,256)	1,869* (0,175)	3,627*° (0,184)	1,851 (0,425)	1,630 (0,430)	2,858*° (0,442)
Relação N/Lipídios hepáticos	1,005	1,037	0,637	1,390	0,567	0,379*	0,577°

* Diferença significativa ao nível de 5% em relação ao controle (Grupo C).

° Diferença significativa ao nível de 5% em relação ao modelo A.

Na fase de restrição protéica total vemos que, embora os animais do grupo A e B tivessem ingerido, aproximadamente, a mesma quantidade de calorias, 20,81 e 23,05 calorias respectivamente, os animais do modelo A perderam mais peso (21,3%) do que os do modelo B (9,36%), além de na primeira semana os animais do último modelo terem sofrido um aumento de peso de 4,4%. Ainda podemos salientar que os animais do grupo controle perderam tanto peso por caloria ingerida (0,04 g/cal) como os do modelo A que estavam em restrição protéica (0,04 g/cal). Estes fatos parecem indicar que o maior teor de proteína, em uma dieta fornecida *ad libitum*, e que antecede a carência protéica total não interfere, aparentemente, na resposta do animal, no que toca à manutenção do peso corporal.

A Tabela 3 nos mostra que o peso do fígado em relação ao peso corporal, na fase I, independe do modelo considerado. Já na fase II, isso só é verdadeiro para o fígado dos animais dos modelos C e B, apresentando os animais do modelo A fígado bastante aumentado.

O peso do pâncreas em relação ao peso corporal dos animais é maior nos modelos A e B (significativo ao nível de 5%) do que no modelo controle, na fase I; porém, na fase II, o peso do pâncreas dos animais dos modelos C e A permanece constante e o do modelo B diminui de valor ($p < 0,05$).

Outro dado interessante de nossos resultados foi o alto teor de nitrogênio encontrado no fígado e pâncreas dos animais submetidos a restrição alimentar (modelo B) e o baixo teor de lipídeos no fígado destes animais, quando comparados com o grupo controle na fase I. Estes resultados estão em oposição ao dos animais do grupo A, que apresentaram alto valor de lipídeos e baixo de proteínas (Tabela

3). MURKHERJEE & SARKAR ²¹ já haviam encontrado alterações no conteúdo de nitrogênio, ferro, atividade de catalase, colinesterase e fosfatase alcalina no fígado de crianças com Kwashiorkor e de adultos com edema nutricional. O acúmulo de lipídeos não foi tão grande como era de esperar, provavelmente porque a dieta continha como fator lipotrópico, 0,16g de cloreto de colina (%) que, de acordo com BEST et alii ⁴, é suficiente para prevenir a infiltração gordurosa.

Após a dieta aprotéica *ad libitum*, os valores do nitrogênio do fígado passaram a ser iguais nos animais dos modelos C e B, o mesmo acontecendo com os lipídeos. Em relação ao pâncreas, o nitrogênio do modelo B ainda continua mais alto que o dos modelos C e A, entre os quais não há mais diferença significativa ao nível de 5%.

FABRY et alii ¹⁰ admitiram que o valor nutritivo da dieta depende não só de sua composição e quantidade ingerida, mas também da frequência alimentar. Se o animal recebe, de uma só vez, a quantidade de alimento que ele deveria receber durante todo o dia, adapta-se a este tipo de ingestão alimentar, sofrendo alterações no seu metabolismo energético ¹⁰, aceleração na absorção intestinal de glicose e gordura, aumento de síntese de glicogênio no fígado e aumento de lipogênese ^{5,6,9, 27,28}.

Em nosso trabalho o animal recebia 5g por dia (Tabela 2) de alimento, consumido de uma só vez, o que dava um período de jejum de 24 horas. COHN & JOSEPH ⁷ verificaram que animais recebendo 5g de dieta uma vez ao dia incorporavam o isótopo ¹⁴C na gordura epididimal 4 vezes mais rápido do que os que recebiam dieta livre, e 30 vezes mais rápido do que os que recebiam alimento de hora em hora. Segundo estes autores, o estímulo primário a formação da gordura são as calorias não imediatamente usadas. Tomando o nosso caso, vemos que o animal que ingere 5g de alimento de uma só vez está recebendo 17,6 cal/hora; os do grupo de restrição protéica, 1,48 cal/hora; e os do modelo C, 2,14 cal/hora. Portanto, pode ser que a manutenção de peso do animal que recebe uma dieta adequada em composição, mas inadequada em quantidade, seja provocada pelo acúmulo de gordura e não de tecido muscular. COHN ⁵ sugeriu que o aumento da gordura é realizado às custas de água e proteína.

Parece ser lógico que o modo como o organismo se adapta de maneira a absorver os alimentos está condicionado à carga de nutrientes fornecidos de uma só vez. Como as enzimas não podem atuar sobre um teor muito alto de substrato, o organismo responde a esse excesso mudando de via metabólica. COHN ⁵ sugeriu que a carga de nutrientes colocados à disposição do animal por unidade de tempo regula a composição corporal, ou seja, a soma de todas as adaptações enzimáticas conduzem a uma determinada composição corporal.

Podemos ainda observar que houve uma queda de nitrogênio (19,8%) e um aumento acentuado (93,3%) de lipídeos no fígado dos animais do modelo B, quando passaram de uma dieta adequada em qualidade, mais inadequada em quantidade, para uma aprotéica *ad libitum*, atingindo ambos os parâmetros os mesmos valores do modelo C. No modelo A houve maior acúmulo de lipídeos, não se alterando, porém, o teor de nitrogênio em relação à fase I.

Quanto ao pâncreas também encontramos uma queda de nitrogênio (21,2%) em relação à fase I, embora este valor ainda continue superior ao modelo C na fase de carência protéica total.

Assim, a composição do fígado e do pâncreas, embora significativamente diferentes, na fase I, nos modelos B e C, parece tender a se igualar na fase II, o que nos leva a supor que tanto a quantidade de alimento oferecida quanto a frequência alimentar possa ser responsável pelos mecanismos adaptativos encontrados no modelo B.

Outrossim, ainda podemos considerar um outro fator importante que tem sido estudado por vários autores como BARJA et alii², e WU & WU³⁴ que é a relação calorias protéicas/calorias totais da dieta. Esta relação é igual ($P=20\%$) nos grupos B e C e pode ter influenciado a resposta dos animais à carência protéica total.

Estamos estudando o comportamento do fígado e pâncreas, em relação ao nitrogênio e aos lipídeos, utilizando para isso dietas com diferentes relações calorias protéicas/calorias totais.

Tendo em vista os resultados obtidos, estamos elaborando uma série de estudos nos quais tentamos explicar o comportamento, principalmente dos animais do modelo B, para verificar se diferentes quantidades de uma mesma dieta levam aos mesmos resultados, se forem ingeridas de uma só vez, ou se quantidades iguais de uma mesma dieta, ingeridas várias vezes ao dia, conduzem aos mesmos resultados.

MATTOS, L. U. Protein-calorie malnutrition in rats-response of protein-calorie malnourished rats to a nutritional protein deprivation. *Rev. Esc. Enf. USP*, São Paulo, 13 (1):19-27, 1979.

The author studies the effect of nutritional protein deprivation on experimental models of marasmatic-kwashiorkor and marasmus in rats. The parameters used were quantity of nitrogen in liver and pancreas, and liver lipides.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ALBANESE, D. H. A., ed. — *New methods of nutritional biochemistry*. New York, Academic Press, 1963. vol. 1, p. 84.
2. BARJA, I. et alii — Effect of spacing protein intake on nitrogen balance in normal children. *Amer. J. clin. Nutr.*, New York, 25(5): 506-11, 1972.
3. BEGHIN, I. — Desnutrição protéico-calórica: considerações sobre sua epidemiologia. *Rev. Bras. Med.*, Rio de Janeiro, 29(6): 278-83, 1972.
4. BEST, H. C. et alii. — Effects of dietary protein, lipotropics factors, and realimentation on total hepatic lipids and their distribution. *Brit. Med. J.*, 1 (4928): 1439-44, June 1955.
5. COHN, C. — Feeding frequency and body composition. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, New York, 110: 395-409, 1963.
6. ——— Feeding patterns and some aspects of cholesterol metabolism. *Fed. Proc.*, Washington, 23: 76-81, 1964.
7. ——— & JOSEPH, D. — Feeding frequency and lipogenesis in undernutrition. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, Ottawa, 45: 609-12, 1967.
8. DEO, M. G. et alii — Experimental protein deficiency. *Arch. Pathol.*, Chicago, 80: 14-23, 1963.
9. FABRY, P. et alii — Lipogenesis in rats adapted to intermittent starvation or continuous underfeeding. *Experientia*, Basel, 18: 555-6, 1962.
10. FABRY, P. et alii — Energy metabolism and growth in rats adapted to intermittent starvation. *Brit. J. Nutr.*, London, 17: 295-301, 1963.
11. FOLCH, J. et alii — A simple method for the isolation of total lipides from animals tissues. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, 226: 497-509, 1957.
12. FOLLIS, R. H. — A Kwashiorkor syndrome observed in monkeys fed maize. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, New York, 96: 523-8, 1957.
13. FRYER, J. H. et alii — A caloric paradox. *Proc. Nutr. Soc.*, London, 20: 49, 1961.
14. GARROW, J. C. et alii — The treatment and prognosis of infantile mal nutrition in Jamaican children. *W. Indian med. J.*, Jamaica, 11(4): 217-27, 1962.
15. HALAC JUNIOR, E. — Effects of stress on animals fed high protein diets. *Amer. J. clin. Nutr.*, New York, 9: 557-60, 1961.
16. ——— Studies of protein reserves — the relation between protein intake and resistance to protein deprivation. *Amer. J. clin. Nutr.*, New York, 11: 574-6, 1962.
17. HARPER, A. E. — Adaptability and amino-acid requirements. In: ——— *Metabolic adaptation and nutrition*. Washington, Pan American Health Organization, 1971. (Scientific Publication, 122).
18. HOLT JUNIOR, L. E. — The concept of proteins stores and its implications in diet. *J. Amer. Med. Ass.*, Chicago, 181: 669-705, 1962.

19. KIRSCH, R. E. et alii — Animal models and human protein calorie mal nutrition. *J. clin. Nutr.*, Allentown, 21: 1225-8, 1968.
20. MONTGOMERY, R. D. — Changes in the basal metabolic rate of the malnourished infant and their relation to body composition. *J. Clin. Invest.*, New Haven, 41(8): 1653-63, 1962.
21. MUKHERJEE, K. L. & SARKAR, N. K. — Liver enzymes in human undernutrition. *Brit. J. Nutr.*, London, 12: 1-7, 1958.
22. PLATT, B. S. et alii — Pathology of acute experimental malnutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, London, 21: vi, 1962.
23. SIDRANSKY, H. & BABA, T. — Chemical pathology of acute amino-acid deficiencies. III — Morphologic and biochemical changes in young rats fed valine and lysine devoid diets. *J. Nutr.*, Philadelphia, 70: 463-71, 1960.
24. ——— & CLARK, S. — Chemical pathology of acute amino-acid deficiencies. IV — Influence of carbohydrates intake on the morphologic and biochemical changes in young rats fed threonine or valine devoid diets. *Arch. Path.*, Chicago, 72: 106-17, 1961.
25. ——— & FARBER, E. — Chemical pathology of acute amino-acid deficiencies. I — Morphologic changes in immature rats fed threonine, methionine or histidine devoid diets. *Arch. Path.*, Chicago, 66: 119-34, 1958.
26. STEAD, R. H. & BROCK, J. F. — Experimental protein-calorie malnutrition rapid induction depletion signs in early weaned rats. *J. Nutr.*, Philadelphia, 102: 1357-66, 1972.
27. TEPPERMAN, J. & TEPPERMAN, H. M. — Effects of antecedentes food intake on hepatic lipogenesis. *Am. J. Physiol.*, Washington, 193: 55-64, 1958.
28. ——— Adaptative hyperlipogenesis. *Fed. Proc.*, Washington, 23: 73-5, 1964.
29. VAUGHAN, O. W. et alii — Influence of prior dietary protein levels on resistance to protein deprivation. *Pediatrics.*, Springfield, 29: 90-6, 1962.
30. WATERLOW, J. C. — Fatty liver disease in infants in the British West Indies. *Med. Res. Council. Spec. Rep. Ser.*, London, (263): 1948.
31. ——— & ALLEYNE, J. C. — *Má nutrição protéica em crianças: evolução dos conhecimentos nos últimos 10 anos.* São Paulo, Nestlé, 1974.
32. WIDDOWSON, E. M. & WHITEHEAD, R. G. — Plasma amino-acid and urinary hidroxy-proline excretions in rats deficient in protein and calorie. *Nature*, London, 212: 683-6, 1966.
33. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Expert committee on nutrition: 6th. report.* Geneva, 1962. (Technical Report Series, 245).
34. WU, H. & WU, D. Y. — Influence of feeding schedule on nitrogen utilization and excretion. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, New York, 74: 78-82, 1950.