

Modelos experimentais de desnutrição e sua influência no trofismo cutâneo *

Experimental models of malnutrition and its effect on skin trophism

Saulo Nani Leite¹

Thiago Antônio Moretti de Andrade³

Marco Andrey Cipriani Frade⁴

Alceu Afonso Jordão Júnior²

Daniela dos Santos Masson³

Resumo: FUNDAMENTOS: A pele, para exercer suas funções, necessita de níveis adequados de nutrientes.

OBJETIVO: Analisar o trofismo cutâneo de ratos nutridos e desnutridos por meio de dois modelos de desnutrição.

MÉTODOS: No Modelo Marasmo, utilizaram-se 60 ratos Wistar em controle dietético, dos quais 30 foram selecionados aleatoriamente para receber metade da dieta diária durante 60 dias. No Modelo Gelatina, empregaram-se 60 ratos, dos quais 30 receberam dieta associada a proteína de baixa qualidade (gelatina) durante 30 dias. Avaliou-se o estado nutricional dos animais por meio da massa corporal, dos sinais clínicos e da dosagem de albumina sérica. Após o período de desnutrição, fez-se a histologia da pele dos animais para análise da espessura da derme e epiderme com o *software Leica Application Suite*; nas lâminas coradas com tricrômio de Gomori, analisou-se a colagênese com o *software ImageJ*.

RESULTADOS: A massa corporal dos animais desnutridos pelo marasmo e gelatina foi significativamente menor ($p < 0,0001$ e $p < 0,0001$) do que a dos grupos nutridos. Quanto à albumina sérica, não houve diferença entre os grupos nos dois modelos. Em relação à análise histológica da espessura da pele, os desnutridos apresentaram a derme significativamente menos espessa em comparação aos nutridos ($p < 0,0001$ e $p < 0,0001$). No que respeita à colagênese, os grupos desnutridos apresentaram menores percentuais de colágeno em relação aos nutridos ($p < 0,0005$ e $p < 0,003$).

CONCLUSÕES: Os animais desnutridos pelos dois modelos apresentaram diminuição na espessura dérmica, confirmada histologicamente pelo menor percentual de colágeno, mostrando a influência negativa da desnutrição no trofismo cutâneo. Palavras-chave: Cicatrização; Colágeno; Gelatina; Marasmo nutricional; Modelos animais; Processamento de imagem assistida por computador

Abstract: BACKGROUND: The skin requires adequate levels of nutrients to function properly. Objective: To analyze skin trophism in well-nourished and undernourished rats using two models of malnutrition.

METHODS: In the marasmus model, 60 Wistar rats were kept on a controlled diet, 30 being randomly selected to receive half the established diet for 60 days. In the gelatin model, 60 rats were used, 30 of which received a diet consisting of poor quality protein (gelatin) for 30 days. The nutritional status of the animals was evaluated according to body mass index, clinical signs and serum albumin measurement. After the period of malnutrition, histology was performed on the animals' skin to analyze the thickness of the dermis and epidermis using the Leica Application Suite software. Collagen was analyzed on slides stained with Gömöri trichrome using the ImageJ software program.

RESULTS: The body mass index of the malnourished animals in the marasmus and gelatin groups was significantly lower than that of the well-nourished animals in the two groups ($p < 0.0001$ in both models). With respect to serum albumin, there was no difference between the groups in either of the two models. In relation to the histological analysis of skin thickness, the dermis of the malnourished animals was significantly thinner compared to that of the well-nourished animals ($p < 0.0001$ in both models). The percentage of collagen was lower in the malnourished animals compared to the well-nourished animals ($p < 0.0005$ and $p < 0.003$ in the marasmus and gelatin model, respectively).

CONCLUSIONS: Skin thickness measurements were lower in the malnourished animals in both models, and this finding was histologically confirmed by the lower percentage of collagen, showing the negative effect of malnutrition on skin trophism. Keywords: Collagen; gelatin; image processing, computer-assisted; nutritional marasmus; public health; skin.

Recebido em 09.03.2010.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 13.09.2010.

* Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP – USP) – São Paulo (SP), Brasil.

Conflito de interesse: Nenhum / *Conflict of interest: None*

Supporte financeiro / *Financial funding*: FAEPA-HC-FMRP/USP, CNPq; CAPES

¹ Mestre; pós-graduando do Programa Interunidades em Bioengenharia da Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

² Doutor; professor da divisão de nutrição do departamento de clínica médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP – USP) – São Paulo (SP), Brasil.

³ Mestre; pós-graduando(a) do departamento de clínica médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP USP) – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Doutor (Pós-Doutorado); professor doutor da divisão de dermatologia do departamento de clínica médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP) – São Paulo (SP), Brasil.

INTRODUÇÃO

A pele, maior órgão do corpo humano, exerce várias funções importantes, como proteção contra toxinas e micro-organismos presentes no ambiente, prevenção da desidratação, participação no sistema imunológico, propriedade sensorial e cicatrização.^{1,2,3} Porém, para manter sua estrutura e tais funções, são necessários níveis adequados de nutrientes como proteínas, carboidratos, vitaminas e sais minerais.^{4,5,6}

A desnutrição pode ser descrita como um estado de deficiência de energia, proteína e/ou outro nutriente específico, que acarreta uma alteração mensurável na função corporal e se associa à piora de doenças, podendo ser revertida com suporte nutricional adequado.⁷ É altamente prevalente nos países em desenvolvimento e, em geral, está vinculada a problemas socioeconômicos, educacionais, de saúde e de saneamento básico.⁸ Os casos extremos de desequilíbrio nutricional, como a fome e a desnutrição, induzem no indivíduo uma série de alterações bioquímicas e orgânicas, como distúrbios no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos, e, assim, um quadro de desnutrição, tanto por privação de dieta como por situações de estresse, que alteram os requerimentos protéicos dos indivíduos e as suas necessidades na composição de aminoácidos.⁹

As proteínas são macromoléculas importantes do organismo, pois, além de exercerem funções estruturais, agem como catalisadores biológicos e como hormônios, participam da função imunológica e do transporte de substâncias, regulam o desenvolvimento celular. Quando as proteínas deixam de exercer seu papel estrutural e enzimático, instala-se um estado de desequilíbrio metabólico, que pode gerar no indivíduo quadros anêmicos, hipovitaminoses e desnutrição protéico-energética (DPE), sendo esta última um dos principais problemas sociais brasileiros.¹⁰

A DPE resulta da ingestão alimentar inadequada e caracteriza-se por deficiência de energia, devido à redução na ingestão de todos os macronutrientes e, frequentemente, muitos micronutrientes. Clinicamente, ela se classifica nos tipos marasmo, kwashiorkor ou em uma combinação dos dois, marasmo-kwashiorkor. O marasmo é a forma predominante da DPE na maioria dos países em desenvolvimento e pode afetar todas as faixas etárias. Ocorre quando a ingestão de energia é insuficiente para suprir a demanda orgânica e, então, o corpo utiliza seus próprios estoques de energia, como glicogênio, músculo esquelético e, por fim, os triglicérides localizados no tecido adiposo.¹¹ Consequentemente, o indivíduo apresenta

diminuição crônica de peso pela perda de massa muscular e gordura corporal, assim como crescimento deficitário, atrofia muscular e estado mental em “alerta”. Os níveis de albumina sérica se mantêm praticamente inalterados, tendo sua queda detectada apenas tardiamente.^{4,6,7,8,12}

Além desse, outro tipo de desnutrição pode ser desencadeado quando há baixa ingestão de nutrientes específicos, como de proteína, ou quando a ingestão se baseia em proteína de má qualidade, como a gelatina. Esta se caracteriza por um colágeno desnaturado, cuja composição aminoacídica corresponde a uma alta concentração de glicina, prolina e hidroxiprolina, associada a uma baixa ou nula concentração de tirosina, triptofano, isoleucina, cistina e histidina.¹³ A deficiência desses aminoácidos essenciais causa depleção protéica nos animais, ocasionando supressão de crescimento.¹⁴

A DPE atinge a pele e provoca alterações morfofuncionais significativas, predispondo-a à perda de sua integridade (úlceras), com consequente dificuldade de cicatrização. Entretanto, pouco se sabe sobre as alterações cutâneas desencadeadas pela depleção específica de proteínas, como a induzida pela ingestão de gelatina. A desnutrição altera a reação inflamatória, a função imune e a regeneração tecidual, causando aumento das citocinas pró-inflamatórias, atraso na cicatrização e maior risco de infecções.^{2,6,12,15,16}

Frade et al. (2005), ao analisarem uma amostra de 124 pacientes em Juiz de Fora e região adjacente, constataram que as úlceras de perna constituíam uma enfermidade de evolução longa e recidivante, associada, em geral, a outras enfermidades crônicas, e acometiam, essencialmente, idosos de baixa renda.¹⁷ Atualmente, com o aumento da incidência e prevalência de pacientes ulcerados, geralmente desnutridos, e as inúmeras opções terapêuticas que buscam acelerar a cicatrização, torna-se importante a padronização e o conhecimento dos modelos experimentais de desnutrição para avaliação dos mecanismos envolvidos no reparo tecidual e, consequentemente, da segurança e eficácia dos produtos.¹⁸

Com isso, busca-se analisar as modificações teciduais tróficas da pele dos ratos diante das diferentes formas de desnutrição como nos modelos experimentais de marasmo e por dieta normoprotéica associada a proteína de baixa qualidade (gelatina).

MATERIAL E MÉTODOS

Realizaram-se os procedimentos experimentais de acordo com os princípios éticos em pesquisa animal preconizados pelo Colégio Brasileiro de

Experimentação Animal – COBEA (processo CETEA/FMRP n° 274/2005). O estudo foi delineado como experimental do tipo ensaio clínico, randomizado e controlado em ambos os modelos de desnutrição.

INDUÇÃO EXPERIMENTAL DE DESNUTRIÇÃO

A) Modelo marasmo

Utilizaram-se 60 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos, adultos (180,0-200,0g), oriundos do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), que receberam ração *ad libitum* por três dias para obtenção da média diária de ingestão. Inicialmente, de forma aleatória, 30 animais receberam ração *ad libitum* (grupo nutrido) e o restante recebeu a metade da média diária de ração (grupo desnutrido), os quais foram acompanhados por dois meses. Os animais receberam água *ad libitum* e foram alojados em gaiolas individuais, à temperatura constante de 22°C, com umidade relativa do ar em torno de 60% e exaustão de ar automática, luz artificial em um ciclo alternado de claro/escuro de 12 horas (6h-18h).

B) Modelo de desnutrição por dieta normoprotéica associada a proteína de baixa qualidade (gelatina)

Utilizaram-se 60 ratos Wistar, machos, adultos, que receberam dieta especial fornecida pelo departamento de nutrição da FMRP-USP. Assim, 30 dos animais receberam dieta normoprotéica e os outros 30 receberam dieta normoprotéica associada a gelatina (Tabela 1), sendo acompanhados por um mês. Todos ficaram alojados nas mesmas condições do modelo marasmo.

TABELA 1: Composição nutricional das dietas experimentais

Nutrientes	Dietas experimentais (g/1.000g de ração)	
	Nutridos	Desnutridos
Proteína (caseína)	200	50
Gelatina	-	150
Lípido (óleo de soja)	70	70
Carboidrato (amido de milho)	532,5	532,5
Sacarose	100	100
Fibra (celulose)	50	50
Mix mineral	35	35
Mix vitamínico	10	10
Colina	2,5	2,5

Confirmação da desnutrição

No modelo marasmo, após três dias da chegada dos animais ao biotério, avaliou-se seu estado nutricional pela massa corporal em balança digital calibrada e pela dosagem da albumina sérica, realizada no laboratório de nutrição da FMRP-USP e repetida no 60° dia de seguimento.

No modelo gelatina, o estado nutricional foi avaliado da mesma forma que no modelo marasmo, entretanto, no 30° dia de seguimento, devido ao rápido depauperamento dos animais.

COLETA E ANÁLISE HISTOPATOLÓGICAS

Nos modelos marasmo e gelatina, dez animais de cada grupo foram sacrificados e tiveram a pele do dorso biopsiada por *punch* 8mm e fixada em formol tamponado 4%, no 60° e 30° dias, respectivamente. As lâminas histológicas foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) para mensuração da espessura cutânea e tricrômio de Gomori (TG) para análise da colagênese.

Mensuração da espessura da epiderme e da derme

Empregou-se o microscópio óptico Leica®DM 4000B para captura das imagens histológicas no aumento de 400x, fotografando-se, em sequência, cinco imagens da epiderme até o tecido celular subcutâneo. Essas imagens foram agrupadas automaticamente pelo *Photomerge* no *software Adobe Photoshop CS4*. Pelo *software Leica Application Suite (LAS)*, a imagem montada foi calibrada de 242 *pixels* para 50µm. Posteriormente, traçou-se uma linha da camada granulosa da epiderme até a transição com a derme (espessura da epiderme) e desse ponto à transição da derme com o tecido celular subcutâneo (espessura da derme). Ao final do traçado, o *software* forneceu a distância em µm.

Análise da colagênese

As imagens de lâminas histológicas coradas com TG foram capturadas no mesmo microscópio, no aumento de 100x. Definiu-se a região de interesse (ROI) padrão de 500x100 *pixels* e fotografaram-se dez imagens de cada espécime de cada grupo com o programa LAS. Posteriormente, analisaram-se as imagens com o auxílio do *plugin Colour Deconvolution* do *software ImageJ* (U.S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA), que fornece o percentual de coloração azul (colágeno) em cada ROI.¹⁸⁻²²

Análise estatística

A medida das massas corporais, os valores da dosagem de albumina sérica, a espessura da pele e a colagênese foram analisados pelo teste *t* de *Student* e teste de *Mann-Whitney* para comparação entre duas amostras não paramétricas. Considerou-se que os

valores de $p < 0,05$ mostram evidências estatísticas de que há diferença entre os dados em questão.

RESULTADOS

Inicialmente, buscou-se avaliar o poder amostral de 30 ratos por grupo, utilizando-se a massa corporal como principal variável comparativa no estudo e considerando-se suficientemente diferente medida igual a 44g ou maior para uma variância (σ^2) de 3650g, alfa 5% e erro β de 20%.

No modelo marasmo, os animais do grupo desnutrido apresentaram menor massa corporal que os animais do grupo nutrido após 60 dias de acompanhamento, sendo a diferença entre as médias de 294g e $p < 0,0001$ (Figura 1A). A albumina sérica foi semelhante entre os grupos nutrido e desnutrido durante o tempo de avaliação (Figura 1B). Além disso, observou-se que os animais desnutridos apresentaram sinais clínicos típicos da desnutrição, tais como: diminuição do peso e do crescimento, atrofia muscular, unhas quebradiças, queda de pêlos, permanente estado de alerta, agitação intensa e fome.

Quanto à mensuração da epiderme e da derme, a média da espessura da epiderme do grupo nutrido foi estatisticamente semelhante à do grupo desnutrido, porém, em relação à espessura da derme, o grupo desnutrido apresentou espessura estatisticamente menor, em comparação ao grupo nutrido ($p < 0,0001$) (Figuras 2A e 2B). As figuras 2C e 2D evidenciam histologicamente essa diferença de espessura na derme entre os grupos nutrido e desnutrido.

Quanto à colagênese, após 60 dias, avaliada pela análise de imagens coradas pelo TG, o grupo desnutrido mostrou menor percentual de colágeno

em relação ao grupo nutrido, sendo $p < 0,0005$ (Figura 3A). Na análise histológica qualitativa, este último apresentou colágeno mais denso e organizado em comparação com o grupo desnutrido, o qual mostrou colágeno significativamente mais frouxo (Figuras 3B e 3C).

No modelo de desnutrição por gelatina, o poder amostral de 30 ratos por grupo foi definido pela diferença das médias da massa corporal igual a 25g ou maior para uma variância (σ^2) de 657g, alfa 5% e erro β de 20%, confirmado pela diferença encontrada de 116,8g entre os grupos. Os animais desnutridos apresentaram rápida perda da massa corporal, constatada com significativa diferença já no 30º dia em relação aos nutridos, com $p < 0,0001$ (Figura 4A). Os níveis de albumina sérica foram semelhantes entre os grupos após o período de acompanhamento (Figura 4B). Os animais desnutridos pela gelatina apresentaram diminuição de peso, crescimento deficitário, pele mais fina e frágil, letargia e queda de pêlos.

Após o período de 30 dias, a média da espessura da epiderme do grupo nutrido mostrou-se estatisticamente semelhante à do grupo desnutrido; entretanto, no que diz respeito à espessura da derme, a do grupo desnutrido foi menor quando comparada à do grupo nutrido ($p < 0,0001$) (Figuras 5A e 5B). As Figuras 5C e 5D mostram histologicamente essa diferença de espessura na derme entre ambos os grupos.

O grupo nutrido apresentou maior percentual de colágeno, diferentemente, em termos estatísticos, do grupo desnutrido, com $p < 0,003$ (Figura 6A). Na análise histológica qualitativa, o grupo nutrido apresentou área colagênica mais organizada em relação ao grupo desnutrido (Figuras 6B e 6C).

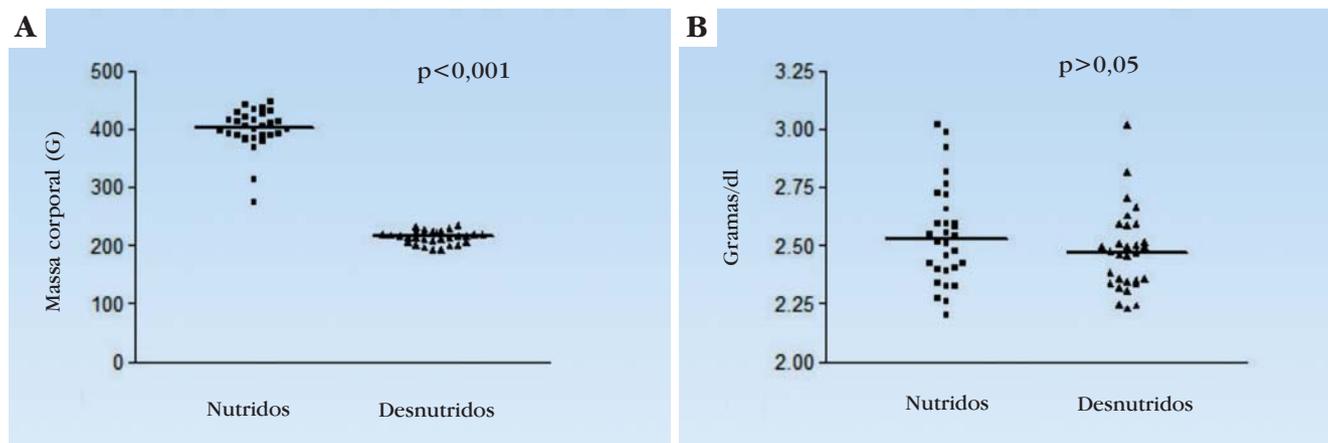


FIGURA 1: Distribuição da massa corporal (g) (A) e valores da albumina sérica (g/dl) (B) dos ratos dos grupos nutrido e desnutrido após 60 dias de seguimento

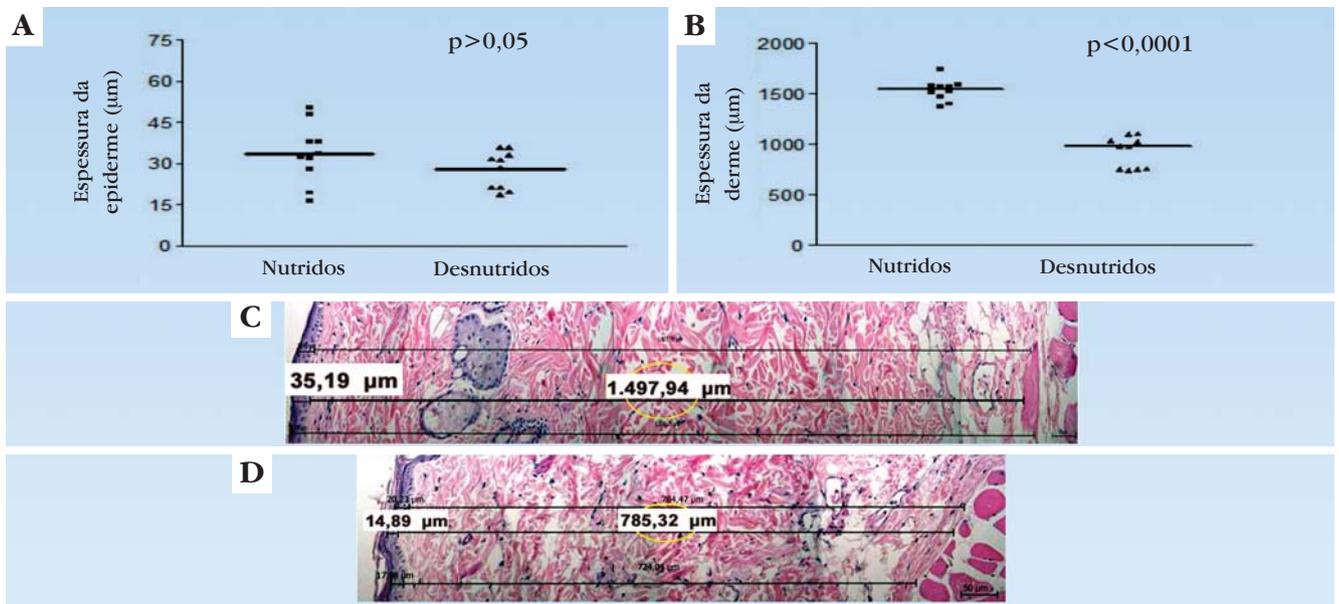


FIGURA 2: Distribuição das espessuras (µm) da epiderme (A) e da derme (B) dos grupos nutrido e desnutrido após 60 dias de acompanhamento e fotomicrografia (HE) da pele dos grupos nutrido (C) e desnutrido (D)

DISCUSSÃO

No modelo marasmo, utilizou-se o modelo de DPE para avaliar os efeitos da desnutrição no tecido cutâneo de ratos Wistar. A indução experimental do marasmo nos ratos pôde ser confirmada pelo peso, além dos sinais clínicos apresentados, corroborando a literatura.^{2,6,8,11,12} Quanto à albumina sérica, os resultados foram semelhantes nos grupos nutridos e desnutridos após 60 dias de acompanhamento, possivelmente, devido à diminuição lenta e tardia dos níveis de albumina no marasmo.^{2,6}

Resultados semelhantes foram encontrados no modelo gelatina, em que se empregou dieta contendo proteína de baixa qualidade. A gelatina apresenta escore de aminoácidos zero, ou seja, ausência de triptofano na proteína, e, na sua deficiência, a conversão para niacina é diminuída, levando a uma supressão do crescimento.^{23,24} Além da ausência de triptofano, a gelatina apresenta hidroxiprolina e glicina, aminoácidos que conduzem a esse mesmo resultado.²⁵ A desnutrição induzida nos ratos pôde ser

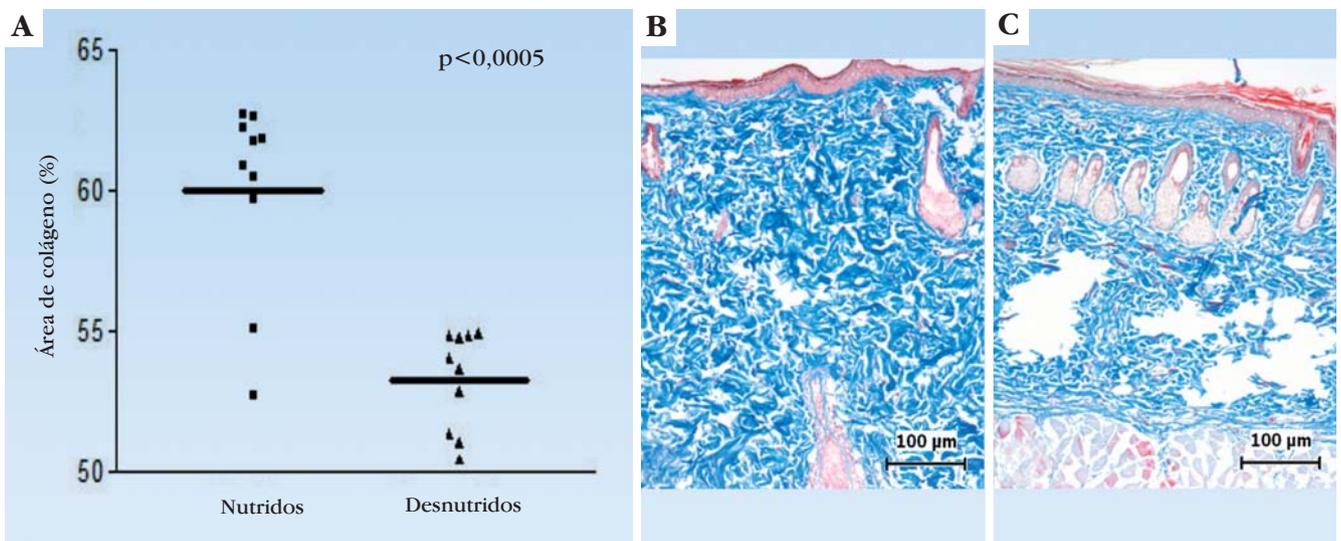


Figura 3: Distribuição do percentual das áreas de colágeno dos grupos nutridos e desnutridos após 60 dias de acompanhamento (A) e fotomicrografia das lâminas coradas por TG (100x), mostrando colágeno denso entre os nutridos (B) e frouxo com presença de espaços artefactuais entre as lâminas dos desnutridos (C)

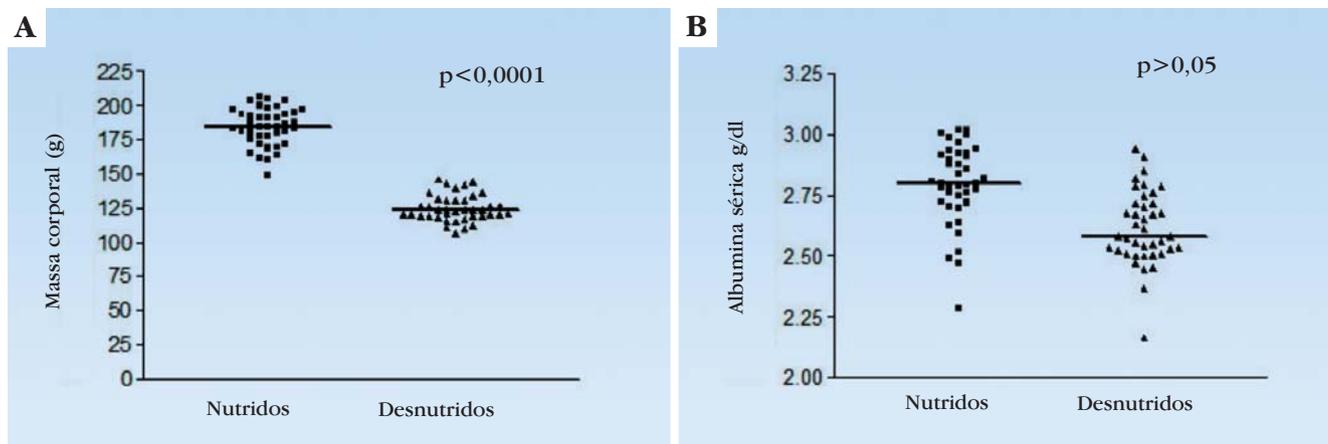


FIGURA 4: Distribuição da massa corporal (g) (A) e valores da albumina sérica (g/dl) (B) dos ratos dos grupos nutrido e desnutrido após 30 dias de seguimento

confirmada pela perda excessiva de peso e consequente déficit de crescimento, bem como por sinais clínicos apresentados pelos animais. Os níveis de albumina sérica foram semelhantes entre os grupos nutridos e desnutridos no período de acompanhamento, provavelmente, devido à ausência do triptofano na gelatina, levando a uma supressão de niacina, de modo que o triptofano presente no organismo passou a ser utilizado na síntese de proteínas endógenas mais importantes, como as proteínas séricas, mantendo os níveis normais.²⁶

Em relação à análise histológica, os grupos desnutridos nos dois modelos apresentaram diminuição no trofismo cutâneo (espessura da

derme) em comparação com os grupos nutridos. Esse fato se confirmou histologicamente pelo menor percentual de colágeno por área cutânea dos grupos desnutridos. O colágeno é a maior proteína estrutural dos seres humanos, sendo três quartos das proteínas presentes na pele. Ele está intimamente ligado à força tênsil e à flexibilidade da pele e é importante no processo de cicatrização. Porém, durante o processo de desnutrição, sua deposição diminui, comprometendo suas funções durante o reparo.^{15,26,27}

Os resultados apresentados pelos dois modelos de desnutrição foram similares, independentemente do modelo utilizado, mostrando a influência negativa da desnutrição no trofismo cutâneo dos animais, o

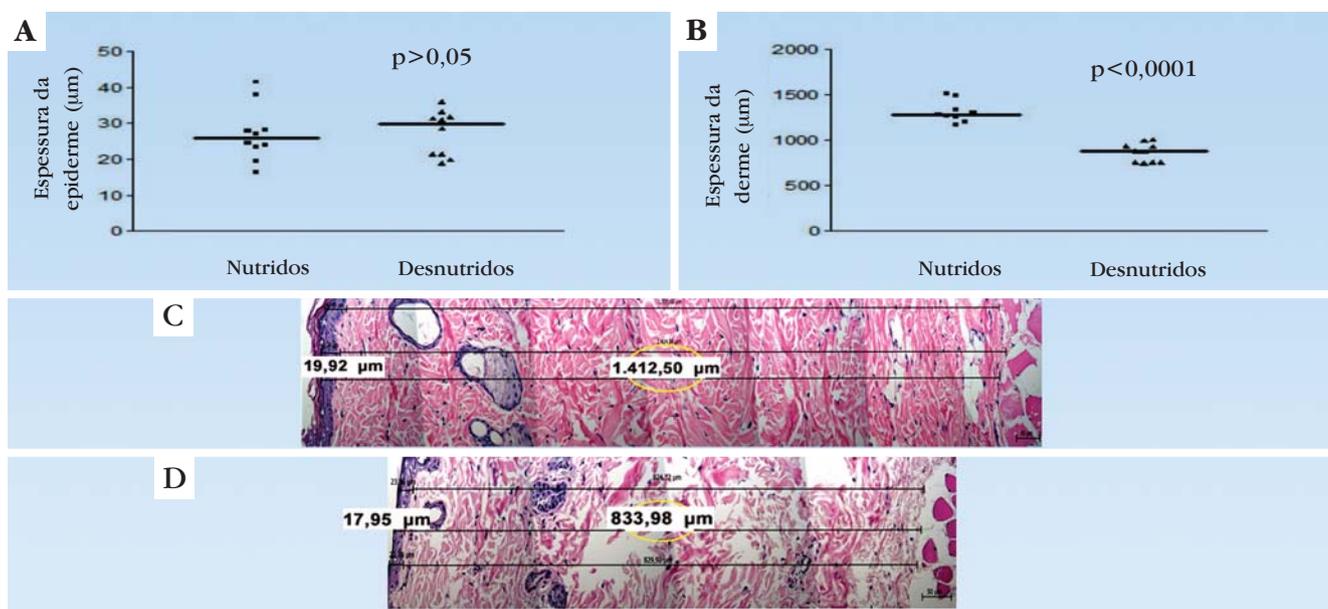


FIGURA 5: Distribuição das espessuras (µm) da epiderme (A) e da derme (B) dos grupos nutrido e desnutrido após 30 dias de acompanhamento e fotomicrografia (HE) da pele dos grupos nutrido (C) e desnutrido (D)

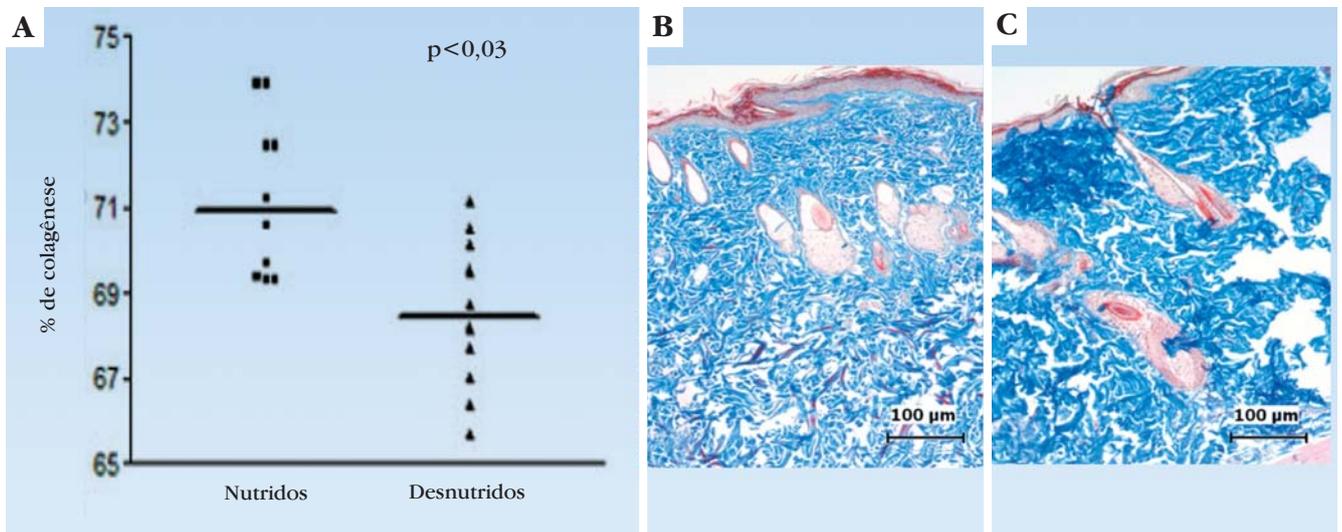


Figura 6: Distribuição do percentual das áreas de colágeno dos grupos nutridos e desnutridos após 30 dias de acompanhamento (A) e fotomicrografia das lâminas coradas por TG (100x), mostrando colágeno denso entre os nutridos (B) e frouxo com presença de espaços artefactuais entre as lâminas dos desnutridos (C)

qual se evidenciou histologicamente pela menor espessura da derme e conseqüente diminuição do percentual de colágeno, podendo retardar o processo de reparação tecidual da pele, como já foi descrito por vários autores.^{2,4-6,11,14,15,26,27}

CONCLUSÕES

Os animais desnutridos, em ambos os modelos experimentais, apresentaram alterações histológicas na espessura dérmica e na colagênese, evidenciando a influência negativa da desnutrição no trofismo

cutâneo em ratos. Os modelos utilizados mostraram-se importantes para o estudo da cicatrização experimental. □

AGRADECIMENTOS

À Sra. Marilena Heredia, pelo suporte técnico, e à Faepa-HC-FMRP/USP e ao CNPq pelos suportes financeiros.

REFERÊNCIAS

- Clark RAF, Gosh K, Tonnesen MG. Tissue engineering for cutaneous wounds. *J Invest Dermatol.* 2007;127:1018-29.
- Waldrop J, Doughty D. Wound healing physiology. In: Baranoski S, Ayello EA. *Wound Care Essentials.* Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 17-27.
- Mendonça RJ, Coutinho-Netto J. Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol.* 2009;84:257-62.
- Thomas DR. Improve outcome of pressure ulcers with nutritional intervention: a review of the evidence. *Nutrition.* 2001;17:121-5.
- Russell L. The importance of patients' nutritional status in wound healing. *Br J Nurs.* 2001;10:S42-S49.
- Mechanick JI. Practical aspects of nutrition for wound healing patients. *Am J Surg.* 2004;188(1A Suppl):52-6.
- Allison SP. Malnutrition, disease, and outcome. *Nutrition.* 2000;16:590-3.
- Müller O, Krawinkel M. Malnutrition and health in developing countries. *CMAJ.* 2005;173:279-86.
- FAO/WHO/UNU. Necessidade de energia y proteína. Série de Informes Técnicos da FAO/WHO/UNU, nº 724. Organización Mundial de la Saúde. Ginebra: Switzerland, 1985.
- Nunes ML, Batista BB, Micheli F, Batistela V. Effects of early malnutrition and nutrition rehabilitation in rats. *J. Pediatr.* 2002;77:39-44.
- International Food Biotechnology Committee - ILSI. Appendix 4: Protein-energy malnutrition. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2008;7:111-2.
- Pinheiro AL, Meireles GC, Carvalho CM, de Barros Vieira AL, dos Santos JN, Ramalho LM. Biomodulative effects of polarized light on the healing of cutaneous wounds on nourished and undernourished Wistar rats. *Photomed Laser Surg.* 2006;24:616-24.
- Neuman RE. The amino acid composition of gelatins, collagens and elastins from different sources. *Arch Biochem.* 1949;24:289-98.
- Sanahuja JC, Harper AE. Amino acid balance and imbalance XII. Effect of amino acid imbalance on self-selection of diet by the rat. *J. Nutr.* 1963;81:363-71.
- Van Den Broeck J, Eeckels R, Vuylsteke J. Influence of nutritional status on child mortality in rural Zaire. *Lancet.* 1993;341:1491-5.
- Mackay D, Miller AL. Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev.* 2003;8:359-77.
- Frade MAC, Cursi IB, Andrade FF, Soares SC, Ribeiro WS, Santos SV, et al. Úlcera de perna: Um estudo de caso em Juiz de Fora - MG (Brasil) e região. *An Bras Dermatol.* 2005;80:41-6.
- Minatel DG, Enwemeka CS, França SC, Frade MAC. Fototerapia (LEDs 660/890nm) no tratamento de úlceras de perna em pacientes diabéticos: estudo de caso. *An Bras Dermatol.* 2009;84:279-83.
- Papadopulos F, Spinelli M, Valente S, Foroni L, Orrico C, Alviano F, Pasquinelli G. Common tasks in microscopic and ultrastructural image analysis using Image. *J. Ultrastruct. Pathol.* 2007;31:401-7.
- Caetano KS, Frade MA, Minatel DG, Santana LA, Enwemeka CS. Phototherapy improves healing of chronic venous ulcers. *Photomed. Laser Surg.* 2009;27:111-8.
- Caetano KS, Minatel DG, Santana LA, Enwemeka CS, Frade MA. Eficácia da fototerapia associada à sulfadiazina de prata no tratamento de úlceras venosas crônicas. *Fisioter Bras.* 2009;10:388-94.
- Minatel DG, França SC, Enwemeka CS, Frade MA. Phototherapy promotes healing of chronic diabetic leg ulcers that failed to respond to other therapies. *Lasers Surg Med.* 2009;41:433-41.
- Henderson LM, Koeppe OJ, Zimmermn HH. Niacin-tryptofhan deficiency resulting from amino acid imbalance in non-casein diets. *J Biol Chem.* 1953;201:697-706.
- Ramarao PB, Norton HW, Johnson BC. The amino acids composition and nutritive value of proteins. V. amino acid requeriments as a pattern for protein evaluation. *J Nutr.* 1964;82:88-92.
- Savage JR, Harper AE. Influence of gelatin on growth and liver pyridine nucleotide concentration of the rat. *J Nutr.* 1964;83:158-64.
- Patel GK. The role of nutrition in the management of lower extremity wounds. *Int J Low Extrem Wounds.* 2005;4:12-22.
- Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: An overview. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(Suppl 7)1e-S-32e-S.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA / MAILING ADDRESS:
Marco Andrey Cipriani Frade
Divisão de Dermatologia do Departamento de
Clínica Médica da Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
Avenida dos Bandeirantes, 3900 - Monte Alegre
14049-900 Ribeirão Preto – São Paulo – SP
E-mail: mandrey@fmrp.usp.br

Como citar este artigo/How to cite this article: Leite SN, Jordão AA, Andrade TAM, Masson DS, Frade MAC. Modelos experimentais de desnutrição e sua influência no trofismo cutâneo. *An Bras Dermatol.* 2011;86(4):681-8.