SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIA E BIOLOGIA CELULAR

IMPACTO DA MISTURA DE AMARANTO ADICIONADA DE ARROZ NA PROPORÇÃO DE 30/70% SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE DE RATOS DESNUTRIDOS

MARIA AUXILIADORA DE MENEZES

BELÉM

2010

MARIA AUXILIADORA DE MENEZES

IMPACTO DA MISTURA DE AMARANTO ADICIONADA DE ARROZ NA PROPORÇÃO DE 30/70% SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE DE RATOS DESNUTRIDOS

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Ciências Biológica da Universidade Federal do Pará para obtenção do título de Doutor em Biologia Celular.

Orientador: Profº. Dr. José Luiz Martins do Nascimento

Área de Concentração: Biologia Celular

BELÉM

2010

Menezes, Maria Auxiliadora de

Impacto da mistura de amaranto adicionada de arroz na proporção de 30/70% sobre a defesa antioxidante de ratos desnutridos/ Maria Auxiliadora de Menezes. - Belém: Universidade Federal do Pará; 2010.

F: il.

Tese de Doutorado em Neurociência e Biologia Celular
Orientador: Profº Dr. José Luiz Martins do Nascimento

1. Farinha Instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz 2. Dieta de base do Pará (DBR-PA) 3. Desnutrição 4. Estresse oxidativo 5.Enzimas antioxidantes 6.Peroxidação lipídica. Tese. I. José Luiz Martins do Nascimento (Orient.). II. Universidade Federal do Pará. III. Instituto de Ciências Biológicas. Impacto da mistura de amaranto adicionada de arroz na proporção de 30/70% sobre a defesa antioxidante de ratos desnutridos

612-3

MARIA AUXILIADORA DE MENEZES

IMPACTO DA MISTURA DE AMARANTO ADICIONADA DE ARROZ NA PROPORÇÃO DE 30/70% SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE DE RATOS DESNUTRIDOS

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Ciências Biológica da Universidade Federal do Pará para obtenção do título de Doutor em Biologia Celular tendo como Orientador: Profº. Dr. José Luiz Martins do Nascimento na Área de Concentração Biologia Celular

BANCA EXAMINADORA

Profº Dr. Jose Luiz Martins do Nascimento- Orientador ICB/UFPA

Profª Dra. Gilmara de Nazareth Tavares Bastos- Membro ICB/UFPA

Profª Dra. Maria da Conceição Pinheiro do Nascimento ICS /UFPA

Profª Dra Antônio Castro de Oliveira- Membro ICS/UFPA

Profª Dra Eliete Cunha de Araújo- Membro ICS/UFPA

Defesa: / / 2010

Conceito_____

*Aos meus amados e queridos filhos **Aline**, **Antonia** e **Arthur** e ao meu querido e amado neto **Gabriel***

AMO MUITO VOCÊS!

Aos meus irmãos por acreditarem no meu sucesso profissional.

AMO VOCÊS!

*A minha cunhada **Denise** pelo apoio em todos os momentos*

MINHA ADMIRAÇÃO ETERNA

A VOCÊS, DEDICO ESTE TRABALHO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus** e ao **Nosso Senhor Jesus Cristo** por tudo que sou e tudo que tenho.

Em especial a **Universidade Federal do Pará,** por tudo que sou profissionalmente

Ao professor **Dr. José Luiz Martins do Nascimento**, mais que um orientador, um amigo, pela paciência durante toda a orientação deste trabalho, pelo apoio e compreensão. Meu muito obrigado e eterno respeito.

Ao professor **Dr. Anderson Herculano,** pelas valiosas contribuições durante o tempo de realização das dosagens das enzimas

Ao Dr. Manoel Ayres por todo apoio no tratamento estatístico dos resultados.

Ao pessoal técnico do Laboratório de Patologia da UFPA, pela colaboração na confecção das Lâminas Histológicas.

Ao **Dr. Paulo Azevedo** pelo apoio logístico das dosagens Bioquímicas

A Bibliotecária do ICS, **Vilma Costa Bastos**, pelas orientações durante a revisão bibliográfica e valiosa ajuda sempre que necessária.

As professoras **Dra. Marília de Souza Araújo**, **Dra. Gilmara de Nazareth Tavares Bastos** e Dra. Xaene Maria Fernandes Duarte Mendonça pelas valiosas sugestões no exame de qualificação.

A Sra. **Lizete** funcionária do Laboratório de Técnica e Dietética da Faculdade de Nutrição, pela colaboração na confecção das dietas.

Ao secretário da Pós graduação do ICS, Sr. **Everaldo Gama**, que mais do que um secretário foi um grande amigo, por sua ajuda tanto profissional quanto pessoal.

A grande amiga e companheira dos momentos mais difíceis Profª Ms.**Amélia Fadul Bitar** pelas orientações metodológicas na elaboração do projeto e da tese, e principalmente pela ajuda emocional que tanto aliviaram nas horas de desânimo.

A técnica do Laboratório de Neuroquímica, a Srta. **Neidiane,** pelo apoio nas preparações das amostras de sangue.

Aos **doutorandos, mestrando** e **estagiários** de iniciação científica do Laboratório de Neuroendócrino pelo apoio durante as preparações do material para as dosagens bioquímicas.

Aos secretários da Faculdade de Nutrição, **Leônia Azevedo, Fátima Campos, Rita Tavares, Eurico** e a estagiária **Ruth Rosário**, por toda ajuda prestada quando das cópias de artigos

Aos colegas, **Denise Pastana, Socorro Oliveira e Edson Raiol,** pela colaboração durante a fase experimental

Ao Sr. **Amarildo** Bioterista do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA, pela ajuda incansável no acompanhamento dos animais.

E em especial a Dra. **Xaene Mendonça** pela disponibilidade de elaboração da Farinha Instantânea de Amaranto, sem a qual esse trabalho não teria sido realizado.

Aos amigos nutricionistas do Hospital Universitário João de Barros Barreto, Aldair **Gutierrez, Rosileide Torres**, **Ana Faillace, Maura Lopes, Jucileide** e todos aqueles que direto ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Em especial as residentes de Oncologia em Nutrição do Programa de Residência Multiprofissional em Saúde da UFPA, **Gilvana e Thaiana**

MUITO OBRIGADA A TODOS!

“A sabedoria é uma construção sólida, única, na qual cada parte tem seu lugar e deixa sua marca.” (Michel de Montaigne)

RESUMO

A desnutrição, altamente prevalente em países em desenvolvimento, é um mau antigo que aflige a humanidade. Apresenta-se como um estado de deficiência alimentar, com déficit global de proteínas e calorias, provocando menor aporte de nutrientes às células. Alguns estudos têm mostrado evidências de interação entre desnutrição e estresse oxidativo, ocasionado pelo acúmulo de espécies reativas de oxigênio que causam danos à estrutura das biomoléculas em decorrência da desregulação entre a produção de oxidante e a depleção das defesas antioxidantes. Nesse estudo foi avaliada a utilização da farinha instantânea de amaranto adicionada de arroz na proporção de 30/70% como suplemento alimentar da dieta de base do paraense usada como modelo de indução da desnutrição experimental em ratos sobre o estresse oxidativo dos animais desnutridos comparados aos controles e aos tratados com a dieta suplementada. A dieta modelo de desnutrição (DBR-PA) foi confeccionada respeitando-se as quantidades dos alimentos consumidos rotineiramente pela população do Pará, segundo inquérito alimentar realizado na década de 70 por pesquisadores da Universidade Federal do Pará, enquanto que, a dieta utilizada como tratamento foi elaborada adicionando-se a DBR-PA 30% da farinha de amaranto. As análises da composição centesimal e o perfil de aminoácidos foram realizados de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (1995) e por espectrofotometria atômica. A dieta controle foi utilizada na forma que é comercializada. Para realização do estudo utilizou-se animais no pós parto imediato de mães alimentadas na gestação com dieta controle para ratos (22% de proteínas), com peso mínimo de 6 g ao nascer. No pós parto imediato as ratas mães foram divididas em 3 grupos a saber: grupo controle (22% de proteínas); grupo desnutridos (DBR-PA contendo 7,8% de proteínas) grupo 3 tratados (DBR-PA+AA) suplementada com a farinha instantânea de amaranto contendo 11,33%). No pós desmame os animais foram separados e em gaiolas individuais receberam a dieta materna específica de cada grupo até os 60 dias de vida, quando foram sacrificados e realizada a coleta de sangue para as dosagens bioquímicas (colesterol total e frações, valores hemogramas (hematimetria, leucograma e plaquetas), níveis de peroxidação lipídica e atividade da catalase. Após a coleta do sangue os animais foram submetidos à exerese do fígado para posterior análise histopatológica. Os resultados revelaram que a dieta indutora da desnutrição é um modelo de desnutrição grave comum na região norte, é hipoproteica, normocalórica, com aminoácido limitante (metionina), promoveu perda de peso nos animais desde o período de aleitamento com acentuado perda de peso nas ratas mãe e nos filhotes aos desmame (21 dias), aos 28 e 60 dias de vida (p <0,05) quando comparados aos animais tratados com amaranto e aos controles. A dieta suplementada com a farinha extrusada de amaranto promoveu ganho de peso no período do aleitamento tanto nas ratas mães (p<0,05) como nos filhotes a partir do 14º dias de uso da mesma (p<0,05), aos 21 dias (desmame)(p<0,05) aos 28 (p< 0,05)e 60º dias de vida (p<0,05). Os animais desnutridos consumiram mais dieta em todos os momentos avaliados quando comparados aos tratados e controles (p<0,05). Não foi observada diferença entre os grupos nos valores bioquímicos de hematimetria, leucograma, plaquetas, colesterol total e frações. Os níveis de peroxidação lipídica não apresentaram diferença estatística entre os grupos. A atividade da catalase foi maior no grupo tratado com a suplementação da farinha de amaranto quando comparado aos desnutridos.Os animais tanto os tratados com amaranto como os desnutridos apresentaram esteatose hepática e processo inflamatório dos hepatócitos.O estudo mostrou que a desnutrição imposta não ocasionou estresse oxidativo, porém a diminuição da atividade da catalase nos animais desnutridos pode ter sido ocasionado pela diminuição da síntese da catalase.

Palavra chave: Desnutrição; catalase; peroxidação lipídica; estresse oxidativo.

ABSTRACT

Malnutrition was highly prevalent in developing countries, is an ancient evil that afflicts humanity, presents itself as a state of nutritional deficiency, with an overall deficit of calories and proteins, causing a lower supply of nutrients to cells. Some studies have shown evidence of interaction between malnutrition and oxidative stress caused by accumulation of reactive oxygen species that cause damage to the structure of biomolecules due to the deregulation of the production of oxidants and depletion of antioxidant defenses. In this study we evaluated the use of instant amaranth flour added rice at a ratio of 30/70% as a food supplement in the diet base used as a model of Para Induction of malnutrition in rats on oxidative stress in malnourished animals compared to controls and treated with supplemented diet. The model of malnutrition diet (RBD-PA) was made respecting the quantities of food consumed routinely by the population of Pará, the second dietary survey carried out in the 70's by researchers at the Federal University of Pará, whereas the diet used as a treatment was prepared by adding the DBR-PA 30% of amaranth flour. The results of proximate composition and amino acid were performed in accordance with the standards of the Institute Adolfo Lutz (1995) and by atomic spectrophotometry. The control diet was used as it is available. For the study animals in the immediate postpartum mothers fed with control diet during pregnancy to rats (22% protein) with a minimum weight of 6 g at birth in the immediate postpartum mother rats were divided into three groups: Group control (22% protein); malnourished group (RBD-PA containing 7.8% protein) 3 treated group (RBD-PA + AA) supplemented with amaranth flour instant containing 11.33%). In the post weaning the animals were separated into individual cages and received specific maternal diet of each group until 60 days old when he was done and sacrificed to collect blood for biochemical testing (total cholesterol and fractions, values, blood counts (red blood cells, WBC and platelet counts), levels of lipid peroxidation and catalase activity. After blood collection the animals underwent liver resection for posterior histopathological analysis. The results revealed that the diet induces malnutrition is a model of severe malnutrition in the region eat north, is hipoproteic, normocaloric with limiting amino acid (methionine), has promoted weight loss in animals from the period of lactation with marked weight loss in rats and mother in the weaning pups (21 days), 28 and 60 days old ($p < 0.05$) compared to animals treated with amaranth and controls. The diet supplemented with amaranth flour extruded promoted weight gain during the period of breastfeeding mothers in both rats ($p < 0.05$) in the puppies as apartir the 14th day of using the same ($p < 0.05$) at 21 days (weaning) ($p < 0.05$) to 28 ($p < 0.05$) and 60th days of life ($p < 0.05$). Malnourished animals consumed more diet at all times evaluated and treated when compared to controls ($p < 0.05$). There was no difference between groups in biochemical values of red blood cells, WBC, platelets, total cholesterol and fractions. levels lipid peroxidation did not differ between groups. Catalase activity was higher in the group treated with supplementation of amaranth flour when compared to both desnutridos.Os animals treated with amaranth as the undernourished have hepatic steatosis and inflammation in hepatocytes. The study revealed that malnutrition imposed did not cause oxidative stress, however, the decrease of catalase activity in malnourished animals may have been caused by decreased synthesis of catalase.

Key words: disnutrition; catalasis lipidic; perioxidation; oxidative stress.

LISTA DE FIGURA

Figura I. Principais alterações celulares geradas pelo estresse oxidativo. 40

Figura II, Fluxograma de elaboração da farinha instantânea extrusada de amaranto adaptada de MENDONÇA (2005) 57

Figura III. Peso das ratas mães durante o período de gestação. 80

Figura IV. Peso das ratas mães durante o período de Aleitamento. 81

Figura V Evolução ponderal das ratas mães durante os 14 dias de aleitamento. 82

Figura VI. Evolução ponderal dos filhotes do nascimento ao desmame. 83

Figura VII.. Peso dos animais no final do aleitamento. 84

Figura VIII. Peso dos animais aos 28 dias de dieta no pós aleitamento. 84

Figura IX. Peso dos animais aos 60 dias de dieta no pós aleitamento. 85

Figura X. Evolução do consumo das ratas mães durante a gestação. 86

Figura XI. Evolução do consumo das ratas mães durante os primeiros 14 dias de aleitamento. 87

Figura XII. Evolução do consumo das ratas mães durante 21 dias de aleitamento 88

Figura XIII. Avaliação do consumo das dietas dos animais do desmame aos 28 dias de vida. 89

Figura XIV. Avaliação do consumo das dietas dos animais do desmame aos 60 dias de vida. 90

Figura XV**.** Perfil de lipídios dos animais aos 60 dias de dieta. 93

Figura XVI**.** Análise da atividade da enzima Catalase dos grupos desnutridos, tratados e controle. 94

Figura XVII. Análise da Peroxidação lipídica dos grupos desnutridos e tratados aos 60 dias de dieta. 94

Figura XVIII. Hepatócito sem alterações dos animais controle 96

Figura XIX. Grupo desnutrido hepatócito com esteatose macrogoticular acentuada(MO 10X) 96

Figura XX. Hepatócito do grupo tratado com amaranto sem alterações. (MO 40X) 97

Figura XXI. Hepatócito de animais tratados com amaranto com tumefação turva.(MO 60X. 97
Figura XXII. Hepatócito de animais tratados com amaranto com necrose e infiltrado focal. (MO) 98
Figura XXIII. Peso médio e Erro padrão em gramas do fígado dos animais dos grupos aos 60 dias de dieta 99

LISTA DE TABELAS

Quadro 1. Demonstrativo do procedimento experimental referente ao tratamento nutricional durante as fases de gestação, lactação e pós desmame. 63

Tabela I- Composição centesimal 75

Tabela II. Composição da dieta controle- 76

Tabela III- Perfil de aminoácidos das dietas 77

Tabela IV - Valores de Lactância 78

Tabela V- Coeficiente de eficácia alimentar (CEA) 79

Tabela VI- Escore Químico 80

Tabela VII. Valores médios hematológicos (Eritrograma e Plaquetas) em função dos diferentes tratamentos 91

Tabela VIII**.** Valores médios hematológicos (Leucograma) em função dos diferentes dietas. 92

LISTA DE SIGLAS

AACC- American Association of Cereal Chemists

AIN- American Institute of Nutrition

ANOVA- Análise de Variância

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - Association of Official Analytical Chemists -

CAT- catalase

CEA- Coeficiente de Eficiência Alimentar

CHCM- Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CNS- Conselho Nacional de Saúde

DBR PA+ AA- Dieta de base do Pará suplementada da farinha extrusada de amaranto adicionada de arroz na proporção 30/70%.

DBR-PA- Dieta de Base do Paraense

DNA- Ácido Desoxirribonucleico.

DOU- Diário Oficial da União

DPC- Desnutrição Protéico-calórica

DPE- Desnutrição Protéica Calórica

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Agroindústria de Alimentos

CPAC- Cerrado do Planalto Central

ENDEF- Estudo Nacional sobre Despesa Familiar

EQ- Escore Químico

EROS- Espécies Reativas de Oxigênio

FAO- Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação

GPx- glutationa peroxidase

GSH- Glutationa Reduzida

H_2O_2- Peróxido de Hidrogênio

HCM- Hemoglobina Corpuscular Média

HDLc- lipoproteínas de alta densidade

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IOM- Committee on Dietary Allowances

IPEA- Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada

LDLc - lipoproteínas de baixa densidade

LEAAL- laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos

LH- ácido graxo poliinsaturado

LTD- Laboratório de Técnica e Dietética

MS- Ministério da Saúde

NO- Óxido Nítrico

NUVILAB- CR1- Dieta Controle

O_{2-} Ânion Superóxido,

O_2 Radical Superóxido

OH- Radical Hidroxila

OMS- Organização Mundial da Saúde

ONU- Organização das Nações Unidas

PER (*Protein Effiency Ratio* Eficiência Protéica

PNDS- Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde

PNUD- Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento

POF- Pesquisa Orçamentária das Famílias

RL- radical lipídico

RLS- Radicais Livres

RNA - Ácido Ribonucleico

RO- Alcoxil

ROO- Peroxil

ROO- Radical Peroxila

ROOH- Hidroperóxidos Lipídicos

SOD- Superóxido Dismutase

UNICEF- Fundo das Nações Unidas para a Infância

USP – Universidade de São Paulo

VCM –Volume Corpuscular Médio

VL- Valor de Lactância

VLDL- Lipoproteinas de Muito Baixa Densidade

WHO/FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO **21**

2. OBJETIVOS **24**

2.1. OBJETIVO GERAL 24

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 24

3. REVISÃO DA LITERATURA **25**

3.1. CONCEITOS DE DESNUTRIÇÃO 25

3.2. A DESNUTRIÇÃO COMO PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA 26

3.3. EPIDEMIOLOGIA DA DESNUTRIÇÃO 28

3.4. TIPOS DE DESNUTRIÇÃO 30

3.5. ALTERAÇÕES FISIOPATOLÓGICAS DA DESNUTRIÇÃO 33

3.6. REPERCUSSÕES HEPÁTICAS NA DESNUTRIÇÃO 36

3.7. DESNUTRIÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO 38

3.8. SUPLEMENTO DA DIETA COTIDIANA COMO ALTERNATIVA ALIMENTAR 46

3.9. AMARANTO CRUENTUS 50

3.10. QUIRERA DE ARROZ 55

3.11. PROCESSO DE EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA 56

3.12. FARINHA INSTANTÂNEA DE AMARANTO EXTRUSADA COM QUIRERA DE ARROZ NA PROPORÇÃO 30/70% 57

3.13. MODELO EXPERIMENTAL DE DESNUTRIÇÃO 58

4. MATERIAL E MÉTODOS **60**

4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 60

4.2. AMOSTRA 61

4.3. COMPOSIÇÃO DAS NINHADAS 61

4.4. DIETAS UTILIZADAS 63

4.4.1. C**ontrole (CR1 - Nuvilab) 63**

4.4.2. Dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) 64

4.4.3. Dieta teste (DBR-PA + Farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção 30/70%. 64

4.5. ENSAIO BIOLÓGICO 65

4.5.1. Avaliação do valor biológico das dietas 65

4.5.2. Valor de Lactância (VL) 65

4.5.3. Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA) 66

4.6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA PROTEÍNA 66

4.6.1. Escore Químico (EQ) 66

4.7. CONFECÇÃO DAS DIETAS 66

4.7.1. Confecção da dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) 67

4.7.2. Confecção da dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) (DBR-PA+AA) 68

4.7.3. Preparo da Farinha Instantânea extrusada de Amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção de 30/70% 68

4.7.4 Caracterização química da farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção de 30/70% 69

4.7.4.1. Umidade 69

4.7.4.2. Proteína Bruta 69

4.7.4.3. Cinzas 70

4.7.4.4. Extrato etéreo 70

4.7.4.5. Amido 70

4.7.4.6. Carboidrato 70

4.7.4.7. Perfil de aminoácidos 71

4.8. DOSAGENS BIOQUÍMICAS 71

4.8.1 Dosagens de fatores determinantes do estresse oxidativo 71

4.8.1.1. Atividade Enzimática da Catalase 71

4.8.1.2. Medida da Peroxidação Lipídica. 72

4.9. ANÁLISE HEMATOLÓGICA (ERITROGRAMA e LEUCOGRAMA 72

4.10. ANÁLISE DO PERFIL LIPÍDICO 73

4.11. AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO POR MICROSCOPIA ÓPTICA 73

4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA 73

5. RESULTADOS 74

5.1. DIETAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO 74

5.1.1. Composição centesimal das dietas 74

5.1.2. Perfil de aminoácidos 76

5.2. ENSAIO BIOLÓGICO 78

5.2.1. Valor de Lactância (VL) 78

5.2.2. Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA) 79

5.3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE PROTÉICA 79

5.3.1. Escore Químico 79

5.4. AVALIAÇÃO PONDERAL 80

5.4.1. Peso das ratas mães na gestação e no aleitamento 80

5.4.1.1. Peso na Gestação 80

5.4.1.2. Peso no aleitamento 81

5.4.2. Peso dos filhotes no aleitamento 82

5.4.3. Peso dos filhotes pós desmame 84

5.5. CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS 86

5.5.1. Consumo materno **86**

5.5.1.1. Consumo na gestação 86

5.5.1.2. Consumo nos 14º dias de aleitamento 86

5.5.1.3. Consumo das dietas nos 21 dias de aleitamento 87

5.5.2. Consumo dos filhotes **88**

5.6. AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS 90

5.6.1. Hemograma **90**

5.6.2. Leucograma **91**

5.6.3. Perfil lipídico **92**

5.6.4. Avaliação do Estresse Oxidativo **93**

5.6.4.1. Atividade da catalase (CAT) 93

5.6.4.2. Níveis de peroxidação Lipídica 94

5.6.5. Avaliação histopatológica do fígado **95**

6. DISCUSSÃO **100**

7. CONCLUSÃO **118**

Bibliográficas **119**

APÊNDICE

ANEXO

1. INTRODUÇÃO

Desnutrição energético-protéica é um mal que aflige cronicamente a humanidade. A Organização das Nações Unidas (ONU) vem apresentando dramáticas estatísticas sobre a situação alimentar no mundo, destacando que 146 milhões de pessoas na América Latina, Ásia e África, sofrem de desnutrição crônica. O Brasil não é exceção dentro desta situação mundial. A desnutrição afeta principalmente faixas mais susceptíveis: gestantes, lactentes, crianças e idosos (ONU, 2009).

Ainda que os índices de desnutrição no País tenham melhorado, o Brasil é um país com grande índice de pessoas abaixo do nível da pobreza segundo o Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA, 2009), principalmente quando se observa as diferenças regionais, pois ainda persistem as desigualdades que penalizam especialmente as populações do Norte e Nordeste. Embora, esforços do Governo tenham conseguido baixar significativamente as taxas de mortalidade infantil nas duas regiões, elas ainda estão distantes da meta do milênio que é de reduzir a 15 o número de mortos em cada grupo de mil crianças de até um ano de idade no Nordeste e na Amazônia Legal segundo a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher- PNDS (PNDS, 2009).

A desnutrição origina-se principalmente devido à deficiência ou ausência de macronutrientes e ou micronutrientes. Pode ser conseqüência da ingestão inadequada de nutrientes para suprir as necessidades diárias, excreção excessiva ou absorção deficiente. Dentre os diversos tipos de desnutrição, a desnutrição protéica energética (DPE) é a que atinge uma maior quantidade de indivíduos e com maior gravidade, sendo considerado um dos principais problemas mundiais de Saúde Pública. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que mais de 50% das crianças que vão a óbito no mundo a cada ano são vítimas da DPE (MS, 2010).

A DPE é caracterizada por uma ingestão de proteínas e calorias inferior à necessidade diária, acarretando comportamento anoréxico desencadeado como uma tentativa fisiológica de conter o balanço nitrogenado e calórico negativo que se instala. Esse quadro leva a um consumo menor de alimento, perda de peso e, devido à fragilidade do sistema imunológico, pode levar à morte. Estudos têm demonstrado que indivíduos com restrição protéica estão susceptíveis ao estresse oxidativo devido à

diminuição de antioxidantes e a alta vulnerabilidade a processos infecciosos. Aumento no estresse oxidativo pode levar a modificações estruturais irreversíveis em biomoléculas importantes e desse modo produzir processos patológicos decorrentes da DPE (PRADA, 2005; FRANÇA, 2009).

Diante da problemática da desnutrição em nosso meio considerando dados epidemiológicos no estado do Pará, aliado a inexistência de estudo atual sobre o real consumo alimentar da população paraense e sabendo-se da mortalidade em menores de 5 anos (ONU, 2010), procurou-se inicialmente fazer um estudo experimental que mimetizasse as condições da dieta de base do paraense e com isso obter um modelo de dieta, a qual foi denominada em nossos estudos de dieta de base do paraense (DBR-PA), que reproduzisse, no rato, carências dietéticas qualitativas e quantitativas prevalente no Pará (MENEZES *et al*., 1995). Esses estudos foram baseados no único inquérito de consumo alimentar realizado no estado do Pará (JORGE JOÃO *et al*., 1979). A partir daí, selecionou-se os alimentos identificados no estudo segundo as seguintes características: maior consumo, maior freqüência, menores oscilações de oferta de mercado, menor custo e/ou serem preferencialmente incluídos na refeição mais substancial. O consumo médio per capita dos alimentos selecionados foi registrado em gramas: feijão Jalo (*Phaseolus vulgaris*); pirarucu e/ou outro peixe salgado (*Arapaima gigas*); farinha de mandioca (*Manioc esculenta*) e Açaí (*Euterpe olerácea*, Mart). Estes alimentos foram cozidos, dessecados em estufa a 60/70ºC e moídos, com exceção da mandioca e do açaí. Os resultados obtidos desse trabalho mostraram que a DBR-PA foi capaz de alterar o metabolismo glicídico e promover alterações histopatológicas do fígado, pâncreas e absorção intestinal dos alimentos (MENEZES, 1995).

Considerando os resultados obtidos naquele trabalho e a necessidade de se buscar alimentos alternativos capazes de oferecer uma suplementação na dieta cotidiana que atenda à demanda nutricional, que seja de uso habitual, com potencial nutricional elevado e que satisfaça todas as exigências toxicológicas, buscou-se em nosso modelo experimental de desnutrição, escolher um alimento alternativo de suplementação alimentar que satisfizesse todas essas condições. O *amaranto cruentus* (Amaranto) foi o pseudocereal escolhido por apresentar alto potencial nutricional e por satisfazer todas as exigências nutricionais, além disso, esse pseudocereal pode vir a ser uma cultura valorizada sucessivamente integrada aos sistemas de cultivo tradicionais e modernos, em diversas regiões do mundo e do Brasil, por ser de fácil cultivo, e está dentre os grãos

mais pesquisados, e ainda por sua utilização agrícola em solo brasileiro pela EMBRAPA – CPAC- Cerrado do Planalto Central, Planaltina – DF. Já existe também toda uma tecnologia da extrusão termoplástica com o objetivo de produção da farinha, que é um processo contínuo, realçando a possibilidade de combinações de farinhas mistas com alto poder de digestibilidade, além de agregar valor nutricional (SÉBIO, 1996; MENDONÇA, 2005).

Apesar das demonstrações do conteúdo de nutrientes especialmente da proteína, vitaminas e dos minerais do amaranto, relatados em vários estudos (MENDONÇA, 2005; AMAYA-FARFAN *et al*, 2005; ASCHERIO *et al*., 1992) são quase inexistentes estudos experimentais na literatura com aplicação do amaranto sobre o estresse oxidativo em desnutridos.

Com base no que foi apresentado, este trabalho teve como objetivo geral estudar como modelo de desnutrição experimental em ratos, imposta pela dieta de base do paraense (DBR-PA) de baixa renda a influência da suplementação com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção de 30/70 sobre o estresse oxidativo.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar os efeitos da dieta de base do paraense de baixa renda utilizada como modelo de indução de desnutrição suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção 30/70% sobre o estresse oxidativo imposto pela desnutrição experimental em ratos.

2.2. ESPECÍFICOS

1 Estudar os efeitos da dieta de base do paraense de baixa renda (indutora da desnutrição) suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz sobre o comprometimento do peso de ratos;

2. Verificar os efeitos da dieta indutora da desnutrição (dieta de base do Pará) suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz sobre as dosagens hematológicas e comparar nos grupos experimentais;

3. Avaliar os efeitos da dieta indutora da desnutrição (dieta de base do Pará) suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz sobre o perfil lipídico e comparar aos grupos experimentais;

4. Avaliar os efeitos da dieta indutora da desnutrição (dieta de base do Pará) suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz sobre o fígado e comparar entre os grupos experimentais;

5. Avaliar a medida de peroxidação lipídica de ratos desnutridos experimentalmente pela dieta de base do Pará suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz e comparar entre os grupos experimentais;

6. Investigar o efeito da dieta de base do Pará suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz sobre a atividade da catalase em ratos desnutridos comparados aos grupos experimentais.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. CONCEITOS DE DESNUTRIÇÃO

Importantes evidências sugerem que a má nutrição afeta a saúde, a sobrevivência, o crescimento, a morbidade, a mortalidade, o desenvolvimento cognitivo, a reprodução, a capacidade física e aumenta os riscos de doenças crônicas nos adultos (PELLETIER; FRONGILLO, 2003).

Não existe consenso em relação às conceituações das alterações do estado nutricional. Alguns autores utilizam o termo desnutrição para indicar as carências nutricionais; outros preferem termos como subnutrição ou má nutrição (PEREIRA, 2005). Outros já utilizam os termos desnutrição, subnutrição ou carência nutricional, como um mesmo sentido e utilizam má nutrição com outra conotação (MARCONDES *et al*., 2008; ELIA, 2000).

Para ALLISSON (2000), má nutrição seria um termo abrangente, usado para descrever qualquer alteração nutricional, seja desordem associada a doenças, causada por excesso ou escassez de alimento ou pelo desbalanceamento nutricional de um ou mais macro ou micronutrientes.

A Organização Mundial de Saúde (FAO/OMS) define desnutrição energético-protéica primária, um tipo de má nutrição, como “uma variedade de condições patológicas, decorrentes de deficiências de energia e proteínas em variadas proporções que atingem preferencialmente as crianças, sempre agravadas pelas infecções repetidas” (MARCONDES *et al*., 2008).

O mesmo autor que definiu má nutrição como sendo um termo usado para qualquer alteração nutricional descreve desnutrição, como sendo uma alteração mais ampla, que serve para quadros primários ou secundários a outras doenças: “estado de deficiência de energia, proteína ou outro nutriente específico, que acarreta uma alteração mensurável na função corporal e que se associa à piora de doenças, podendo ser revertida com suporte nutricional adequado” (ALLISON, 2000).

O termo desnutrição energético-protéica é o termo adotado pela FAO/OMS, desde 1975, para designar essa síndrome. A expressão protéico-calórica foi abandonada, para evitar confusão com o termo caloria, que designa unidade de energia e que tem sido substituído pelo joule (MARCONDES *et al*., 2008).

Desnutrição energético-protéica caracteriza-se por um menor aporte de nutrientes às células em relação às necessidades destas. Afeta fundamentalmente as faixas mais susceptíveis à desnutrição: infância, velhice, gravidez e lactação (ELIA, 2000; DOUGLAS, 2002).

Segundo Gurmini *et al*., (2005) a desnutrição é caracterizada por um desequilíbrio e/ou uma deficiência de nutrientes no organismo. Tais desequilíbrios são frequentemente produzidos pela deficiência relativa de proteínas, carboidratos e gorduras como fontes de energia e micronutrientes. Essas deficiências são seguidas de alterações fisiopatológicas que primeiro traduzem-se em prejuízo funcional e, posteriormente, em danos bioquímicos e físicos. Inicialmente ocorre perda de peso que, quando se torna crônica, é seguida pela parada no crescimento.

3.2. A DESNUTRIÇÃO COMO PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA

A desnutrição na infância, diagnosticada a partir do retardo do crescimento infantil e/ou pela magreza extrema constitui um dos maiores problemas de saúde enfrentado por países em desenvolvimento, estando associada à maior riscos de doenças infecciosas, a mortalidade precoce, ao comprometimento do desenvolvimento psicomotor, menor aproveitamento escolar e a menor capacidade produtiva na idade adulta (MONTEIRO *et al*., 2010).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2010), a desnutrição está entre as maiores ameaças à saúde juntamente com o comportamento sexual de risco, a hipertensão arterial sistêmica, o tabagismo, o alcoolismo, a deficiência de saneamento básico e de água tratada, o colesterol alto, a fumaça procedente da queima de combustíveis sólidos e a carência de ferro na alimentação e obesidade.

A desnutrição é considerada um problema social e de saúde pública devido a sua natureza multicausal. Ocorre quando o organismo não recebe os nutrientes necessários

para o seu metabolismo fisiológico, devido à falta de alimentos relacionada à produção, armazenamento, industrialização, distribuição e custos dos próprios alimentos (SANCHES, 2010); por problema na absorção, podendo também estar relacionada a algumas doenças ou às vezes resultar de fatores desconhecidos (MONTEIRO *et al*., 2010). Por esse motivo, a desnutrição pode ser observada no contexto familiar, cultural e socioeconômico, afetando o estilo de vida da criança (FROTA *et al*., 2007). O principal determinante do estado nutricional é a renda per capita, pois se houver um declínio no crescimento econômico e uma maior taxa de desemprego, a população irá piorar nutricionalmente (FROTA *et al.*, 2007).

A FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação) informou que a barreira de 1 bilhão de pessoas que sofrem de desnutrição foi superada em 2009, em conseqüência da crise econômica mundial (a entidade define como subnutrida a pessoa que ingere menos de 1.800 calorias por dia). O número supera em quase 100 milhões ao do ano anterior e equivale a uma sexta parte aproximadamente da população mundial conforme o Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (PNUD, 2009).

Entre as causas fundamentais da desnutrição destaca-se a falta de conhecimento no que diz respeito aos padrões alimentares, uma vez que a pobreza de conhecimentos é causa relevante da desnutrição infantil. Outro aspecto alusivo à causalidade da desnutrição é o fator cultural, considerando o saber de experiência adquirido no decorrer da vida, transmitida de geração em geração por intermédio da família, escola e igreja (FERREIRA, 2000; FROTA *et al.*, 2004). A desnutrição relaciona-se, ainda, ao desemprego ou subemprego familiar, alimentação carente ou precária, saneamento básico escasso, deficiência na educação para a saúde, assistência básica inexistente e falta de moradia (FROTA *et al*., 2008).

Outro agravante na sociedade moderna é que hoje no meio urbano onde se situam os mercados consumidores dos produtos industrializados, a desnutrição infantil aparece como conseqüência do desmame precoce, influenciada pela ação mercadológica do aleitamento artificial, que invade os lares por meio da propaganda, conseguindo, algumas vezes, a inversão de valores culturais relacionados ao aleitamento materno, comprometendo ainda mais o estado nutricional da criança (FROTA, 2008). A OMS

(2010) reconhece que quatro em cada dez mortes de crianças de até 5 anos no mundo ocorrem no primeiro mês de vida, estando estas diretamente relacionadas à desnutrição, o que faz com que a desnutrição, de acordo com a OMS, seja considerada a terceira principal causa de óbitos de crianças.

3.3. EPIDEMIOLOGIA DA DESNUTRIÇÃO

A desnutrição pode ocorrer como consequência de uma deficiência energética (desnutrição protéico-calórica-DPC) ou de um micronutriente. Seja qual for a causa, ela é considerada um dos fatores mais relevantes de doença e óbito em países em desenvolvimento, afetando particularmente crianças e gestantes (MÜLLER; KRAWINKEL, 2005). Isto ocorre em grande parte por que a desnutrição resulta em imunodeficiência e consequentemente em uma maior susceptibilidade aos agentes infecciosos (PELLETIER *et al*.,1994).

Do ponto de vista epidemiológico, pode-se dizer que as principais características da desnutrição infantil prevalecem em países e setores pobres e incide nos indivíduos biologicamente mais vulneráveis, as crianças menores de cinco anos, e apresenta forte associação com o aumento de taxas de morbimortalidade segundo Fernandes (2003), sendo um dos indicadores mais sensíveis da situação social do país (ESCODA, 2002).

No passado estimava-se que no mundo, mais de um terço das crianças menores de 5 anos sofriam de desnutrição grave ou moderada, sendo que desse, 80% eram asiáticas, 15 % africanas e 5% latino-americanas. Um total de 43% das crianças era de países em desenvolvimento e que poderiam sofrer de desnutrição em algum momento de suas vidas (WHO 2000; FAO/WHO 2004; FAO/WHO 2005).

Hoje, conforme dados da ONU (2009) existe cerca de 146 milhões de crianças menores de 5 anos com desnutrição (comprometimento severo do crescimento e que apresentem emagrecimento extremo) que vivem em países em desenvolvimento, sendo que destes, 29% são na África Subsaariana, 17% no Oriente Médio e África do Norte, 15% na Ásia Oriental e Pacífico. Depois vem a Europa Central e do Leste, com 5%, e outros países em desenvolvimento, com 27%. Atualmente, Cuba é o único país da

América Latina e Caribe que eliminou a desnutrição infantil severa (CARABAJAL, 2009).

Das 852 milhões de pessoas que padecem de fome, 53 milhões delas vivem na América Latina. No Brasil, mesmo passando por importantes transformações econômicas nos últimos 20 anos, ainda é um país com grande índice de pessoas abaixo do nível da pobreza segundo o Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA, 2009).

Em todo o mundo, a desnutrição energético-protéica (DEP) é importante causa de óbito de crianças menores de cinco anos (ONIS *et al*., 2003). Mais de 50% das mortes em crianças com idade entre zero e quatro anos estão associadas com desnutrição (ASHWORTH, 2001). A devastação por ela provocada se estende também aos milhões de sobreviventes que ficam incapacitados, cronicamente vulneráveis a doenças e intelectualmente debilitados segundo o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF, 2009).

No Mundo, a prevalência de desnutrição crônica caiu de 25% em 1990 para 16% em 2010, não alcançando mais relevância epidemiológica no país, segundo conclusão do estudo Saúde Brasil (2008), divulgado pelo Ministério da Saúde (MS, 2010). Atualmente, o Brasil vem melhorando o quadro de desnutrição em quase todas as regiões, visto que houve queda nas variáveis de desnutrição de crianças menores de 5 anos. Os dados revelam que nessa faixa etária, o déficit de peso em relação à altura caiu de 2,5% para 2%, tendo ocorrido o mesmo em relação à idade (MS, 2010).

A taxa de desnutrição em menores de cinco anos caiu de 12,5%, em 2003, para 4,8%, em 2008 - uma queda de 62%. Esses dados levam os pesquisadores da Faculdade de Saúde Pública e do Núcleo de Pesquisas Epidemiológicas em Nutrição e Saúde da USP (São Paulo, SP) a acreditarem que se mantida a taxa anual de declínio (6,3%), em 10 anos, a desnutrição infantil poderá deixar de ser um problema de saúde publica no país segundo a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS, 2009).

Entretanto, ainda persistem as desigualdades que penalizam especialmente as populações do Norte e Nordeste. Embora, os esforços do Governo tenham conseguido baixar significativamente, as taxas de mortalidade infantil nas duas regiões, mesmo assim elas ainda estão distantes da meta do milênio que é de reduzir a 15 o número de

mortos em cada grupo de mil crianças de até um ano de idade no Nordeste e na Amazônia Legal (PNDS, 2009).

No Pará, segundo dados divulgados pelo Ministério da Saúde (MS, 2010), existiam no Estado, entre 2000 e 2007, registro de 24.511 óbitos infantis em crianças menores de um ano de idade. No ranking estadual, o maior número de mortes ocorreu nos municípios de Belém (4.478), Ananindeua (1.490), Marabá (1.009), Santarém (959) e Parauapebas (546), segundo a Organização das Nações Unidas (ONU, 2010).

Dados recentes divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009) revelam que crianças paraenses entre 5 e 9 anos, segundo os parâmetros da OMS, apresentam 6,8% de déficit e altura, enquanto 4,1% estão com déficit de peso. O maior percentual de déficit de altura ficou com as meninas de 5 anos, com 10,1%, enquanto o menor percentual é das meninas com 9 anos, com 5%. Já o déficit de peso é mais intenso entre os meninos de 7 anos, com 5,4%, enquanto o menor percentual, de 3,3%, ficou com as meninas de 8 anos.

Segundo dados divulgados da Pesquisa Orçamentária das Famílias (POF 2008-09) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), o déficit de altura em menores de cinco anos atingiu de forma semelhante os meninos e meninas: 6,3% e 5,7%, respectivamente, com ênfase no primeiro ano de vida (8,4% e 9,4%, respectivamente), diminuindo para cerca de 7% no segundo ano e oscilando em torno de 4% a 6% nas idades de dois a quatro anos. Além disso, foi maior no Norte (8,5%) e menor no Sul (3,9%). Não houve grandes variações para os meios urbanos e rurais (IBGE, 2010).

3.4. TIPOS DE DESNUTRIÇÃO

Dos diversos tipos de desnutrição encontrados na literatura, a desnutrição protéica vem se destacando pelo fato de a proteína ser um dos nutrientes mais importantes, por haver aminoácidos essenciais para a síntese de proteínas estruturais, enzima, e neuropeptídios (GALLER *et al*., 1995).

Com relação aos efeitos da desnutrição sobre o organismo devem ser considerados alguns fatores, o tipo, a gravidade (graus da desnutrição), a fase em que a desnutrição ocorreu (pré ou pós natal) e a duração do insulto nutricional, assim como a interação destes com fatores genéticos e ambientais (VALADARES, 2006).

A desnutrição em crianças é definida pela relação entre peso, idade e altura. São consideradas subnutridas as crianças que apresentam valores menores do que 2 desvios padrão nas seguintes relações: peso/idade (baixo peso-*underweigh*), altura/idade (crescimento retardado-*stunting*) e peso/altura (*wasting*). De todas as crianças com idade até 5 anos que moram em países em desenvolvimento, 31% sofrem de baixo peso, 38% apresentam retardo no crescimento e 9% apresentam "*wasting*" (perda rápida de peso) (MÜLLER; KRAWINKEL, 2005). A desnutrição grave é observada principalmente em crianças e se manifesta como "*marasmus*" (*severe wasting*), *Kwashiorkor* marasmático (*severe wasting* com edema) e *Kwashiorkor* (desnutrição com edema) (WILLIANS *et al*., 2003).

Dentre as formas clínicas da desnutrição protéica energética existem duas formas clássicas, o marasmo e o Kwashiorkor que são consideradas doenças nutricionais completamente diferentes. Entre essas duas formas há inúmeras categorias intermediárias chamadas de Kwashiorkor marasmático (MARCONDES *et al.,* 2008).

O marasmo é diagnosticado quando ocorre perda da gordura subcutânea e da camada muscular, indicando, portanto, que toda a energia e nutrientes endógenos já foram consumidos. Clinicamente o mesmo é caracterizado por face triangular, amenorréia primária ou secundária, abdome distendido e prolapso rectal ou anal (BHAN *et al*., 2001).

De acordo com Marcondes *et al*., (2008) o marasmo apresenta um quadro clínico bastante característico, mais freqüente em lactentes que receberam dieta inadequada e globalmente deficiente, tendo como característica predominante uma deficiência crônica de energia, com dano da massa muscular e ausência de gordura subcutânea, normalmente a criança apresenta peso abaixo de 60% da média para a idade (abaixo de 12 meses), devido ao desmame precoce e a baixa ingestão, principalmente de calorias e proteínas. Vale ressaltar, que o marasmo é distinguido por apresentar desaparecimento de tecido subcutâneo, feição de faminto, olhar vivo, irrequieto, choro forte e contínuo,

fácies de idoso, costelas acentuadas e, em casos avançados, decorrem anorexia e prostração (ESCOBAR, 2000).

Devido à existência de quadros intermediários de alterações dietéticas diversas, tornou-se difícil classificar uma criança tipicamente Marasmática ou com *Kwashiorkor*. (ESCODA, 2002; SOARES *et al*., 2008; CUPPARI, 2002) caracterizam a desnutrição marasmática como uma patologia que se manifesta no primeiro ano de vida quando a criança apresenta uma dieta deficiente em proteínas e calorias. O paciente apresenta um déficit de peso e altura em relação à idade, não apresenta lesões na pele, mucosa e couro cabeludo, não apresenta hepatomegalia nem edema. Quando submetidos a exames laboratoriais, esses pacientes não demonstram alterações marcantes no hematócrito, hemoglobinemia, proteinemia (CUPPARI, 2002).

Já o *kwashiorkor* consiste basicamente em deficiência protéica, que pode ser associada também a deficiência de calorias (ESCOBAR, 2000).

Nos pacientes portadores de *kwashiorkor*, as manifestações ocorrem após o primeiro ano de vida em que o paciente apresenta uma dieta não balanceada com calorias normais ou excessivas e deficientes em proteínas (ESCODA, 2002; SOARES et al., 2008; CUPPARI 2002).

Conforme afirma Monte (2000), a desnutrição do tipo *Kwashiorkor*, caracteriza-se por edema generalizado, lesões de pele e cabelo, esteatose hepática, baixas concentrações séricas de proteínas (hipoalbuminemia), frequentemente diarréia, deficiência importante de estatura e massa muscular seriamente consumida com tecido gorduroso e subcutâneo praticamente conservado, anemia, hepatomegalia, letargia, imunodeficiência grave e morte prematura O aspecto físico desse desnutrido é sempre de miséria extrema e de penúria, (PHILLIPS *et al*., 1994; OUMEISH, 2003).

O *kwashiorkor* está associado a uma série de anormalidades bioquímicas que podem ser observadas muito antes do aparecimento da doença. O fígado é particularmente afetado e, em conseqüência, ocorre uma perda dos mecanismos homeostáticos. Estas crianças não mobilizam os estoques de proteína da sua musculatura para manter a função dos órgãos essenciais. Nelas, níveis baixos de cortisol são observados e, numa fase pré *kwashiorkor*, níveis mais elevados de insulina foram

detectados. As mudanças metabólicas mais importantes são uma redução marcante na concentração de proteínas plasmáticas, produzidas pelo fígado, entre elas a albumina, levando a um padrão alterado de aminoácidos plasmáticos, com redução do nível de aminoácidos essenciais, mas com valores normais ou até elevados de aminoácidos não-essenciais (BORTOLINI, 2005).

O *Kwashiorkor*-Marasmático é uma representação mista da desnutrição protéica calórica em que os sinais e os sintomas do marasmo e do kwashiorkor freqüentemente se combinam, ou seja, uma combinação de deficiência calórica crônica com deficiência protéica crônica. Esse tipo de desnutrição ocorre quando um paciente marasmático é submetido a um estresse agudo, como trauma cirúrgico ou infecção, de forma que o kwashiorkor se sobrepõe à desnutrição calórica prévia (SOUSA *et al*, 2007).

3.5. ALTERAÇÕES FISIOPATOLÓGICAS DA DESNUTRIÇÃO

Os efeitos da desnutrição intra-uterina dependem da fase de desenvolvimento em que está o feto ou o órgão, sendo os efeitos tanto mais intensos e permanentes quanto mais precocemente ocorrer à desnutrição e mais tarde for iniciada a recuperação nutricional. Embora em maior ou menor grau para os descendentes, a desnutrição intra-uterina, mesmo em fases diferentes da gestação, pode afetar o produto gestacional prejudicando o crescimento e o desenvolvimento dos diversos órgãos e sistemas (GURMINI *et al*., 2005).

Segundo Monte (2000), a desnutrição quase sempre ocorre inicialmente no útero e que os recém natos de baixo peso que padeceram de desnutrição intra uterina refletida no nascimento com baixo peso apresentam risco de morte mais elevado do que os bebês que nasceram normais, apresentando recuperação incerta do crescimento se sobrevivem e, provavelmente, apresentarão uma variedade de déficits de desenvolvimento.

Caso a desnutrição persista após o nascimento, o organismo lança mão de mecanismos adaptativos. Existem evidências, embora de difícil comprovação, que o primeiro mecanismo adaptativo que ocorreria na desnutrição seria uma atividade diminuída do desnutrido quando comparado com a atividade de crianças alimentadas

adequadamente. Este mecanismo teria por objetivo equilibrar o balanço energético (CARRAZZA, 1991).

Estudo realizado em animais no período de crescimento observou que no transcorrer das fases pré e pós natal, os níveis de RNA (ácido ribonucléico), DNA (Ácido desoxirribonucléico) (e proteínas variam de acordo com os diferentes órgãos, em etapas diversas do seu desenvolvimento. Em uma fase inicial, há predominância da multiplicação celular ou hiperplasia, com altos níveis de DNA. Posteriormente, ocorre tanto a multiplicação quanto o aumento do tamanho da célula (hipertrofia), que vem acompanhado por um aumento nos níveis protéicos. Finalmente, a fase de divisão celular termina, persistindo apenas a hipertrofia celular (PEREIRA, 2005).

Estudo anterior realizado por RABELO (2010) em animais de laboratório demonstrou que a restrição alimentar durante o desenvolvimento do animal pode provocar efeitos irreversíveis, dependendo do período e do órgão em desenvolvimento. Se esta restrição se der durante a multiplicação celular, os animais não alcançarão níveis normais no peso de alguns órgãos, mesmo após recuperação nutricional, devido ao decréscimo no número de células.

Quando a baixa ingestão alimentar, com um balanço negativo, é mantida, o organismo tenta diminuir outros componentes da atividade metabólica ocorrendo então uma desaceleração do crescimento. Esta seria a mais importante alteração funcional devido ao aporte insuficiente de nutrientes às células. Pode ser tão intensa que leve à regressão demonstrável nos terrenos bioquímico, funcional e anatômico, podendo situar os indivíduos em padrões de idade bem aquém de sua idade real (CARRAZA, 1991).

Nesse caso o processo de divisão celular fica alterado. Ocorre diminuição do índice mitótico do epitélio intestinal em lactentes marasmáticos, fato que está relacionado à presença de alterações na absorção intestinal. O mesmo pode ser observado na medula óssea, daí ocorrerem freqüentes anemias (DOUGLAS, 2002).

A desnutrição grave é caracterizada tipicamente pela ocorrência de degeneração gordurosa em vários órgãos incluindo fígado e coração, causando insuficiência cardíaca subclínica ou até mesmo insuficiência grave que necessita atendimento urgente. Também pode ocorrer perda de gordura subcutânea o que reduz de forma acentuada a

capacidade do organismo de regular a temperatura e os estoques de água podendo determinar desidratação, hipotermia e hipoglicemia (SAKURADA *et al*., 2000; ALAM *et al*., 2003; de MELLO *et al*., 2003).

Quando a mesma ocorre no período pós-natal pode acarretar lesões cerebrais permanentes, diretamente proporcionais ao grau da desnutrição. Similarmente ao que ocorre em animais de laboratório, também em crianças tem sido amplamente documentado que a desnutrição pode, em certos casos, perturbar gravemente o desenvolvimento do sistema nervoso (GUEDES *et al.*, 2004).

É relevante mencionar a importância da fase em que a desnutrição ocorreu e/ocorre, visto que em humanos a fase de maior vulnerabilidade à desnutrição é durante o período que vai do 3º mês de gestação até o segundo ano de vida, afetando principalmente o cérebro segundo Monteiro *et al*., (2009), demonstrando um potencial importante na determinação dos efeitos, sendo na vida intra uterina as maiores consequências. Embora em maior ou menor grau para os descendentes, a desnutrição intra-uterina, mesmo em fases diferentes da gestação, pode afetar o recém nascido, danificando o crescimento e o desenvolvimento dos diversos órgãos e sistemas (MARCONDES *et al*., 2008) podendo se tornar uma lesão permanente (GUARDIOLA *et al.*, 2001).

Assim, a desnutrição protéica durante os estágios iniciais da vida causa danos no desenvolvimento cerebral, alterando os parâmetros neuroanatômicos, neuroquímicos, neurofisiológicos e/ ou funcionais (GALLER *et al*., 2002). Se o insulto nutricional for revertido, muitas destas alterações também podem ser revertidas.

O tempo entre a gestação e os cinco anos de idade é do ponto de vista nutricional é o mais vulnerável do ciclo de vida do homem. Daí o valor do estudo da desnutrição na fase de crescimento que foi referido por Boza *et. al*., (1999), que a desnutrição ocorrida pela restrição dietética e fome severa produz uma série de variações metabólicas, que levam á redução do peso corporal, à depressão da imunocompetência e à função alterada do sistema digestivo particularmente do fígado. Entretanto, animais desnutridos durante o período pré e pós-natal ao serem alimentados com dieta adequada nutricionalmente, rapidamente melhoram seu peso (GUZMÁN-SILVA *et al*., 2004).

Perante uma oferta inadequada quantitativa e qualitativamente o organismo da criança aproveita seus depósitos para conservar a estrutura e a função dos vários órgãos. Entretanto, esses depósitos se depletam rapidamente e assim, ela começa a utilizar sua massa protéica muscular para gerar energia, caminhando rapidamente para uma desnutrição aguda. Em caso de existência de algum grau de desnutrição, a carência nutricional terá um efeito deletério muito maior sobre a integridade da criança (OLIVEIRA *et al.*, 2002).

Na criança, em particular, logo após a má nutrição, esta, é desvendada na dinâmica do crescimento e do desenvolvimento (ROLLAND-CACHERA, 1998). O mesmo ocorre em animais experimentais segundo Reichling *et al*., (2000). Porém, a partir do momento em que as fontes protéicas alimentares deixam de suprir as necessidades estruturais e funcionais, desencadeia-se no organismo uma sucessão de mecanismos de adaptação, cuja finalidade é preservar a homeostase bioquímica intra e extracelular.

A constância das condições de carência acaba desorganizando tais mecanismos segundo Manary *et al.*,(2000). Visivelmente, os mecanismos de defesa antioxidantes são exemplos de sistemas que sofrem efeitos diante da escassez nutricional. Esse fato induziram Golden *et al.*, (1987) a desenvolverem a teoria de que o *kwashiorkor* resulta do desbalanço entre a produção de radicais tóxicos e dos mecanismos celulares antioxidantes. De acordo com os mesmos autores, os efeitos tóxicos dos radicais seriam responsáveis por danos celulares, levando a alterações observadas no *kwashiorkor* tais como edema, esteatose hepática e lesões cutâneas. Essa teoria foi confirmada em outros estudos (FECHNER *et al*., 2001; MANARY *et al*., 2000).

3.6. REPERCUSSÕES HEPÁTICAS NA DESNUTRIÇÃO

O fígado exerce um papel fundamental na homeostasia dos nutrientes energéticos. Segundo Guzmán-Slva *et al*., (2004) para a manutenção da homeostase do fígado, o organismo prioriza a perda da massa hepática com quadros de hipoplasia e atrofia, em vez de alterar sua função. Porém, na desnutrição associa-se à perda de massa hepática para garantir a disponibilidade de energia a órgãos importantes, como coração e cérebro.

Para Boza *et al*.(1999) a restrição alimentar pode produzir uma redução de 30% no peso do fígado e que essa redução hepática é proporcionalmente maior quando comparada à perda de massa corporal.

Segundo Bortoline (2005) as reações ao déficit nutricional protéico incluem a remoção de aminoácidos essenciais dos tecidos para que o fígado possa manter a homeostase, sendo que a quantidade de albumina sintetizada pelo fígado de ratos desnutridos é significantemente menor a dos alimentados com dieta normal.

Ainda existem controvérsias sobre a causa do edema na desnutrição protéica energética clássica, que segundo Monte (2000) afirma que o déficit no suprimento de proteínas leva a uma redução da síntese de albumina, provocada pela falta de aminoácidos.

Andraus (2007) observou em animais e em crianças desnutridas que a presença de esteatose hepática encontra-se numa proporção superior a 50% da estrutura hepática, é associada ao edema da desnutrição e que é causada por redução na síntese de apolipoprotína, em paralelo a redução da síntese da albumina.

Porém segundo Guerra (2006) a esteatose hepática pode ser resultado de uma combinação de fatores de predisposição genética, aberração na lipólise pós prandial relacionada á insulina com aumento de ácidos graxos livres, excesso de carboidratos na dieta, resultando em uma nova síntese hepática de ácidos graxos, falha na β – oxidação mitocondrial e depleção de adenosina trifosfato, além do complexo mecanismo deficiente de transporte de triglicerídeos.

Entretanto, um dos mecanismos fisiopatológicos mais aceitos segundo Andraus (2007) é o prejuízo da produção de VLDL, apolipoproteína, B-100 que é responsável pela mobilização hepática de triglicerídios e também do colesterol, ésteres de colesterol e fosfolipídios. Contudo, esta hipótese ainda não foi totalmente comprovada e existem outras hipóteses para explicar a esteatose nestes casos, tais como: a elevação da produção hepática de ácidos graxos tanto pelos hepatócitos como por todo o organismo e aumento da entrada de ácidos graxos no fígado, secundário ao aumento da lipólise (LION *et al.*, 2006; FORD *et al*., 2003).

Segundo Rabelo (2010) o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROS) consequente ao excesso de ácidos graxos no hepatócito direcionado para a mitocôndria para ser oxidado, seria importante na evolução da esteatose hepática.

O estresse oxidativo se estabelece quando as defesas intracelulares antioxidantes são insuficientes para detoxicar das EROS ou, também, quando há produção excessiva de EROS (RABELO, 2010). Dentro desse contexto, o excessivo aporte de ácidos graxos ao fígado pode promover esgotamento da oxidação mitocondrial e aumento de EROS, bem como a ativação de outras vias de oxidação lipídica (peroxissomal e microssomal) que geram por sua vez mais EROS e aumenta o estresse oxidativo hepático e inflamação á distância (BERTOLINI, 2005).

O trabalho de Madani *et al*., (2000) mostra que a concentração protéica da dieta altera o metabolismo lipídico em ratos. Que dieta com 2% de proteína resultou em acentuada redução na concentração de triglicerídios plasmáticos que correlacionaram com o acúmulo destes no fígado.

O fígado é um dos órgãos mais afetados pelo estresse oxidativo por possui uma das mais altas atividades de enzimas antioxidantes do corpo e está envolvido na maioria das detoxificações do organismo. O fígado é importante na degradação e bioativação dos compostos organofosforados (AKHGARI, 2003).

3.7. DESNUTRIÇÃO E ESTRESSE OXIDATIVO

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso organismo e assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica (VISIOLI, 2000; PIETTA, 2000).

Radicais livres (RLs) são fisiologicamente gerados por sistemas biológicos durante o metabolismo e se caracterizam por possuir um elétron desemparelhado em sua órbita mais externa, condição que favorece a recepção de elétrons de outras moléculas, o que os torna extremamente reativos. Seu excesso pode oxidar diretamente macromoléculas, causando peroxidação de lipídios, destruição especifica de proteínas e

dano ao DNA. Destacam-se entre os radicais livres e as moléculas que dão origem a estes, as espécies centradas no oxigênio: o radical superóxido (O_2), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxila (OH), o alcoxil (RO), o peroxil (ROO), o óxido nítrico (NO), entre outros (HALLIWELL, 1992; PONS LEITE *et al*., 2003).

A produção excessiva de radicais livres (RLs) pode conduzir a diversas formas de dano celular e sua cronicidade pode estar envolvida com a etiologia ou com o desenvolvimento de diversas doenças. Os antioxidantes podem agir diretamente na neutralização da ação dos radicais livres ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função (PEREIRA *et al*, 2009).

O excesso na produção de oxidante ou da depleção das defesas antioxidantes gera o estresse oxidativo, sendo definido como um acúmulo de espécies reativas de oxigênio que causam danos à estrutura das biomoléculas de DNA, lipídios, carboidratos e proteínas, além de outros componentes celulares. Podendo esta situação ser benéfica nos casos de infecção, quando ocorre produção de radicais livres (RLs) por células fagocitárias para matar microorganismos invasores ou prejudiciais, quando a inflamação se torna sistêmica, como na sepse, em que a perda de controle da produção de RLs pode causar lesão à distância (PONS LEITE *et al*., 2003).

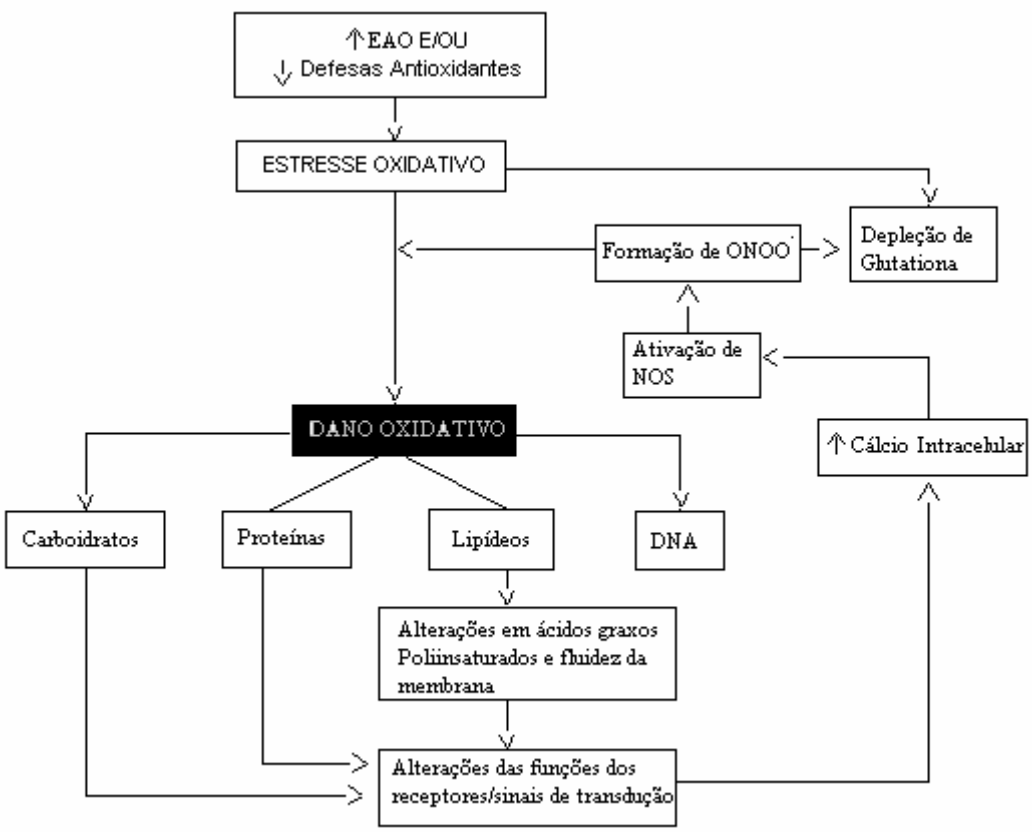


Figura I. Principais alterações celulares geradas pelo estresse oxidativo.

Fonte: Adaptado de HALLIWELL *et al*., (1999).

A fim de neutralizar os radicais livres, os organismos para se protegerem dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos. Os mecanismos químicos possuem várias moléculas com propriedades antioxidantes que são consumidas na dieta como o α tocoferol (vitamina E), *ß*- caroteno, selênio, ácido ascórbico (vitamina C), glutationa reduzida (GSH) que diminuem a ação tóxica das Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) produzido intra e extracelularmente (YU, 2003).

O sistema de defesa enzimático conta com enzimas como a superóxido dismutase (SOD), que converte os radicais superóxido (O_2^-) em H_2O_2 (ARUOMA, 2003); a catalase (CAT) que capta o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o decompõe em oxigênio e água antes que ela possa formar radicais hidroxilas (mais reativos e tóxicos) de acordo com (SEN *et al*., 2001) e a glutationa peroxidase (GPx) que atua tanto no meio intracelular quanto extracelular em busca de moléculas de peróxido de hidrogênio que

possam ter escapado da ação da catalase, em especial as derivadas da oxidação da membrana fosfolipidica (BARREIROS *et al.*, 2006).

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a atividade do sistema antioxidante, acarretando dano celular.

Segundo Kappel (2007) "Antioxidante é qualquer substância, quando presente em baixa concentração comparada à do substrato oxidável regenera o substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo". Os antioxidantes produzidos pelo corpo podem agir enzimaticamente (HALLIWELL *et al*., 2000). Desta forma, estes compostos protegem os sistemas biológicos contra os efeitos deletérios dos processos ou das reações que levam a oxidação de macromoléculas ou estruturas celulares, podem, teoricamente, prolongar a fase de iniciação ou então inibir a fase de propagação, mas não podem prevenir completamente a oxidação (JORDÃO *et al*., 1998).

Alguns autores Feoli *et al*., (2006); Bonatto *et al*., (2006) relatam que o dano oxidativo em área do cérebro ocorre tanto na desnutrição protéica pré como na pós natal, sendo maior no córtex, hipocampo e cerebelo, em decorrência á particularidades que este tecido apresenta a ação dos radicais livres por sua taxa de atividade metabólica, alta concentrações de ácidos graxos poliinsaturados, por ser áreas ricas em concentrações de ferro e moderados níveis de antioxidantes (GARCIA *et al*., 2005).

A capacidade de um órgão ou sistema de desempenhar suas funções depende da distribuição do fluxo sanguíneo, do fornecimento de oxigênio e do aporte de nutrientes adequados (BONATTO *et al*., 2006).

A supressão de nutrientes importantes para o desenvolvimento e a manutenção dos sistemas determina um vasto conjunto de alterações induzindo o surgimento de modificações específicas nos diferentes tipos de desnutrição (SANCHES, 2010).

A formação dos radicais livres tem início com a oxidação dos lipídios ou autoxidação, dando origem aos hidroperóxidos cujos produtos da oxidação desencadeiam a reação denominada de Peroxidação lipídica, no qual o processo se dá pela agressão das EROS (Radicais oxidantes) aos ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídios das membranas das células, desintegrando-as e permitindo, desta forma, a

entrada dessas espécies nas estruturas intracelulares segundo Halliwell *et al.*, (1989). A reação se inicia com a captura do hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado (LH) da membrana celular. Tal captura pode ser realizada pelo OH (radical hidroxila) ou pelo RO (radical alcoxila), com conseqüente formação do RL (radical lipídico). Na primeira equação de propagação, o RL reage rapidamente com o ânion superóxido (O_2^{-}), resultando em ROO (radical peroxila) que, seqüestra novo hidrogênio do ácido graxo poliinsaturado, formando novamente o RL (o radical lipídico) na segunda equação de propagação. O término da lipoperoxidação ocorre quando os radicais livres e o radical peroxila (RL e ROO) produzidos nas etapas anteriores propagam-se até destruírem a si próprios (HALLIWELL *et al.*, 1989). A decomposição dos peróxidos de lipídios marca o término da peroxidação dos lipídios (HALLIWELL *et al.*,1999).

O radical hidroxila (OH) é frequentemente reconhecido como a espécie iniciadora e a mais importante da lipoperoxidação. Entretanto, estudos indicam que o ferro também desempenha papel determinante na iniciação deste processo através da conversão de hidroperóxidos lipídicos (ROOH) em radicais altamente reativos (alcoxila, RO e peroxila, ROO), que iniciam nova cadeia de reações, denominada ramificação. Essas reações, que podem ser rápidas ou lentas, dependem da valência do ferro (ABDALLA *et al*., 2001).

É importante ter em mente que a peroxidação lipídica pode ocorrer como consequência da lesão tissular e não como sua causa. Mesmo assim, a peroxidação lipídica é importante, porque pode amplificar a lesão original pela sua capacidade de produzir as reações em cadeia. (ABDALLA *et al*., 2001).

A peroxidação dos lipídios das membranas celulares (PEREIRA, 1996) é apenas um exemplo de lesão biológica que pode ser promovida pelos radicais livres, uma vez que todas as biomoléculas são suscetíveis a oxidação. Existe um sistema de proteção contra o peróxido de hidrogênio exercido pelas enzimas catalase e peroxidase. A catalase é uma heme proteína citoplasmática presente nos principais órgãos, estando especialmente concentrada no fígado e eritrócitos. Sua atividade depende do NADPH. Esta coenzima também desempenha um importante papel no metabolismo do álcool (HALLIWEL *et al.*, 1989; GOODE *et al.*, 1993; MARUBAYASHI *et al.*, 1989; STEINBERG, 1993).

A nutrição exerce importante papel na determinação dos mecanismos celulares de defesa antioxidante conforme é relatado por Halliwell *et al*., (1995). Fatores dietéticos como vitamina E, vitamina C, selênio, cobre e zinco, sabidamente, afeta a capacidade oxidativa do organismo. Por outro lado, são mais raros os estudos em relação ao papel da proteína dietética sobre os mecanismos de defesa antioxidante, a despeito das indicações de que a desnutrição protéica pode deprimir o sistema de defesa antioxidante do organismo conforme Sen *et al*., (2001); Caetano (2010) em relação ao caroteno e selênio de acordo com estudo realizado por (BIANCHI, 1999).

A utilização de compostos antioxidantes encontrados na dieta ou mesmo sintéticos é um dos mecanismos de defesa contra os radicais livres que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, cosméticos, bebidas e também na medicina, sendo que muitas vezes os próprios medicamentos aumentam a geração intracelular desses radicais (HALLIWELL *et al*., 1995).

O papel da dieta sobre o efeito deletério dos radicais livres varia, consideravelmente, com o tipo de organismo testado, a idade, o estado fisiológico e a dieta ingerida segundo foi mencionado por (SOUTHORN *et al*., 1988). Entretanto, a toxicidade de oxigênio é influenciada pela presença, na dieta, de diferentes quantidades de vitaminas A, E, C, carotenóides, ferro, selênio, enzimas e ácidos graxos poliinsaturados (ASCHERIO *et al*., 1992; SALONEN *et al*., 1991).

Assim, uma dieta pode conter um grande número de antioxidante e pró-oxidantes. A quantidade relativa de antioxidante e pró-oxidante, na dieta, pode influenciar a susceptibilidade de um indivíduo em desenvolver “stress” oxidativo (CHOW, 1991; TAYLOR *et al*., 1991).

Os antioxidantes da dieta tais como as vitaminas “C”, “E” e “A”, os Flavonóides e Carotenóides são extremamente importantes na intercepção dos radicais livres. Outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas. Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta à geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes (BIANCHI *et al*., 1999; PINHEIRO, 2005).

O sistema enzimático é a primeira linha de defesa antioxidante, evitando o acúmulo do radical superóxido e do peróxido de hidrogênio. É formado por diversas enzimas, destacando-se a glutationa peroxidase (GPX), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (HALLIWELL *et al*., 2000; BELLÓ, 2002). Desta forma, o sistema antioxidante enzimático diminui o Eros e, consequentemente, a oxidação de estruturas biológicas.

A catalase é uma ferrihemoenzima cujo sítio ativo contém um grupo heme, em que a função principal é dismutar peróxido de hidrogênio formando água e oxigênio molecular (FRIDOVICH, 1998).

$$\mathbf{2\ H_2O_2 \text{-------} CAT_\ 2H_2O + O_2}$$

Reação de detoxificação de ERO promovida pela CAT

Fonte: FRIDOVICH (1998).

Em animais, a catalase está presente em todos os órgãos vitais do corpo, principalmente, no fígado, o qual possui uma concentração de peróxido de hidrogênio ligeiramente baixa (INOUE, 1994). Sua localização está nos peroxissomas, tendo por isso ação diminuída em órgãos como o coração, o pulmão e o cérebro, que possuem poucos peroxissomas. Nestes órgãos, a ação antioxidante desta enzima ocorre quando os radicais livres atingem a corrente sangüínea pela ação da catalase eritrocitária. Seguindo esta linha de raciocínio, a atividade de catalase pode apresentar-se diminuída segundo Ramakrishna; Jailkhani (2007), inalterada de acordo com (POONAM *et al*., 1997) e aumentada conforme (KESAVULU *et al*., 2000). A diminuição da catalase sugere um acréscimo de peróxido de hidrogênio e geralmente ocorre em um estado de diabetes mais avançado como foi descrito por Ramakrishna; Jailkhani (2007). O hidrogênio é o responsável por esta maior atividade da enzima na tentativa de diminuir os danos oxidativos causados por esta ERO (KESAVULU *et al*., 2000).

Prada (2005) verificou que não só ocorre redução significativa na atividade da enzima Superóxido desmutase (SOD) no pulmão de ratos alimentados com dieta contendo 3% de proteína e expostos a oxigênio hiperbárico como também há redução da atividade da catalase pulmonar em ratos mantidos com dieta de baixo teor protéico

submetido a essa mesma condição. Em ambos os estudos, os efeitos tóxicos do oxigênio foram potencializados pela ingestão da dieta deficiente em proteína.

Melo *et al.,* (2008) constataram que ratos alimentados com dietas hipoprotéicas (2 – 5% de proteína) apresentaram menor atividade das enzimas SOD e glicose-6 fosfatos desidrogenase (G6PD) no fígado quando expostos à dieta rica em gordura em comparação a ratos mantidos com dieta normoprotéica.

Rana *et al*., (1996) verificaram redução dos tióis relacionados à glutationa e das atividades das enzimas glutationa peroxidase, catalase e superóxido dismutase no fígado de ratos submetidos à restrição protéica durante a fase de crescimento. Tais alterações apareceram acompanhadas de aumento da peroxidação lipídica no órgão. Por outro lado, observou-se que a ingestão crônica de dieta hiperprotéica (30% de proteína) não induz estresse oxidativo em ratos (PRADA, 2005).

Isto foi inicialmente demonstrado em estudos onde a concentração hepática de GSH era baixa durante períodos de jejum em ratos alimentados com dietas com baixos teores de proteína ou dietas deficientes em aminoácidos sulfurados. A concentração de GSH aumentou quando os animais foram realimentados ou quando receberam dietas suplementadas com aminoácidos sulfurados (BRAY *et al*., 1993).

A nutrição exerce importante papel na determinação dos mecanismos celulares de defesa antioxidante (HALLIWELL *et al*., 1995). Fatores dietéticos como vitamina E, vitamina C, selênio, cobre e zinco, sabidamente, afetam a capacidade oxidativa do organismo. Por outro lado, são mais raros os estudos em relação ao papel da proteína dietética sobre os mecanismos de defesa antioxidante, a despeito das indicações de que a desnutrição protéica pode deprimir o sistema de defesa antioxidante do organismo e promover decréscimo da glutationa total em portadores de *kwashiorkor* (SEN *et al*., 2001; CAETANO, 2010) em relação ao caroteno e selênio de acordo com estudo realizado por (BIANCHI, 1999).

Segundo Bhan *et al*., (2001), a Organização Mundial da Saúde propõe na determinação da deficiência de micronutrientes, o conceito de "adequação de todas as funções que têm importância clínica ou funcional", as quais incluem a função imune e o combate aos radicais livres (RLs). Se esse conceito for considerado, as atuais

recomendações passam a não atender as reais necessidades dos indivíduos, quando particularmente, na vigência de doenças agudas ou crônicas. Pode-se ter idéia do grau de depleção causado pelas doenças quando se tem conhecimento de estudos que mostram deficiência crônica de micronutrientes em crianças que vivem em países em desenvolvimento.

3.8. SUPLEMENTAÇÃO DA DIETA COTIDIANA COMO ALTERNATIVA ALIMENTAR

Várias alterações vêm ocorrendo no cenário epidemiológico brasileiro, nas últimas décadas, resultando de profundas modificações sociais e econômicas que incluem, entre outros aspectos, mudanças nos hábitos de alimentação. No Brasil, o único estudo que investigou o consumo alimentar da família com abrangência nacional foi o Estudo Nacional sobre Despesa Familiar, em 1974-1975 (ENDEF). Embora sejam de utilidade incontestável, estudos nacionais de consumo alimentar são onerosos e poucos países conseguem desenvolvê-los regularmente (IBGE, 2010).

Por outro lado, as Pesquisas de Orçamentos Familiares (POF) são importantes fontes de dados de disponibilidade de alimentos no domicílio, a qual é inferida a partir do registro da compra de produtos alimentícios. As recentes modificações nos hábitos de consumo, particularmente, a realização de refeições fora do domicílio constituem limitações para a utilização de dados das pesquisas brasileira de orçamentos familiares como estimativa do consumo alimentar. Assim, o governo brasileiro propôs que a próxima pesquisa de orçamento familiar, a ser desenvolvida em 2008-2009, incluísse um módulo de consumo alimentar individual. As informações sobre o consumo dietético individual serão utilizadas para completar os dados sobre compra de alimentos (IBGE, 2010). Entretanto, esses dados sobre o consumo individual não especifica os alimentos e sim os grupos dos mesmos (peixes e carnes). Apartir de 2008/2009 vem sendo realizado o consumo alimentar em um módulo da POF, entretanto, mesmo com estes dados ainda não existe confirmação real do consumo da população brasileira nem do paraense.

No Brasil, segundo dados do IBGE (2010) a disponibilidade de alimentos cresce associada a mudanças na composição da dieta, principalmente no aumento da disponibilidade de produtos como carnes, leites e derivados, óleos e gorduras vegetais, biscoitos e refrigerantes e redução de cereais e leguminosas.

O grupo de alimentos carnes, vísceras e pescados lideram os gastos com alimentação, tanto na média do País (21,9%) quanto nas áreas urbana (21,3%) e rural (25,2%). A seguir, na área urbana, vêm Leites e derivados (11,9%), Panificados (11,0%) e Bebidas e infusões (10,0%). Na área rural, vêm Cereais, Leguminosas e Oleaginosas (13,1%), Leites e derivados (8,7%) e Aves e ovos (8,5%).

Entre 2002/03 e 2008/09, o percentual de gastos das famílias com carnes, vísceras e pescados cresceu de 18,3% para 21,9%, no total de gastos com alimentação no domicílio, enquanto o de leite e derivados caiu de 11,9% para 11,5%, bem como o de panificados, que passou de 10,9% para 10,4%. Caíram, também, os gastos com cereais, leguminosas e oleaginosas (10,4% para 8,0%); açúcares e derivados (5,9% para 4,6%) e aves e ovos (7,1% para 6,9%). Cresceram os gastos com frutas (4,2% para 4,6%) e bebidas e infusões (8,5% para 9,7%) (IBGE, 2010).

Na região norte se gasta 25,8% do orçamento da família com alimentação, maior entre todas as regiões do Brasil. Das famílias do estudo do POF (2008-2009) 51% das famílias do Estado do Pará revelaram que o consumo da alimentação é insuficiente, tendo ocorrido uma queda de 19% no período de 2008-2009 em relação ao período 2003-2002, quando este percentual de insatisfação com a alimentação consumida era de 63.9% (IBGE, 2010).

O estudo de Orçamento Familiar mostrou que quanto maior a classe salarial menor o consumo de farinha de mandioca e que o consumo de carnes e pescados caem à medida que cai a renda da família, foi observado ainda que, o consumo de frango e de ovos é duas vezes menor em relação o consumo da carne e do pescado (IBGE, 2010), porém, não mostra o real consumo da população em relação ao tipo de alimento consumido, como foi contemplado no único inquérito de consumo realizado no Pará

Esses resultados fortalecem a necessidade de se utilizar a dieta de base adquirida no estudo de Jorge João (1979) de uma população de baixa renda do Pará, como modelo para indução da desnutrição nesse estudo.

Na década de 80, a partir de idéias e práticas preconizadas desde 1975, houve uma ampla difusão da utilização de recursos alimentares não convencionais, como forma de melhorar e/ou recuperar o estado nutricional especialmente de gestantes, nutrizes e crianças de baixo peso (TEODÓSIO *et a*l., 1990).

Dentro deste contexto, várias questões têm sido propostas e colocadas em prática: uma delas é a utilização da alimentação alternativa, a qual visa o enriquecimento da dieta habitual da população, de acordo com a disponibilidade dos produtos, melhorando a sua qualidade resultando na promoção de saúde e combatendo a desnutrição (PASSOS *et al*, 2001).

Várias propostas surgiram ao longo dos anos como alternativas de suplementação das dietas de base das populações, como a adição da multimistura na alimentação infantil, que se tratava do emprego de um composto de baixo custo, obtido a partir de alimentos mais comumente utilizados na nutrição animal, como os farelos, adicionado de folhas e sementes secas e trituradas, denominado "multimistura" (OLIVEIRA *et al*., 2001).

Teodósio *et al*., (1992) confeccionaram o (*PROTEMOL*) um suplemento alimentar em pó, produzido à base de sangue de boi, leite e farinha de trigo. O medicamento é indicado no combate à desnutrição.

Entretanto, os principais argumentos apresentados pelos defensores de sua adoção como medida de prevenção e tratamento da desnutrição são a disponibilidade regional de seus ingredientes, a não interferência nos hábitos alimentares de população, o baixo custo, a possibilidade da preparação caseira e a acessibilidade a praticamente, toda a população.

Considerando estes argumentos apresentados pelos defensores da adoção da suplementação da dieta segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005) regulamentou através da Resolução nº 16/1999, os princípios de enquadramento

de alimentos não convencionais como suplemento da alimentação cotidiana de determinada população.

Porém, para que se possa aceitar que um alimento seja utilizado como suplemento alimentar diariamente em seres humanos, é necessário que ele seja submetido a uma série de procedimentos experimentais que justifiquem sua utilização de forma eficiente e segura, desde que atenda aos requisitos previstos na Resolução nº 16/1999 (ANVISA, 2005) e que se enquadre em qualquer uma dessas situações: 1. Alimentos sem tradição de consumo no País, 2. Que seja um alimento que contenha substâncias já consumidas, 3. Que venha a ser adicionada ou utilizada em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos que compõem uma dieta regular. Com este propósito, existem diversos órgãos e laboratórios responsáveis pela análise e padronização de alimentos, que os recomendam e propõem, inicialmente, estudos experimentais em animais, para que se possa analisar os efeitos da composição de substâncias nutricionais e antinutricionais da composição do novo alimento para uso em humanos (ANVISA, 2005).

No Brasil, as pesquisas na área de saúde são regulamentadas por resoluções, tais como: Resoluções Nº01, de 13 de junho de 1988, publicada no Diário Oficial da União (DOU) de 05\ 01\ 1989, e na resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) Nº 96, de 10/ 10/ 96, publicada no DOU de 16/ 10/ 96, que normatizam as pesquisas na área de saúde e regulamentam os aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos. Assim, antes da utilização de qualquer produto seja alimento ou drogas em seres humanos, estas têm que ser submetidas a uma série de testes em animais chamados de testes pré clínicos (CNS, 1996).

Produtos como a *Quinoa* segundo Gonzáles (1989), sangue bovino conforme Teodósio *et al*., (1990), farinha das folhas da mandioca de acordo com Melo *et al*., (2005) têm sido estudado como alternativa suplementar de dietas das populações com o intuito de minimizar a desnutrição nos menores de cinco anos.

No nordeste do País aonde a desnutrição infantil vem apresentando declínio conforme Monteiro *et al*., (2010) vários estudos (Corrêa *et al*., 2000; Tavares *et al*., 2002; Medeiros *et al*., 2008) já avaliaram a suplementação da dieta de base, o que dá suporte a estudos na região norte, uma das regiões onde a desnutrição obteve um

declínio insignificante, visto que ainda existe desnutrição por baixa estatura na população e a mortalidade ainda persiste por desnutrição ou doenças decorrentes da mesma, como diarréia e desidratação segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2009).

Atualmente a preocupação com uma alimentação balanceada tem levado pesquisadores a um maior interesse por alimentos enriquecidos e que venham proporcionar de fato um valor nutricional superior, em qualidade e em quantidade.

3.9. *AMARANTO CRUENTUS*

O *amaranto* é um pseudocereal por pertencer à classe das dicotiledôneas, é uma planta anual, de habito de consumo restrito a alguns países das Américas. Os frutos são pixídios contendo cada um, uma só semente, coberto por uma cápsula (BRENNER; WILLIAMS, 1995). Uma característica agronômica valiosa do amaranto é a capacidade da planta de se desenvolver e frutificar em ambiente com luminosidade intensa, temperatura elevada (35 a 45ºC) e restrição hídrica. Uma das vantagens do cultivo é a sua adaptação a climas e solos variados (BRAMBILLA *et al*., 2008).

Entretanto, seu potencial como fonte de nutriente é bastante alto. O grão do *amaranto* chamou a atenção pelo seu conteúdo relativamente alto de proteínas, gorduras e minerais, especialmente em relação aos cereais. Sua proteína é considerada de alta

qualidade biológica devido ao seu conteúdo em lisina e outros aminoácidos essenciais. Esses fatores situam o amaranto, acima dos cereais em termos de potencial nutricional (BRESSANI, 1988; BRENNE, 1991).

O *amaranto* é uma planta cujas folhas são utilizadas como verdura em alguns países da América desde época remota. Como grão, entretanto, este pseudocereal tem sido aproveitado na alimentação humana e animal, somente em época recente, especialmente em países como o México, Bolívia, Peru. Cultiva-se também no Sul da Ásia e na África. Embora o Brasil possua terras e climas adequados para o plantio dessa cultura, o pseudocereal não tem sido produzido ou consumido no país. Trabalhos brasileiros de pesquisa e desenvolvimento resultaram no lançamento de uma variedade de valor agronômico adaptada ao solo do Cerrado (EMBRAPA, 2003).

No Brasil, a Embrapa Cerrados (DF) testou várias espécies de *amaranto*, para produção de alimentos, diversificação de grãos e adubação verde na entressafra, além de uso no plantio direto (BRAMBILLA *et al*., 2008)**.** O cultivar BRS Alegria já está disponível (SPEHAR *et al*., 2003).

O *amaranto* apresenta facilidade de crescimento em altas temperaturas e baixa precipitação, e existem variedades tolerantes a solos salinos e/ou com presença de alumínio tóxico (BRAMBILLA *et al*. 2008) além da formação de palha, a planta também tem potencial forrageiro (SPEHAR *et al*., 2003).

Muitos pesquisadores em todas as partes do mundo têm estudado melhorias na qualidade nutricional do grão para aplicação na alimentação humana, considerando o rendimento agrícola e adaptações climáticas em países como o Brasil que ainda não está entre os produtores (MENDONÇA, 2005; SPEHAR *et al*., 2003; BREENE, 1991).

No Brasil o *amaranto* ainda é pouco conhecido na agricultura e muito pouco consumido pela população. Entretanto, um esforço técnico científico vem sendo desenvolvido pela EMBRAPA/CEPAC, no sentido de adaptar espécies, oriundas de outras regiões, aos solos do Cerrado brasileiro (MENDONÇA, 2005).

Há uma estimativa de que as plantas estão direta ou indiretamente presente na alimentação mundial em torno de 95% e que os cereais fornecem cerca de 25% dos

requerimentos de proteínas, energia e de fibras, para os humanos, sendo a principal fonte calórica em países em desenvolvimento (AULER, 2002).

Nos últimos anos, outros grãos, como as leguminosas, ganharam notoriedade. O aumento no consumo de grãos em detrimento dos cereais não se deve apenas ao fato destes possuir proteínas duas a quatro vezes mais, e sim, por terem alto valor nutricional (MATUZ *et al*., 2000).

Dessa forma, o grão de *amaranto* parece ser uma boa alternativa para crianças e idosos, considerando os seus requisitos nutricionais, como o conteúdo protéico, em torno de 12 a 17%, de lipídios de 5 a 8%, amiláceo (BECKER *et a*l., 2001).

Um dos aspectos nutricionais de maior relevância do *amaranto*, em relação ao seu potencial nutricional, é o seu conteúdo protéico. A do amaranto pode ser considerada de alta qualidade biológica pelo seu conteúdo em lisina e de outros aminoácidos essenciais, estando acima dos outros cereais, em termos do potencial nutricional (BRESSANI, 1988; BREENE, 1991; MENDONÇA, 2005).

A proteína do *amaranto* contém cerca de 5% de lisina (chegando a 6,9g de aa/100g de proteína) e 4,4% de aminoácidos sulfurados, que são os principais aminoácidos limitantes em outros grãos (TEUTONICO *et al*., 1985). Além deste fato, a proteína apresenta um alto valor nutritivo comparado com a caseína.

A composição da proteína, em relação ao perfil de aminoácidos, é bastante variada entre as diversas espécies de *amaranto*. Um fator comum, entre as espécies existentes é o alto conteúdo de lisina e de aminoácidos sulfurados, assim como também o baixo conteúdo de treonina, leucina, valina e isoleucina, quando comparada com o padrão da (OMS, 1992).

Segundo Gorinstein *et al.,* (1998) as três espécies mais cultivadas e estudadas do grão do *amaranto* apresenta uma variação no seu teor protéico. O teor protéico na espécie *A. cruentus* varia de 13,2 a 18,2%, na espécie *A. hipochonodriacus* 17,9 enquanto na espécie *A.caudatus*, varia 17,6 a 18,4%.

Estas variações nas proteínas, entre espécies, ocorrem devidos a fatores, como diferentes cultivos, condições ambientais, região cultivada, estação do ano tratamento de fertilizantes e o fator de conversão de nitrogênio (SAUDERS *et al*., 1984; GORISNTEN *et al*., 1998).

Segundo Sgarbieri, (1996), os aminoácidos limitantes nas leguminosas, carne e leite são os sulfurados, enquanto que nos cereais, são lisina e treonina. O aminoácido limitante de acordo com o padrão da FAO no *amaranto* é a leucina, seguido da valina e treonina (SAUDERS, 1984). Esta característica não representa um inconveniente, por que a leucina esta presente em excesso na maioria dos cereais de acordo com Chávez – Jauregui (2000), que mostrou a espécie *caudatus* ser limitante apenas no aminoácido leucina no *amaranto* extrusado, segundo o critério da FAO para idades de 2 a 5 anos. O fato de o *amaranto* apresentar um balanço, excepcionalmente, completo para a nutrição humana, devido aos seus altos níveis de lisina e metionina, faz com que seja considerado como uma mistura natural de cereal com leguminosa, por não haver necessidade de complementação de aminoácido limitante, por ser o limitante do *amaranto* encontrado em excesso na maioria dos alimentos (SAUDERS; BECKER 1984).

Além do conteúdo em aminoácido, o *amaranto* contém vitaminas e minerais em quantidades suficientes para cobrir as necessidades recomendadas pelo Committee on Dietary Allowances (IOM, 2000). Sendo o conteúdo de cálcio, de ferro e de fosfato encontrado maior do que nos cereais mais comuns, como no trigo, no arroz e no centeio (AMAYA-FARFAN *et al*., 2005).

O PER (*Protein Effiency Ratio*) é um índice de qualidade da proteína, calculado pela divisão do ganho de peso pelo animal pela quantidade de proteína ingerida (DUTRA- de OLIVEIRA; MARCHINI, 2000). Para o amaranto têm sido relatados valores de 1,5 a 2,0 (para um valor de 2,5 para a caseína) (MENDONÇA, 2006) e, especificamente, para o *A. cruentus* foi relatado valor de 2,3 (GARCIA *et al*., 1987).

Outros compostos estão presentes em sua composição como o esqualeno, a fibra alimentar, os tocoferóis, os tocotrienóis, os flavonóides e os compostos fenólicos os quais podem apresentar ação antioxidante (QURESHI *et al*., 1996; PASKO *et al*., 2009).

O esqualeno é aplicado como lubrificante de instrumentos eletrônicos finos e em cosméticos (BERGANZA *et al.*, 2003). Além disso, tem sido relatado como tendo importantes efeitos benéficos á saúde, como na diminuição de risco de câncer (SMITH, 2000) e na redução do colesterol sérico (MIETTINEM; VANHANEN, 1994).

Atualmente um dos aspectos mais considerados na composição de um alimento é a sua capacidade antioxidante, dependendo esta da forma como este é consumido, seja na forma *in natura* ou processado. Kaur e Kappor (2001) consideram que o tratamento térmico é a principal causa da alteração do teor de antioxidantes naturais em alimentos.

Segundo Queiroz (2009) o grão de *amaranto* tanto cru como processado apresenta potencial antioxidante, polifenóis, antocianinas, flavonóides, tocoferóis, vitamina C compostos gerados na reação de *Maillard* podem estar relacionados à atividade antioxidante deste grão. O teor de fenólicos totais presentes no grão de *amaranto* é superior ao descrito para a aveia, trigo e ervilha de acordo com (GORINSTEIN *et al.*, 2007).

De acordo com Lorenz e Writght (1984), outro fator importante na composição do *amaranto* é que as saponinas e o conteúdo de ácido fítico, taninos e oxalato encontram-se em quantidades menores do que em qualquer outro cereal.

Do *amaranto*, têm sido utilizadas as folhas em saladas e como substituto do espinafre, como produtos instantâneos sob a forma de farinhas em mingaus além de suplemento de alimentação e para enriquecimento de alimentação de povos do 3º mundo como foi referido por Amaya-Farfan (2005). Uma propriedade importante que distingue a farinha de *amaranto* de outros grãos é a de não perder sua característica de alto valor de proteína e seu perfil de aminoácidos de alta qualidade após o refino, fenômeno de ocorrência comum nos cereais (MARCÍLIO *et al.*, 2003).

Estudos vêm sendo desenvolvidos com aplicação do amaranto. Em alguns se comprovou que a proteína de amaranto reduz o colesterol plasmático e que a digestibilidade e excreção de ácidos biliares não estão relacionados com a redução do colesterol provocada pela proteína do amaranto (MENDONÇA, 2006); que o isolado protéico de amaranto apresenta pelo menos um peptídeo hipocolesterolemizante quando

submetido às digestões enzimáticas *in vitro* estudadas, similares à digestão in vivo (SOARES, 2008).

Miettinen e Vanhanen (1994) demonstraram que dieta contendo amaranto reduziu em mais de 50% o colesterol total de ratos em relação à dieta controle.

3.10. QUIRERA DE ARROZ

Segundo Dziezak (1991), o arroz pertence à espécie *Oryza sativa*, L. nativo da Índia, sudeste da Ásia e da China. É uma gramínea anual, semi-aquática, embora possa sobreviver em clima tropical e subtropical. Atualmente, cresce em mais de 100 países no mundo (exceto na Antártica).

É considerada uma cultura, extremamente versátil, que se adapta a diferentes condições de solo e clima (ALONÇO *et al*., 2004).

O desenvolvimento de novas variedades tem estimulado muitos centros de pesquisa e estações experimentais agrícolas para testar o desempenho dessas variedades em países onde o clima, as propriedades do solo, as práticas culturais e o meio ambiente são diferentes. Este cereal pode ser aplicado na elaboração de inúmeras preparações na sua forma isolada ou em combinação com outra matéria-prima desenvolvendo com isso produtos diversificados e com maior valor nutricional (LUH, 1980; GÓMEZ, 1997).

O consumo no Brasil normalmente é na forma de grãos inteiros, descascados e polidos. Porém, aproximadamente 20% da produção total/ano de arroz são perdidas como subproduto no beneficiamento (CASTRO *et al*., 1999).

Essas perdas podem variar de 3 a 10%, devido ao tipo de cultivo e variedade do arroz utilizado, ajustes das máquinas e equipamentos utilizados (ASCHERI, 2000).

Os grãos quebrados e quirera possuem um baixo valor de mercado, além da pouca aceitação e uma pequena parcela deles é transformada em produtos de alto valor agregado. Constituem importante matéria prima, para a elaboração de uma série de produtos que podem ser desenvolvidos através do processo de extrusão, como

constituinte principal ou ingrediente em formulações na elaboração de produtos para o consumo humano e animal (ASCHERI, 2000; MENDONÇA, 2000; BORGES, 2002; SILVA, 2002).

Entre os cereais, o arroz é o que possui maior digestibilidade, maior valor biológico e mais elevado quociente de eficiência protéica, apesar de sua deficiência no aminoácido essencial lisina (JULIANO; HICKS, 1996; SGARBIERI, 1996).

A qualidade da proteína do arroz é muito superior a do trigo que contém pequenas quantidades de aminoácidos essenciais como a treonina, a metionina e especialmente a lisina. O arroz é um dos mais importantes grãos em termos de valor econômico. É considerado o cultivo alimentar de maior importância em muitos países em desenvolvimento, principalmente na Ásia e Oceania (ALONÇO *et al*., 2004). Considerado alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas, sendo assim bastante consumido no mundo, ao contrário do que ocorre com o trigo e o milho que precisam ser transformados em outros produtos antes do consumo no Brasil, principalmente na forma de grãos inteiros, descascados e polidos (CASTRO *et al*.,1999)

Aproximadamente 20% da produção total/ano, são perdidas como subproduto durante o beneficiamento, sendo 14% destes, na forma de grãos quebrados ou quirera de arroz. As principais causas dessas perdas incluem o sistema de cultivo, variedade e classificação do arroz, além de ajustes e tipos de máquinas utilizadas durante o beneficiamento (CASTRO *et al*., 1999) Estes subprodutos, por sua vez, apresentam menor valor comercial, cerca de 1/5 do preço, em relação aos grãos inteiros (NABESHIMA; EL-DASH, 2004).

3.11. PROCESSO DE EXTRUSÃO TERMOPLÁSTICA

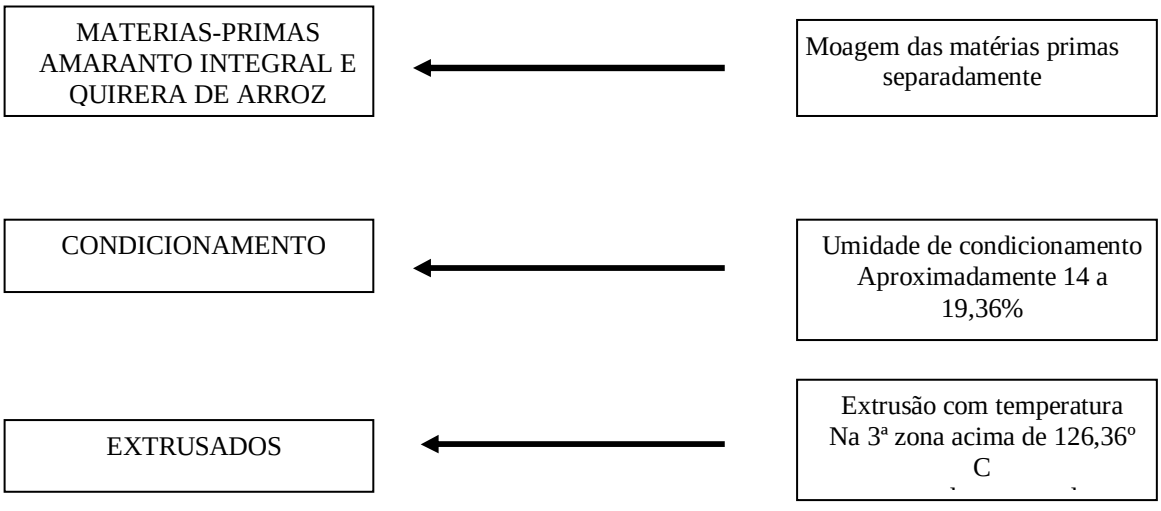
No século XIX o processo de extrusão foi aplicado pela primeira vez, em alimentos, na fabricação de salsichas e carnes processadas. No final da década de 30, a indústria de cereais matinais, foi uma das primeiras a introduzir este processamento na fabricação de alimentos "*ready-to-eat*" (HARPER, 1980).

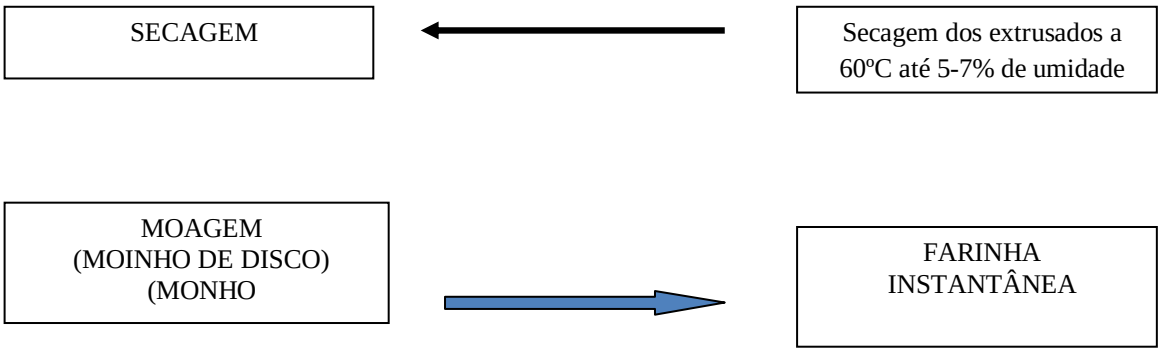
O emprego da extrusão termoplástica na indústria de alimentos tem tido um aumento sensível. Este fenômeno pode ser justificado pelas vantagens básicas que o mesmo apresenta: alta qualidade dos produtos, alta produtividade, baixo custo operacional, além de baixo consumo de energia, proteção ambiental-não produz efluentes (ARÊAS, 1992).

É um processo contínuo, no qual a matéria prima é forçada através de uma matriz ou molde, em condições de mistura e aquecimento, pressão e fricção que levam a gelatinização do amido, á desnaturação da (THAKUR; SAXENA, 2000) proteína e ruptura de pontes de hidrogênio. Durante o processo de extrusão ocorre gelatinização, cozimento, fricção molecular, mistura, esterilização e secagem, reestruturando a matéria-prima a fim de criar novas texturas e formatos (SEBIO, 1996).

3.12. FARINHA INSTANTÂNEA EXTRUSADA DE AMARANTO COM QUIRERA DE ARROZ NA PROPORÇÃO 30/70%

Obtida por extrusão termoplástica dos grãos de amaranto integral (*Amaranthus cruentus*, L. variedade "BR" Alegria) e da quirera de arroz (*Oryza sativa*, L) polido. Ambos foram moídos, separadamente, em moinho de facas e martelo e posteriormente em moinho de disco para obtenção da farinha instantânea, sendo submetida à classificação granulométrica e após a granulometria foi embalada em sacos impermeáveis de proteção contra a luz e umidade (MENDONÇA, 2005), conforme figura II, Fluxograma de elaboração da farinha instantânea extrusada de amaranto adaptada de MENDONÇA (2005).





A farinha obtida foi analisada para caracterização da composição química dos macronutrientes, vitaminas e minerais. Apresentando elevado conteúdo de aminoácidos essenciais, vitaminas, minerais amido (MENDONÇA, 2005).

O *amaranto* apresenta potencial funcional devido ao seu alto valor nutritivo. Sua aplicação na alimentação humana pode ser ampliada pela sua utilização como uma farinha instantânea obtida a partir da extrusão termoplástica e o seu consumo poderá ter impacto na saúde pública, melhorando o estado nutricional da população.

3.13. MODELO EXPERIMENTAL DE DESNUTRIÇÃO

A partir de meados do século XIX, a utilização de animais como modelos para o estudo de doenças humanas sofreu um grande incremento. Voluntários, escravos, prisioneiros, grupos minoritários foram usados para esse fim em todos os tempos, antes que preocupações de natureza ética levassem à adoção de normas destinadas a regulamentar a experimentação em animais (PIRES, 1989).

Anualmente, milhares de animais são empregados em estudos experimentais em todo o mundo (CAVALCANTI, *et al*., 2009).

No ano de 2003, cerca de 2,8 milhões de procedimentos envolvendo animais foram realizados somente na Grã- Bretanha e, em toda a Europa, esse número ultrapassa

os 10 milhões de animais. No Brasil, não existem dados oficiais que possibilitem estimar o número de animais utilizados em pesquisas na área biomédica, principalmente onde estudos envolvendo animais são predominantes nas áreas de nutrição (SCHNAIDER *et al*., 2003).

Os estudos sobre os tipos e graus das diferentes deficiências nutricionais foram realizados, de início, com populações humanas, especialmente aquelas residentes em países em desenvolvimento. Estes estudos foram muito relevantes, pois permitiram demarcar as regiões mais gravemente afetadas e, desta forma, direcionar programas assistenciais definidos por organizações humanitárias e também pelos governantes locais (MILLWARD; JACKSON, 2004; CUNNINGHAM-RUNDLES *et al*., 2005; GROSSNIKLAUS *et al*., 2008).

Entretanto, animais de laboratório vêm sendo empregados de forma crescente para avaliar os efeitos dos graus variáveis de desnutrição na susceptibilidade às infecções e também nos diferentes parâmetros da resposta imunológica. A grande vantagem do uso destes modelos é permitir avaliação altamente controlada de cada parâmetro nutricional o que não é possível no caso das populações humanas. Camundongos e ratos adultos (isogênicos ou *outbred*), alimentados com quantidades reduzidas de proteínas, vitaminas ou micronutrientes, constituem os modelos mais utilizados. O percentual de restrição alimentar varia de 3 a 70% segundo diferentes autores (WINTERGEST *et al*., 2007; KATONA *et al*., 2008).

Vários são os modelos de desnutrição utilizando ratos da espécie *Rattus norvegicus*, variedade Wistar, induzida com dieta deficiente em proteínas, para estudo de alterações hepáticas (ANDRAUS, 2007; GUERRA, 2006) e outros para diagnosticar as alterações provocadas pelo estresse oxidativo (PEREIRA, 2005) resposta imune (FRANÇA, 2009).

A partir dos anos 60 considerando o consumo de base da região do nordeste obtido por pesquisadores do Instituto de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco preocupados com a situação alimentar das crianças criaram uma dieta experimental utilizando os alimentos mais consumidos que deu origem a dieta de base da região nordestina (DBR), hoje utilizada como padrão ouro de indução de desnutrição

experimental em diversas pesquisas (CORRÊA *et al*., 2000; TAVARES *et al*., 2002; MEDEIROS *et al.*, 2008; GUEDES *et al.*, 2004; TEODOSIO *et al*.,1990).

Em estudo realizado em ratos diabéticos induzido pela Streptozotocina (STZ) por Menezes (1995) comparados com ratos desnutridos experimentalmente pela dieta de base do paraense de baixa renda identificada nos anos 70 por Jorge João *et al*., (1979) contendo 7,8% de proteínas, concluiu-se que a dieta utilizada experimentalmente para indução da desnutrição por levar a significativa perda de peso corporal dos animais, e ser capaz de promover fibrose pancreática, esteatose hepática, redução do peso do fígado e alteração dos níveis de glicose sanguínea, podia ser usada como modelo de desnutrição experimental em outros estudos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram realizados ensaios biológicos com ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus,* variedade Albinos), no laboratório de Experimentação do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará (UFPA), mantidos sob condições padrão de iluminação (ciclo claro/escuro), 12/12 horas, temperatura em torno de (23 ± 1^0C) (MERUSSE *et al.*, 1996).

A desnutrição foi instalada experimentalmente utilizando-se a Dieta de Base do Pará (DBRPA com 7,8% de proteína) de acordo com inquérito alimentar realizado nos anos 70 por Jorge João *et al*., (1979) do pós-parto aos 60 dias de vida dos filhotes e confirmada pelo déficit de peso comparado ao peso dos animais controle. A dieta teste foi a utilizada para indução da desnutrição adicionada da farinha instantânea de amaranto adicionada de arroz na proporção 30/70%. A formulação das dietas experimentais e de controle obedeceu às recomendações do American Institute of Nutrition (AIN, 1993) segundo adotado por Reeves *et al*., (1993) e considerando-se os dados obtidos em inquérito de consumo alimentar do Estado do Pará.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Pará, sob o código BIO002-2006, respeitando as normas de pesquisa em saúde segundo o. Conselho Nacional de Saúde (*CNS*). *Resolução CNS nº*. 196 (ANEXO 1).

4.2. AMOSTRA (ANIMAIS)

A amostra foi composta de 36 ratos, sendo 6 ratas com idade de 70 dias de vida e 30 ratos machos recém nascido (*Rattus norvegicus*, variedade albino, da linhagem Wistar), procedentes do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, divididos inicialmente em 6 Grupos de ratas grávidas e posteriormente em 3 grupos constituídos de 10 animais cada, a saber: Grupo 1. Controle (NUVILAB-CR1 a 22% de proteína); Grupo 2. Dieta indutora da desnutrição (DBR PA) com 7,8% de proteínas; Grupo 3. Dieta Indutora da desnutrição adicionada de farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção de 30/70% (DBR PA+ AA) com 11,33% de proteínas.

O tamanho da amostra utilizada no estudo foi baseado em vários trabalhos experimentais (FRANÇA, 2009; BORTOLINE, 2005; GUERRA, 2006, NUNES *et al*., 2002; OLIVEIRA *et al*., 2001).

4.3. COMPOSIÇÃO DAS NINHADAS

O estudo foi dividido em três fases, a saber: Na primeira fase utilizaram-se ratas comprovadamente grávidas (n= 6), na segunda fase todos os grupos foram constituídos da rata mãe e seis filhotes, do pós parto aos 21 dias (período de aleitamento) de acordo com as normas adotadas pelo Biotério de Experimentação Animal da USP (2004) sendo realizado para cada grupo triplicata para atingir o n amostral (n =10). Durante a gestação as ratas Mães foram alimentadas com dieta padrão para ratos (NUVILAB – CR1 a 22% de proteínas).

No pós-parto imediato a ninhada foi reduzida a 6 animais considerando o menor peso de 6 gramas e o sexo (macho). A redução da ninhada teve como objetivo oferecer as mesmas condições de aleitamento a todos os filhotes. A segunda fase teve início após o desmame (21 dias de vida dos filhotes) até aos 60 dias.

Durante todas as fases do experimento os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, medindo 41 x 34 x 16, com tampa aramada em inox, comedouro e bebedouro de vidro. Todas as gaiolas foram forradas com papel de filtro recoberto com gradil de arame galvanizado (para sugar a urina) e manter seco os resíduos das dietas, contribuindo para a coleta do rejeito.

Aos 21 dias os animais foram desmamados e colocados em gaiolas individuais iguais as anteriormente utilizadas e alimentados com a dieta materna específica de cada grupo.

A pesagem dos animais foi realizada durante a gestação no inicio e no final da mesma. Após o parto, as mães foram pesadas, determinando o primeiro peso materno durante o período de lactação. Durante o aleitamento a aferição do peso ocorreu no 14 º e no 21º dia de amamentação (desmame) e no pós desmame os animais foram pesados no 28º dia e no 60º dia de vida (término do experimento), utilizando uma balança eletrônica de Marca Tanica, com capacidade para 1000 gramas.

A água e as dietas foram ofertadas ad libitum tanto para as ratas mães como aos filhotes independentes do grupo.

Diariamente era registrado o resíduo da dieta e da água, utilizando uma balança eletrônica de Marca Tanica com capacidade para 1000 gramas e um Beker de 200mL.

A variação ponderal foi obtida pela diferença entre o peso anterior e o atual. A ingestão da dieta e da água foi calculada pela diferença, em gramas e mililitro, entre o alimento e a água oferecidos e o residual.

Grupos	Gestação 0 a 21 dias	Aleitamento 0 a 21 dias	Pós desmame 21 a 60 dias
Controle	Padrão a 22% de proteínas CR 1	Padrão a 22% de proteínas- CR 1	Padrão a 22% de proteínas CR 1
Desnutridos	Padrão a 22% de proteínas CR1	DBR-PA a 7,8% de proteínas	DBR-PA a 7,8% de proteínas
Tratados	Padrão a 22% de proteínas CR1	DBR-PA +AA a 11,33% de proteínas	DBR-PA +AA a 11,33% de proteínas

Quadro 1. Demonstrativo do procedimento experimental referente ao tratamento nutricional durante as fases de gestação, lactação e pós desmame.
Fonte: Dados preliminares

4.4. DIETAS UTILIZADAS

4.4.1. Controle (CR1 - Nuvilab)

Dieta equilibrada ou Controle para ratos de Laboratório baseada em recomendações do American Institute of Nutrition (AIN, 1993), segundo adotado por Reeves *et al*., (1993) constituída de carbonato de cálcio, farelo de milho, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bi cálcico, cloreto de sódio, premix mineral-vitamínico e aminoácidos.

4.4.2. Dieta indutora da desnutrição (DBPA)

A dieta indutora da desnutrição baseada em inquérito realizado no Pará por Jorge João *et al.*, (1978), onde se constatou o predomínio, na alimentação cotidiana de base, dos seguintes alimentos, em g/dia per capita: 242 g de farinha de mandioca (*Manioc sculenta*, Crant), 41 g de feijão Jalo (*Phaseolus vulgaris*), 21 g de pirarucu (*Arapaima gigas*) e 76 g de açaí (*Euterpe oleácea*, Mart) (MENEZES, 1995).

E importante mencionar que a elaboração da dieta indutora da desnutrição ter sido elaborada considerando os resultados do inquérito realizado nos anos 70, deve-se ao fato de não haver registro na literatura atual que substitua o inquérito utilizado dentre dos mesmos moldes, abrangendo várias microrregiões do Estado do Pará. Os dados mais atuais de que se tem conhecimento no estado trata-se do estudo de Orçamentos Familiares (POF, 2008-2009) segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010) no qual estão relacionados os alimentos que fazem parte da lista de compra da população do Pará, mais não há registro do real consumo da população entrevistada

4.4.3. Dieta teste (DBR-PA + Farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção 30/70%.

Dieta indutora da desnutrição adicionada de 30% da farinha extrusada de amaranto adicionado de arroz na proporção de 30 /70%, sendo esta adquirida do Laboratório da Embrapa Agroindústria de Alimentos-RJ.

A suplementação com 30% da farinha instantânea de amaranto foi baseada na necessidade de aproximar o percentual de proteína da dieta indutora da desnutrição ao recomendado para ratos de acordo com AIN- 93 (REEVES *et al.*, 1993).

A escolha do uso do amaranto deve-se ao fato de seu potencial nutricional (BREENE, 1991; MENDONÇA, 2005) e levando em conta a existência de um mercado em expansão (AMAYA-FARFAN *et al.*, 2005; MARCILIO *et al.*, 2003) a explosão pela procura dos alimentos funcionais (SOARES, 2008; MENDONÇA, 2006)

possibilidade real do amaranto e seus produtos serem passíveis de industrialização(AMAYA-FARFAN *et al*., 2005)) e na diversificação e ainda por ser capaz de servir no enriquecimento da alimentação de populações que devem excluir o glúten de sua dieta(MARCILIO *et al*., 2003).

4.5. ENSAIO BIOLÓGICO

4.5.1. **Avaliação do valor biológico das dietas**

Para avaliação do valor biológico das dietas, foram utilizados os índices de ganho de peso segundo preconizado por Sgarbiere (1996) por meio dos seguintes métodos:

4.5.2. Valor de lactância (VL)

Este método é baseado no aumento do peso corporal relacionado com a qualidade da proteína e a produção de leite. A duração desta fase do experimento corresponde ao período em que as crias se alimentam exclusivamente de leite, pois após o 14º dia ocorre abertura dos olhos, e os filhotes começam a se alimentar também com a dieta materna. O VL é obtido por meio do cálculo da variação de peso da mãe (g) + ganho de peso das crias (g) / proteína ingerida pela mãe (g) (SILVA *et al*., 2003).

Esta avaliação mede a adequação da proteína da dieta para o aleitamento, sendo então determinado até o 14º dia após o parto, a partir de quando as crias começam a partilhar da dieta testada. Para essa determinação foram utilizadas seis crias para cada rata, sendo o VL calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$VL = \frac{\text{variação de peso da mãe (g) + ganho de peso dos filhotes(g)}}{\text{Proteína consumida pela mãe (g)}}$$

4.5.3. Coeficiente de Eficiência Alimentar (CEA)

Este método foi utilizado para avaliar o ganho de peso corporal dos animais dos diversos grupos com o objetivo de verificar a eficiência que a dieta adicionada indutora da desnutrição adicionada de amaranto com quirera de arroz apresentou no ganho de peso dos animais. Este coeficiente é obtido pela seguinte fórmula conforme (SILVA, (2003).

$$CEA = \frac{\text{Ganho de peso do grupo (g)}}{\text{Dieta consumida pelo grupo (g)}}$$

4.6. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA PROTEÍNA

4.6.1. Escore Químico (EQ)

O escore químico foi determinado comparando-se a quantidade de cada aminoácido essencial da proteína teste com o aminoácido correspondente do padrão FAO/OMS (1991) seguindo as técnicas utilizadas por (SGARBIERI, 1996).

$$EQ = \frac{\text{mg de aminoácido / grama de proteína teste}}{\text{mg de aminoácido /grama de proteína padrão}}$$

Os resultados encontrados indicaram a ordem dos aminoácidos limitantes da proteína teste em relação ao padrão. O menor valor encontrado é o aminoácido limitante na proteína do alimento em teste.

4.7. CONFECÇÃO DAS DIETAS

As dietas experimentais foram confeccionadas no Laboratório de Técnica e Dietética (LTD) da Faculdade de Nutrição do Instituto de Ciência da Saúde da UFPA.

4.7.1. Confecção da dieta indutora da desnutrição (DBR-PA)

Os alimentos constitutivos da DBR PA foram adquiridos no comércio local. A farinha de mandioca (*Manihoc sculenta*, Crant) foi empregada na forma em que é comercializada.

O feijão Jalo (*Phaseolus vulgaris*) foi cozido à moda caseira, sem desperdício da água, evaporando-a em estufa com circulação de ar, a 70º C. Em seguida foi triturado. As técnicas usadas na confecção da dieta de base foram baseadas na utilizada por TEODÓSIO *et al.*, (1990) na confecção da dieta de base de Pernambuco.

O pirarucu (*Arapaima gigas*) foi dessalinizado conforme uso local, Bard, (1986); Botelho, (1956) dessecado em estufa com circulação de ar, a 70º C e triturado. O material assim obtido apresenta 95% de proteína segundo dosagem efetuada pelo laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do Departamento de Nutrição da UFPE.

O "vinho" de açaí (*Euterpe oleácea*, Mart), Cunha *et al.*, (1988) obtido do comércio local e (três vezes por semana) utilizado no momento da aquisição do produto.

A composição centesimal (Tabela I) da dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) foi determinada pelo Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL-UFPE), segundo os métodos descritos pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1995).

O conteúdo em aminoácidos foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica pelo Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (BEATY *et al.*, 1993).

A confecção da DBR- PA (64% de farinha de mandioca, 11% de feijão Jalo, 20% de "vinho" de açaí e 5% de pirarucu), semanalmente confeccionada e conservada em freezer, evitando-se, assim, sua fermentação. A DBR- PA contém 7,80% de proteínas (método de Kjeldhal).

A dieta apresenta-se de cor marrom violácea, odor e sabor agradável.

4.7.2. Confecção da dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) (DBR-PA+AA)

A farinha instantânea mista extrusada de amaranto com quirera de arroz confeccionada por Mendonça (2005) foi misturada a DBR- PA até formar uma mistura homogênea para posterior confecção dos *pellets*.

A dieta foi preparada semanalmente no Laboratório de Técnica e Dietética (LTD) da Faculdade de Nutrição do Instituto de Ciências da Saúde da UFPA.

A composição centesimal (Tabela I) da dieta utilizada como indutora de desnutrição contendo farinha instantânea de amaranto adicionada a dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) foi obtida a partir das análises isoladas de cada dieta utilizada no preparo da dieta somando-se os valores obtidos nas análises.

4.7.3. Preparo da Farinha Instantânea extrusada de Amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção de 30/70%

A farinha mista instantânea de *amaranto* adicionada de arroz na proporção de 30 /70 % foi adquirida da Embrapa Agroindústria de Alimentos do RJ (MENDONÇA, 2005).

A mesma foi elaborada pelo processo da extrusão termoplástica á base de amaranto integral (*Amaranthus cruentus*) e da quirera de arroz (*Oryza sativa*, L) com o objetivo de desenvolver farinhas instantâneas e novos produtos alimentícios como os *snacks*, bebidas láteas e sopas instantâneas, a partir da respectiva farinha.

Na confecção da dieta teste utilizada nesse estudo a farinha instantânea extrusada de amaranto com quirera de arroz foi adicionada à dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) e armazenada em sacos plásticos, onde foram mantidos sob refrigeração em freezer até o momento da utilização na forma de *pellets.*

4.7.4 Caracterização química da farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção de 30/70%

As análises realizadas foram às seguintes: umidade, extrato etéreo, proteína bruta e cinzas, segundo as normas elaboradas pela ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC, 1998 - 2000 e AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS-AACC, 1995; e pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985 conforme (MENDONÇA, 2005).

4.7.4.1. Umidade

Foi determinada por meio da diferença de massa de amostra seca em estufa à 105ºC por 8 horas e a massa original da amostra (~5g), através da evaporação da água, da amostra ambas pesadas em balança analítica, conforme metodologia descrita pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985), método 6.1.1. e pelo método 44-15ª, da AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS – AACC, 1995 conforme (MENDONÇA, 2005).

4.7.4.2. Proteína bruta

Foi determinada pelo método de Kjeldhal tradicional, utilizando como catalisador o Na_2SO_4 $CuSO_4$ e Se; o titulante H_2SO_4 ,0,1N e o indicador contendo vermelho de metila e azul de metileno. Os teores de proteína foram calculados utilizando-se o fator de conversão de 6,25 (AACC, 1995), método 46- (13 modificados). Este valor foi tradicionalmente utilizado por vários autores que pesquisaram o grão de amaranto (BRESSANI *et al.,* 2000;· KONISKI *et al.,* 1991;· LUQUEZ *et a*l., 1996; AULER, 2002; MENDONÇA, 2005).

4.7.4.3. Cinzas

Foram realizadas por método gravimétrico, mediante calcineração das farinhas cruas e extrusadas à 550ºC em mufla, após incineração em chama até peso constante, segundo metodologia da AOAC (1998-2000), método 923.03, conforme (MENDONÇA 2005).

4.7.4.4. Extrato etéreo

Foi determinado por solvente químico (éter) em aparelho extrator Soxhlet segundo a metodologia da ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC, 1998-2000), nº 945.38 conforme Mendonça (2005), do qual foi obtido o teor de lipídios por extração com solvente orgânico, éter de petróleo, seguido de remoção por evaporação do solvente.

4.7.4.5. Amido

O teor de amido de amido foi determinado segundo a metodologia da AOAC (1998-2000), método 920.44 (MENDONÇA 2005).

4.7.4.6. Carboidratos

Determinou-se a concentração de carboidratos totais ou fração nifext, através da subtração do número 100 pelo somatório das porcentagens determinadas de proteína, lipídios, cinza, umidade e fibra. A fração nifext ou fração livre de nitrogênio representa a concentração de carboidratos totais (excluindo-se a fibra alimentar) (MENDONÇA 2005).

4.7.4.7. Perfil de aminoácidos

Foi determinado em um analisador de aminoácidos marca DIONEX modelo DX 300, após hidrólise ácida conforme MENDONÇA (2005).

4.8. DOSAGENS BIOQUÍMICAS

Aos 60 dias de vida todos os animais foram colocados em jejum de 12 horas, seguido da oferta por um período de 1 hora da dieta correspondente ao grupo e novamente colocado por 12 horas de jejum noturno. Após o jejum os animais foram preparados e decapitados, e imediatamente após coletou-se o sangue para determinação das dosagens dos lipídios sanguíneo, hemograma, leucograma, e dos fatores determinantes do estresse oxidativo. Foram realizadas as determinações dos níveis da Atividade da Catalase, e Peroxidação Lipídica no Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA e as dosagens de lipídios, hemograma e leucograma pelo Laboratório Dr. Paulo Azevedo.

4.8.1. Dosagens de Fatores determinantes do estresse oxidativo

4.8.1.1 Atividade Enzimática da Catalase

Para a medida da atividade bioquímica da atividade da enzima catalase (CAT), foi usado amostras de sangue coletadas com EDTA, as quais foram centrifugadas a 1500 rpm durante 5 minutos. O plasma foi retirado e os eritrócitos lavados três vezes com solução salina 0,9% por meio de centrifugação a 1500 rpm durante 5 minutos. Em seguida, os eritrócitos foram diluídos em tampão Tris-HCl (na proporção 1:3) e armazenados a –20ºC.

Os eritrócitos foram diluídos 250 vezes para reação enzimática. Em um Erlenmeyer, foi colocado 5 ml de tampão fosfato/H_2O_2, 100 µl na amostra diluída. Incubado em banho-maria a 37ºC por 5 minutos. Para estacionar a reação foi colocado 5

ml de H_2SO_4 2N. Titulado com $KMnO_4$ 0,05 N. Corrigido os valores obtidos com a quantidade de proteínas (PINHEIRO, 2005).

4.8.1.2 Medida da Peroxidação Lipídica

O índice de Peroxidação lipídica foi determinado pela quantificação de malonaldeído e 4-hidroxialquenales (MDA e 4-HA) presentes na amostra, tais como o 4-hidroxi-2(E)- nominal; os quais são importantes produtos de decomposição dos peróxidos derivados dos Ácidos graxos poliinsaturados e seus ésteres relacionados. O tecido hepático será descongelado lentamente e homogeneizado em Tris-HCl 20 mM, ph 7,4, a 4º C (1:10 g/mL) por 3 a 4 segundos, posteriormente foi centrifugado: 2500g por 10 minutos à 4º C.

As amostras que apresentaram turbidez foram centrifugadas a 15000g, por 10 minutos, antes da leitura; ler a absorvância com comprimento de onda de 586 nm.

O método consiste em construir uma curva de calibração derivada da solução padrão utilizando-se diluições (em Tris-HCl 20 mM, ph 7,4) de concentrações conhecidas a partir da uma solução padrão de 4-hidroxialquenal 10 mM em acetonitrila. (ESTERBAUER; CHEEESEMAN, 1990).

4.9. ANÁLISES HEMATOLÓGICAS (ERITROGRAMA E LEUCOGRAMA)

O sangue coletado foi colocado em micro tubos de 500 mL, heparinizado e encaminhadas ao Laboratório para as dosagens de Hemácias, Hematócrito, Hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, Plaquetas, leucócitos, eosinófilo, linfócitos, monócitos, neutrófilos

As dosagens do Eritrograma e Leucograma foram determinadas pelo método de contagem automatizada através da Citometria de Fluxo.

4.10. ANÁLISE DO PERFIL LIPÍDICO SÉRICOS

As dosagens dos lipídios (Colesterol total e frações de HDLc e LDLc) e triglicerídios foram determinadas através do método Calorimétrico enzimático, utilizando Kit específico para ratos As dosagens foram realizadas pelo Laboratório de Análise Clínicas Paulo Azevedo.

4.11. AVALIAÇÃO HISTOPALÓGICA DO FÍGADO POR MICROSCOPIA ÓTICA

O fígado foi retirado após decapitação dos animais por meio de laparotomia mediana, lavado em solução salina a 0,9%, secado e pesado, fixados em formol a 10%. Das peças foram feitos cortes de 6μm, corados em Hematoxilina Eosina (HE) conforme método adotado no Laboratório de anatomia patológica do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará. A finalidade da análise histopatológica foi de verificar se a dieta em teste foi capaz de melhorar a esteatose característica da desnutrição e acentuada pela presença de radicais livres.

4.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Com relação ao peso dos animais (peso x período); a quantidade de dieta ingerida (peso x dieta); quantidade de proteína ingerida (peso x ingestão de proteína), os dados foram analisados por meio da Análise de Variância (ANOVA) de um fator (consumo x período), utilizando o teste de Tukey para as medidas significantes (p=0,05). Para análise da correlação dos dados (dieta consumida ganho de peso), foi analisada pela correlação Linear de Pearson. Os valores das médias e desvio padrão foram obtidos grupos pela estatística descritiva, sendo realizado o teste de Anova para comparar as diferenças das médias entre os grupos. A análise estatística dos dados foi avaliada por meio do Programa estatístico Bio Stat, versão 5.0. Foi considerado o nível de significância de 5%. Enquanto a representação gráfica dos resultados foi efetuada com a Microsoft Excel, 2007.

5. RESULTADOS

5.1. DIETAS UTILIZADAS NO EXPERIMENTO

5.1.1. Composição centesimal das dietas

Na tabela I encontra-se a composição centesimal da DBR-PA (Dieta indutora da desnutrição) e da dieta adicionada da farinha instantânea extrusada de amaranto. Pode ser observado na tabela que a dieta indutora da desnutrição é uma dieta hipoproteica (7,8%), hipolipídica (1,24%) e normocalórica (290,48Kcal), segundo as recomendações para ratos adultos da American Institute of Nutrition (AIN, 1993) (REEVES *et al*., 1993).

Ao suplementar a DBR-PA com a farinha instantânea extrusada de *Amaranto* pode ser observado na tabela I, que houve um acréscimo das calorias em 41% e em 45% nas proteínas, o que contribui para uma melhor qualidade nutricional. A dieta teste (DBR-PA +AA) expressa na tabela I, apresenta-se hipercalórica (408,46Kcal) e normoproteíca (11,33%), segundo as recomendações para ratos em lactação e em período de crescimento do AIN-93 (Reeves *et al*., 1993),

O conteúdo de proteína da dieta DBR-PA é na ordem de 7,8 % e é considerada insuficiente para ratos em crescimento, visto ser necessário nessa etapa de vida dos animais um percentual protéico de 18 a 25 % da energia metabolizável total da dieta por se tratar de ser confeccionada com alimentos naturais. Com relação à dieta DBR-PA adicionada da farinha instantânea extrusada de Amaranto (11,33%) apesar do conteúdo de proteína da dieta teste ser menor do recomendado (18 a 25%) ocorreu um acréscimo de 19,61% no total da energia metabolizável, esses resultados estão expressos na tabela I.

Nas dietas utilizadas no estudo tanto a indutora da desnutrição como a utilizada como dieta proposta para minimizar o efeito do estresse oxidativo decorrido da desnutrição, o macronutriente que aparece em maior proporção na composição das mesmas é o carboidrato, em decorrência da farinha de mandioca e do Açaí, na DBR-PA, ambos muito calóricos e da farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz que foi utilizada para suplementar a dieta indutora da desnutrição O carboidrato presente na dieta DBR-PA encontra-se na proporção de 62%, quase que exclusivamente

na forma complexa (amido), por serem os ingredientes de origem natural e na dieta adicionada de amaranto, encontra-se na proporção de 85% sendo 48% na forma de amido e o restante na forma simples, por se encontrar na forma de farinha instantânea.

Em relação aos níveis de lipídios das dietas observa-se que as mesmas são deficientes nesse macronutriente, uma vez que seus valores encontram-se abaixo do limite mínimo aceitável para a dieta de ratos, apesar de não haver recomendação conclusiva para a concentração dietética ótima de lipídios, este fato é preocupante por serem os lipídios dietéticos requeridos como fonte dos ácidos graxos essenciais necessários para a síntese dos lipídios dos tecidos e membranas celulares, além de serem requeridos para a absorção e utilização normal das vitaminas lipossolúveis. Tanto a dieta DBR-PA como a dieta experimental adicionada de Amaranto são deficientes em lipídios (1,24 e 1,43%), DBR-PA e DBR-PA+AA, respectivamente e encontram-se abaixo do recomendado de 5% segundo o AIN 93(REEVES *et al*., 1993).

Constituintes	**Dieta Indutora da desnutrição (DBR-PA)**	**Dieta teste (DBR-PA+AA)**
g %)	100	100
Açaí (vinho) [a]	20	20
Farinha de mandioca[a]	63,68	63,68
Feijão Jalo[a]	10,79	10,79
Pirarucu Salgado[a]	5,53	5,53
Farinha instantânea de Amaranto com quirera de arroz[b]	X	30
Total em Calorias (Kcal)	290,48	408,46
Proteínas	7,80	11,33
Carboidratos	62,02	87,56
Lipídios	1,24	1,43
Sais Minerais	1,73	2,09
Vitaminas Hidrossolúveis	X	1,69
Vitaminas Lipossolúveis	X	0,49
Fibra	3,24	3,61

Tabela I. Composição centesimal das dietas utilizadas

[a] (Segundo análise dos princípios imediatos realizada no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) DA Faculdade de Nutrição da UFPE;
[b] (Segundo as Normas elaboradas pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1985) nos Laboratórios de Análise física e química da Embrapa-RJ.

A tabela II mostra a composição centesimal da dieta controle fornecida pelo fabricante. A mesma foi utilizada na forma que é comercializada, contém 22% de proteínas e 455 kcal em 100 gramas de dieta e é apresentada segundo os requerimentos para ratos do AIN 93(REEVES *et al*., 1993).

I**NGREDIENTES**	**NÍVEIS DE GARANTIA**	
1. Carbonato de C	Umidade	12,50%
2. Farelo de Milho	Proteína Bruta	22,0%
3. Farelo de Soja	Extrato Etéreo	4,0%
4. Farelo de Trigo	Matéria Mineral	10,0%
5. Fosfato Bi cálcico	Matéria Fibrosa	8,0%
6. Cloreto de Sódio	Cálcio	1,4%
7. Premix Mineral Vitamínico	Fósforo	0,8%
8. Aminoácidos		

Tabela II. Composição da dieta padrão CR-1 (Nuvilab) utilizada no estudo

Fonte: Fornecedor do produto

5.1.2. Perfil de aminoácidos

A tabela III mostra o perfil de aminoácidos das dietas utilizadas nesse estudo, sendo visto que de todos os aminoácidos dieteticamente indispensáveis para o rato apenas a metionina encontra-se deficiente na dieta indutora da desnutrição (1,96 mg/g de proteína) e dieta controle quando comparadas ao padrão (2,12mg/g de proteína) da FAO/OMS (1991), o que pode acarretar deficiência de cisteína por ser esta sintetizada a partir da metionina e ainda acentuar a limitação da metionina (SGABIERI,1996). É possível verificar que a adição do amaranto na dieta de DBR-PA melhorou o perfil de metionina, deixando a dieta de base do paraense (2,14 mg/g de proteína) com nível de metionina superior ao padrão recomendado, elevando em 17% a metionina presente na dieta, estando superior em 38% da dieta controle.

Com relação aos aminoácidos limitantes das dietas ainda pode ser observado na mesma tabela que a tirosina é o primeiro limitante (1,33 mg/g de proteína) na dieta DBR-PA, entretanto também se encontra limitante na dieta de base do paraense adicionada de Amaranto (2,14 mg/ g de proteína) e na dieta controle (2,85 mg/g proteína) ao ser comparada ao Padrão FAO/OMS(1991) (5,11 mg/g de proteína).

É notável a superioridade da lisina nas dietas, por estas conterem na sua composição leguminosa, considerada como fonte principal desse aminoácido, sendo de grande valor na complementação das proteínas de cereais, que de um modo geral são pobres em lisina (GARRUTI, 1986).

Na tabela III os resultados mostram que a dieta enriquecida de amaranto é acrescida de 51% de aminoácidos sulfurados, que são limitantes na dieta indutora da desnutrição, ficando superior a dieta controle e ao padrão recomendado. Com exceção da tirosina todos os demais aminoácidos são superiores ao padrão da FAO /OMS (1991).

Tabela III. Perfil de aminoácidos das dietas utilizadas no estudo em comparação sugerido ao pelo padrão FAO/ WHO (1991)

Aminoácidos essenciais (mg/g Proteína)	Padrão FAO/OMS (mg/g Proteína)	Dieta Controle NUVILAB (mg/g Proteína)	DBR-PA (mg/g Proteína)	DBR +AA (mg/g Proteína)
Ac. Aspártico	10,27	12,26	15,83	18,06
Ac. Glutâmico	24,99	22,48	18,83	23,60
Serina	5,81	X	4,95 **	6,39
Histidina	1,9	2,41	2,85	3,49
Glicina	2,07	6,09	6,45	7,40
Treonina	3,4	4,09	5,32	6,17
Alanina	3,21	X	6,56	7,73
Arginina	2,32	6,63	6,01	8,30
Tirosina a	5,11	2,85 *	1,35 *	2,14 *
Cistina	0	0,61	0,00	0,36
Valina	3,5	5,18	6,27	7,44
Metionina	2,12	1,54 **	1,96 **	2,30
Fenilalanina	5,76	4,49	6,38	7,57
Isoleucina	2,8	4,17	5,89	6,86
Leucina	6,6	6,73	9,43	11,14
Lisina	5,8	4,95	8,92	10,22
Prolina	10,96	X	5,13	6,25
Metionina + cistina [b]	2,5	2,15 **	1,96 **	2,66
Fenilalanina + tirosina [c]	6,3	7,34	7,73	9,71

***** (aminoácido limitante nas três dietas avaliadas); ****** (aminoácido limitante apenas em duas dietas avaliadas);

a (primeiro aminoácido limitante);

b (total de aminoácidos sulfurados); c(total de aromáticos); X (sem dado).

5.2. ENSAIO BIOLÓGICO

5.2.1. Valor de Lactância (VL)

A tabela IV revela os valores de lactância onde é possível observar que houve diferenças entre os grupos ($p<0,05$) em relação à adequação da proteína das dietas para o aleitamento dos filhotes. Os dados da tabela mostram que a proteína da dieta Indutora da desnutrição (DBR-PA) é insatisfatória para o aleitamento, visto pela perda de peso da rata mãe durante o período de lactação quando comparado com a dieta suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção 30/70% (DBR-PA+AA) e a dieta controle. Entretanto, é importante mencionar que a dieta padrão para ratos utilizada no estudo é inferior a dieta teste em relação ao seu conteúdo de aminoácidos essenciais. Apesar do baixo valor de lactância da dieta padrão para ratos não foi observado nesse grupo (controle) mortalidade ou canibalismo, fenômenos que ocorrem durante a administração de dieta desbalanceada em aminoácidos essenciais Silva *et al.,* (2003) como a metionina limitante tanto na dieta controle como na DBR-PA. Porém, a deficiência desses aminoácidos na dieta indutora de desnutrição provocou os fenômenos de canibalismo e de mortalidade durante o período de aleitamento.

Tabela IV. Avaliação nutricional, através do valor de lactância (VL), de ratas nutrizes alimentadas com a dieta de base do paraense adicionada de amaranto

a- Determinada após o período de 14 dias no pós parto;

DIETAS	Variação de peso das ratas(g)	Ganho de peso dos filhotes(g) b	Dieta Ingerida(g)	Proteína ingerida(g)	VL
Controle	6,1 ± 0,3	12,5 ± 2,8	436.6 ±115,0	96,0 ± 25,3	0,19 ± 0,12*****
DBRPA	-26,8 ± - 24,4	8,5 ± 3,9	299,0 ± 211,6	43,9 ± 16,5	0,42 ± -0,01**
DBRPA + AA	42,1 ± 0,7	13,3 ± 0,8	362,0 ± 167,0	24,9 ± 18,9	2,22 ± 0,01******

b- Média e desvio padrão das crias para cada tipo de dieta;

c- Anova Teste de turkey ($p< 0,05$).

5.2.2. Coeficiente de Eficácia Alimentar (CEA)

Os dados referentes à avaliação da eficácia alimentar da dieta em relação ao valor protéico podem ser observados na tabela V onde é visto que a proteína da dieta controle utilizada neste estudo (AN-1) apesar de suas limitações em alguns aminoácidos essenciais como a tirosina e a metionina, conseguiu que os animais em termos de ganho de peso apresentassem um desempenho além do esperado (21%), durante o período gestacional. Por ser de conhecimento segundo Reeves *et al*., (1993), que ratos não alcançam seu potencial de crescimento genético para crescimento se o aminoácido essencial for suprimido da dieta, é que todas as ratas mães foram submetidas a mesma dieta durante a gestação, a partir daí é que foi calculado o CEA, não havendo diferença estatística significante entre as ratas gestantes.

Tabela V. Coeficiente de eficácia alimentar (CEA) das ratas mães durante a gestação

Dieta	G. de peso	Dieta ing.	CEA	P
CONTROLE(C)	62	525	0,12	Ns
CONTROLE (DBRPA)	49,6	500	0,09	Ns
CONTROLE (DBRPA+AA)	41,8	518	0,08	Ns

Anova. Teste de Tukey($p < 0,05$); ns= não significante

5.3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE PROTÉICA

5.3.1. Escore Químico

Os escores dos aminoácidos das dietas encontram-se na tabela VI, onde se verifica que a dieta de base do paraense quando suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz na proporção 30/70% apresentou uma melhoria de quase todos os Escores de aminoácidos essenciais quando comparado com o padrão, a dieta DBR-PA e a dieta controle, exceto na tirosina que se encontra abaixo do padrão recomendado pela FAO OMS (1991).

Tabela VI. Escore de aminoácidos das dietas utilizadas no estudo

Aminoácidos essenciais mg /g proteína	Dieta controle (CR-1)	Dieta Indutora da desnutrição (DBRPA)	Dieta Teste (DBRPA+AA)
Arginina	2,86	2,59	3,58
Fenilalanina + Tirosina	1,16	1,23	1,54
Tirosina	0,56	0,26	**0,42**
Histidina	1,27	1,50	1,84
Isoleucina	1,49	2,10	2,45
Lisina	0,85	1,54	1,76
Leucina	1,02	1,43	1,69
Metionina +Cistina	0,86	0,78	1,06
Treonina	1,20	1,56	1,81
Valina	1,48	1,79	2,12

DBR-PA (Dieta de base do paraense); DBR + AA (Amaranto), CR-1(Nuvilab)

5.4. AVALIAÇÃO PONDERAL

5.4.1. Peso das ratas mães na gestação e no aleitamento

5.4.1.1. Peso na Gestação

A figura III mostra a média de peso corporal (em gramas) dos grupos durante todo o período de gestação (21 dias). Através destes dados podemos observar que não houve diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$). Durante o período de gestação as ratas ganharam em média 50,93 ± 10,46 gramas.

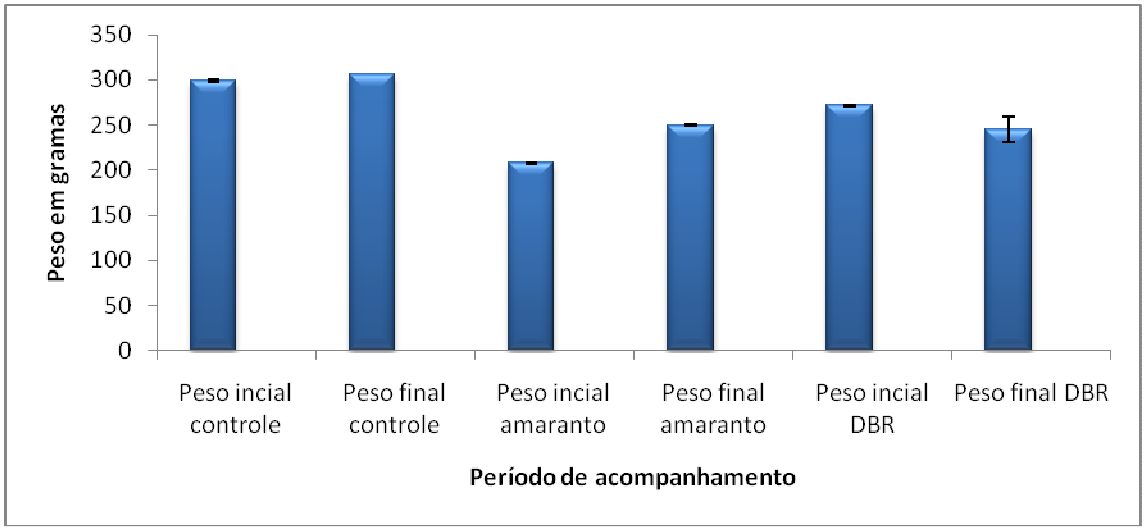


Figura III. Peso das ratas mães durante o período de gestação. (Média e Erro padrão) Anova. Teste de tukey (p<0,05).

5.4.1.2. Peso no Aleitamento

A diferença de peso das ratas mães (Figura IV), ao longo dos 21 dias de lactação, revelaram um efeito significativo da dieta suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz em relação ao dia do desmame (p <0,05). É possível verificar que apenas os animais do grupo da dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) deficiente em proteínas e calorias apresentaram perda de peso ao término do aleitamento, os demais tanto o controle como o grupo da dieta adicionada de amaranto apresentaram aumento de peso, sendo esta maior nos amaranto, com um ganho de 43,6 gramas.

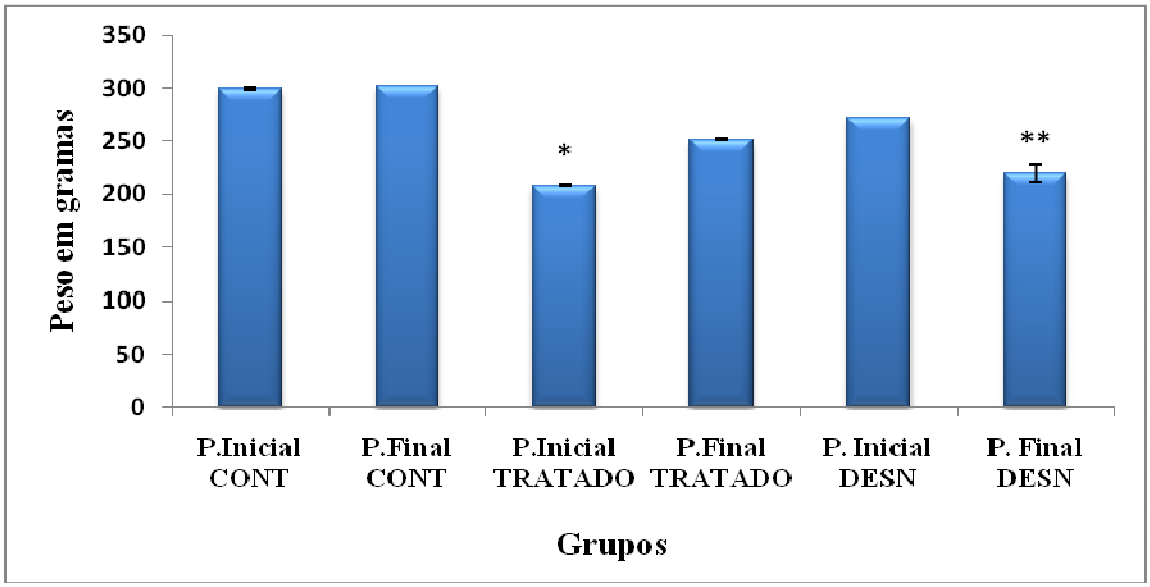


Figura IV. Peso das ratas mães durante o período de Aleitamento (Média e Erro padrão) Anova. Teste de tukey (p<0,05).* = peso inicial Tratados x peso final Tratados; ** peso inicial x Peso final Desnutridos.

Entretanto, foi possível verificar durante os primeiros 14 dias de aleitamento que o peso das ratas mães tratadas com amaranto aumentou, tendo- se mantido estável esse aumento ao longo de toda lactação (32 gramas), sendo esta diferença significante (p< 0, 010), enquanto que, os animais controle o aumento de peso foi de 5,9 gramas nos primeiros 14 dias de aleitamento, tendo apresentado perda de 4 gramas ao término da lactação, o que configurou um ganho real de 1,9 gramas. As ratas alimentadas com a dieta DBR-PA com 7,8 % de proteína apresentaram perda de peso durante todo o período de aleitamento, em torno de 26 gramas nos primeiros 14 dias e de mais 25,4

gramas até o termino do aleitamento, o que totaliza uma perda de 51,4 gramas, chegando a valores mais baixos no término do aleitamento (219,8 g) do que o início da gestação (272g), que pode ser observado na figura V.

No grupo que consumiu a dieta deficiente em proteína (DBR-PA) ocasionou uma perda de peso estatisticamente significativa ($p < 0,01$) aos primeiros 14 dias de aleitamento e ao término do aleitamento quanto à perda de peso e no grupo que recebeu a dieta controle tanto a perda como o ganho de peso apresentado nos dois momentos avaliados (14 e 21 dias) as diferenças não foram significante.

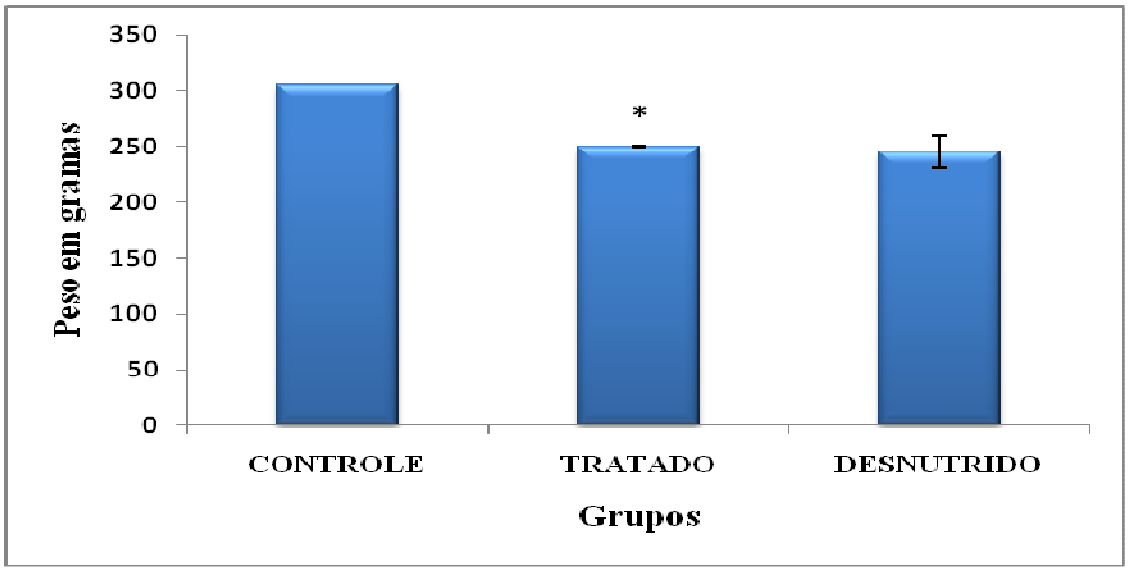


Figura V Evolução ponderal das ratas mães durante os 14 dias de aleitamento (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey ($p < 0,05$) * = diferença entre controles x tratados x desnutridos.

5.4.2. Peso dos filhotes no aleitamento

Na figura VI pode ser observado que no nascimento não houve diferença estatística entre os animais dos grupos quando comparados entre si ($p \geq 0,05$); porém, aos 10 dias de aleitamento os grupos foram diferentes estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$), embora quando se comparou os animais controle aos que receberam a dieta enriquecida de amaranto (DBR-PA +AA) a diferença não foi significativa, entretanto, tanto os controles como os amarantos quando comparados aos desnutridos (DBR-PA) foram estatisticamente diferentes ($p < 0,01$).

O peso dos filhotes na fase de lactação apresentados na figura VI mostra efeito significativo da dieta. Nesse período a diferença de peso corporal dos animais controle, desnutridos e tratados com a suplementação da farinha instantânea extrusada de *amaranto*, foi muito marcante a partir da última semana de aleitamento, com os animais desnutridos chegando a pesa 20% menos que os animais tratados com amaranto.

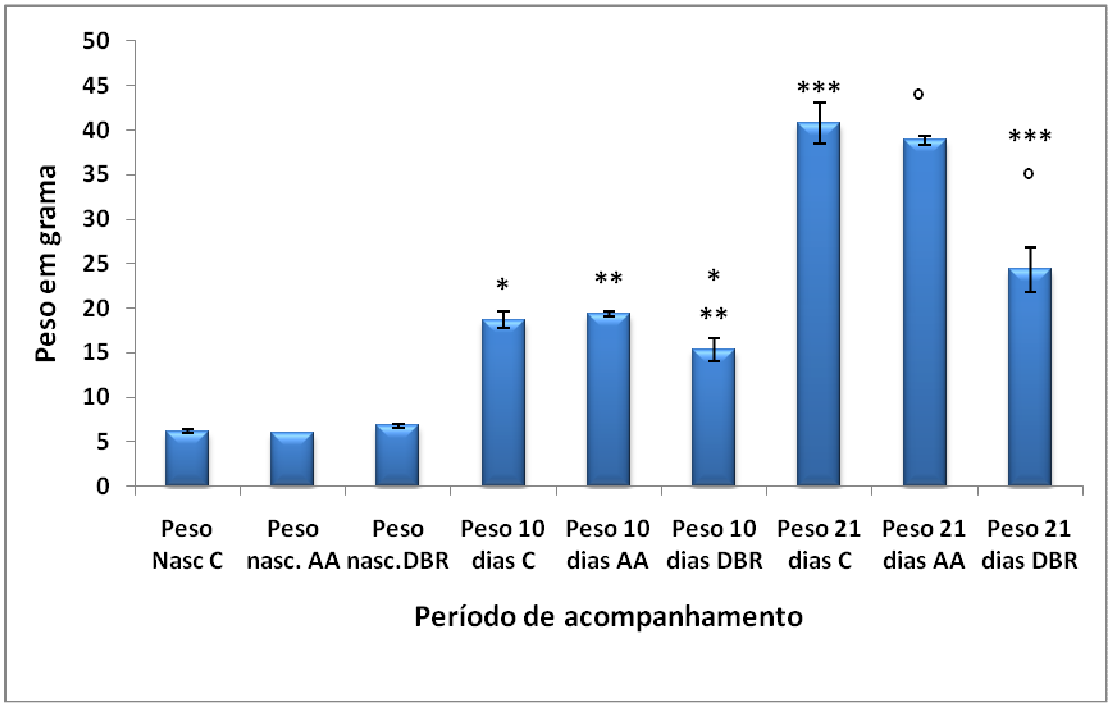


Figura VI. Evolução ponderal dos filhotes do nascimento ao desmame (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey ($p < 0,05$). * = P 10 C x P10 DBR; ** = P10 Amaranto (AA) x P10 DBR; *** = P21 controle x P21 DBR; ° = P21 amaranto x P21 DBR.

Ao final do aleitamento as diferenças de peso entre os animais do grupo desnutrido foram significativamente diferentes ($p < 0,01$) tanto em relação aos controles como aos tratados, entretanto, ao comparar os controles com os animais tratados com amaranto não houve diferença significante ($p > 0,05$). Ao desmame o maior peso foi observado nos animais controle (40,8 g) seguido do peso dos animais tratados com a dieta suplementada com farinha extrusada de amaranto (39,9 g) e menor nos desnutridos (24,4 g) o que pode ser observado na figura VII.

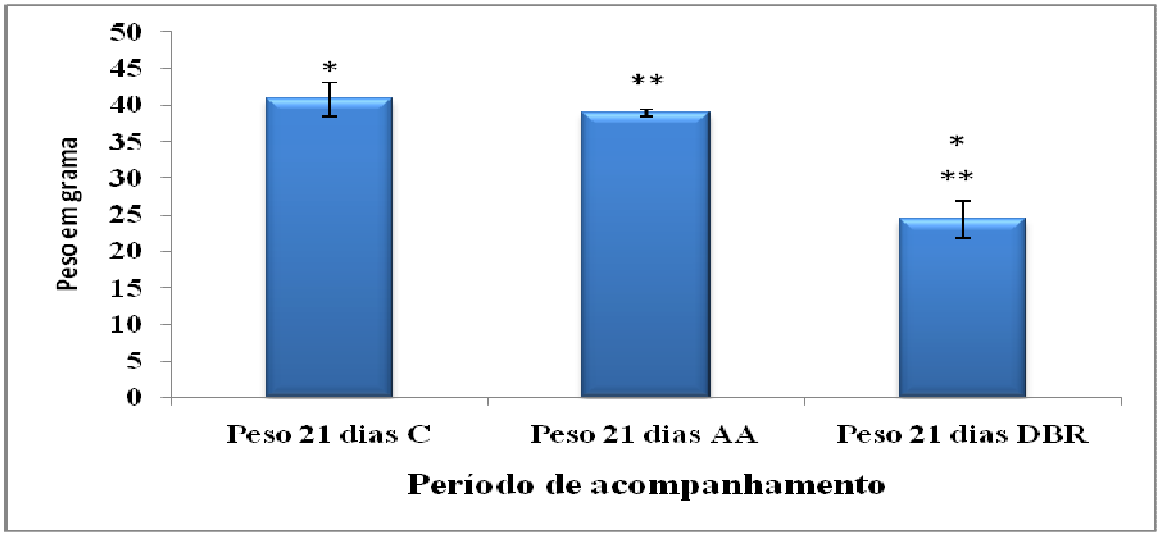


Figura VII. . Peso dos animais no final do aleitamento (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey, ($p < 0,05$). * = controle x desnutridos x tratados; ** = Tratados (AA) X Desnutridos (DBR).

5.4.3. Peso dos filhotes pós desmame

Aos 28 dias pós desmame os animais tratados com amaranto pesaram em média 81,6 ± 0,88 g enquanto os desnutridos 29,9 ± 2,8 g uma diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,01$). A figura VIII mostra as diferenças de peso entre os grupos.

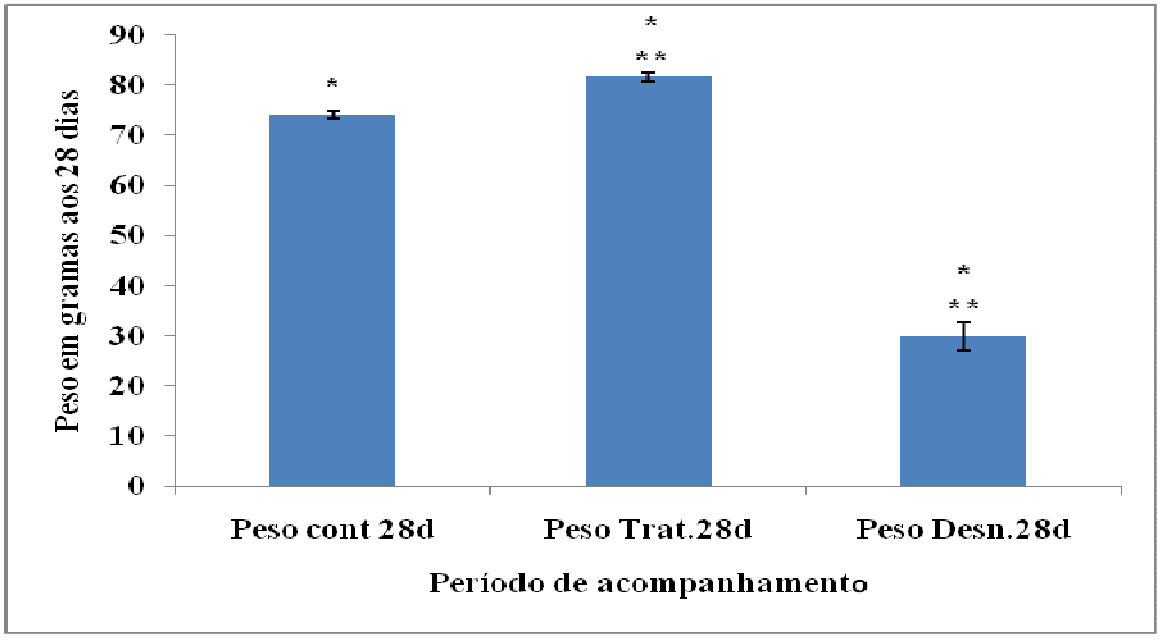


Figura VIII. Peso dos animais aos 28 dias de dieta no pós aleitamento (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey, ($p < 0,05$). ***** = Controle 28 x Trat.(amaranto)28 x desn (DBR) 28dias; **= Trat.(amaranto)28 x desn (DBR) 28dias;

Aos 60 dias de uso das dietas é possível verificar na figura IX que o peso foi diferente estatisticamente entre todos os grupos ($p<0,01$). Maior nos controle (180 ±2,0 g) e menor nos desnutridos (54,9 ± 5,4 g). Entretanto, foi observado que após os 28 dias de uso da dieta suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz o ganho de peso dos animais aumentou em 39% em relação ao peso aos 28 dias, porém, o grupo apresentou uma diminuição no ganho de peso quando se comparou ao período compreendido entre o desmame e o 28º dia de dieta, quando obteve um acréscimo de peso de 103% , sendo observada uma inversão de aumento de peso em relação ao grupo controle, que apresentou um menor percentual de ganho de peso entre o desmame e o 28% dia de dieta (85%) enquanto que do 28º aos 60 dias o percentual de ganho de peso foi superior aos animais tratados com a farinha instantânea extrusada de *amaranto* (143%).

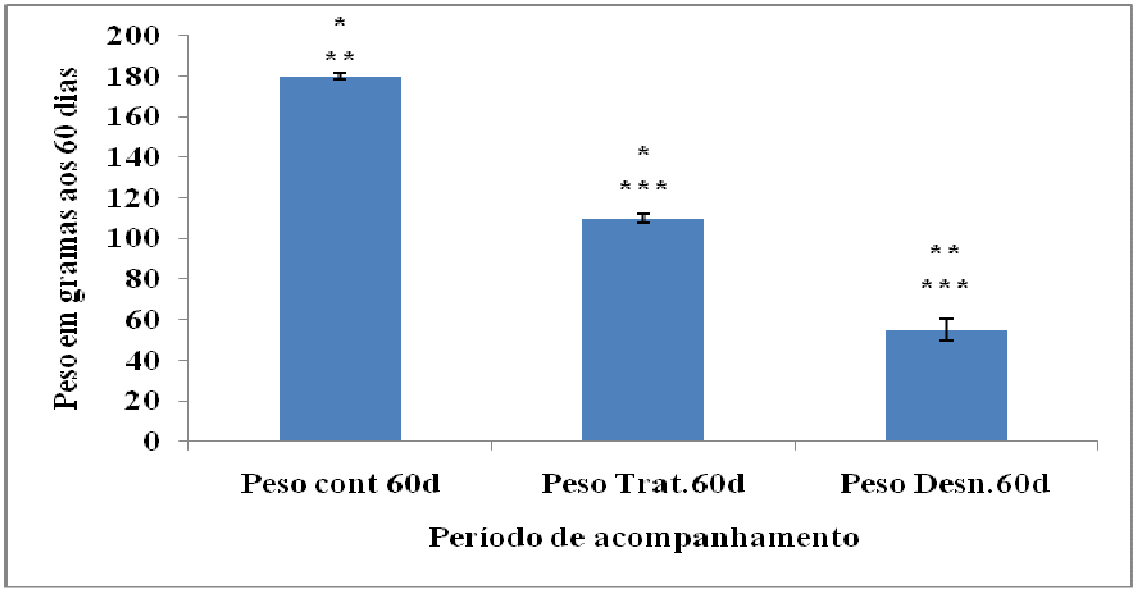


Figura IX. Peso dos animais aos 60 dias de dieta no pós aleitamento (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey, ($p < 0,05$). ***** = Controle 60 x amaranto60 x DBR 60dias.

5.5. CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS

5.5.1. Consumo materno

5.5.1.1. Consumo na gestação

Durante o período gestacional (21 dias) todas as ratas mães receberam a mesma dieta padrão para ratos (22% de proteína), tendo sido monitorado o consumo, que revelou não haver diferença significante entre as ratas (p = 0, 138). O menor consumo (24,7g) ocorreu entre as ratas que foram destinadas no desmame a dieta suplementada com farinha instantânea extrusada de *amaranto* adicionada de quirera de arroz na proporção de 30/70 (Figura X).

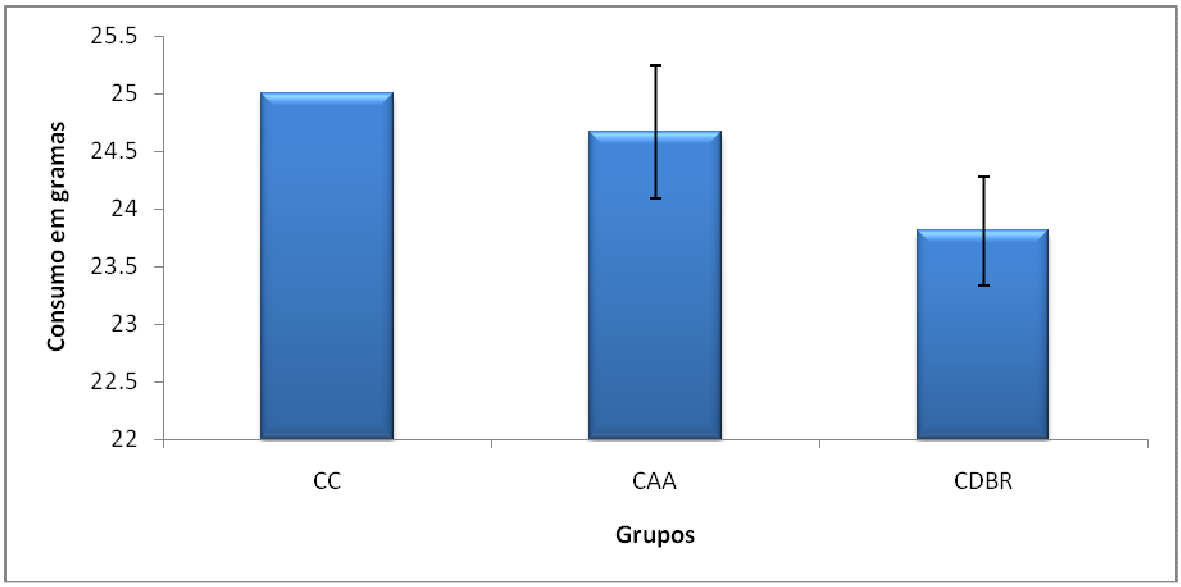


Figura X. Evolução do consumo das ratas mães durante a gestação (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.5.1.2. Consumo nos 14º dias de aleitamento

A partir do parto, no período de aleitamento o consumo mostrou-se diferente estatisticamente entre os grupos controle e desnutrido (p= 0, 005), porém, maior nas ratas do grupo controle. Quando foi comparado o grupo de ratas com dieta pobre em proteína ao grupo com adição de amaranto a diferença de consumo mostrou-se diferente estatisticamente ($p<0,01$).

A figura XI mostra que houve diferença estatística no consumo das dietas nos 14 primeiros dias de aleitamento entre os grupos (p = 0, 007), entretanto, ao comparar o consumo do grupo controle aos que receberam a dieta indutora da desnutrição não houve diferença significativa (p > 0,05), porém, houve diferença com o grupo que recebeu a dieta suplementada com a farinha instantânea extrusada de *amaranto* com quirera de arroz (p ≤ 0,05).

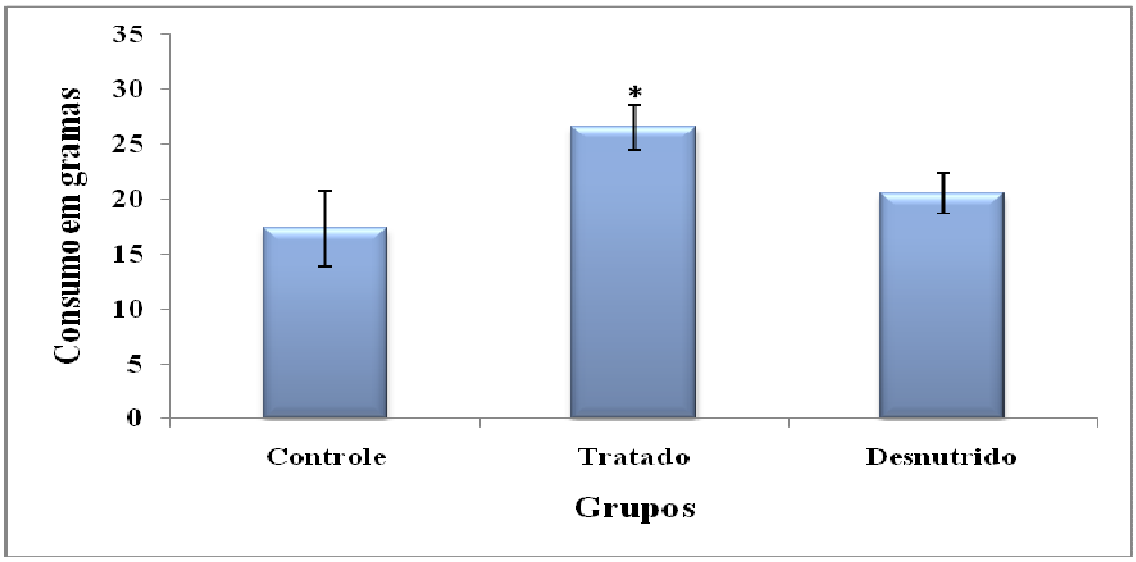


Figura XI. Evolução do consumo das ratas mães durante os primeiros 14 dias de aleitamento (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey (p ≤ 0,05).* = controle x tratados.

5.5.1.3. Consumo das dietas nos 21 dias de aleitamento

O consumo médio das ratas visto na figura XII que receberam a dieta com *indutora* da desnutrição (DBR-PA*)* foi maior (30,8 ± 0,4 g) e o menor no grupo que recebeu a dieta deficiente em proteínas suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de arroz (13,7 ± 0,7 g). Os resultados revelam diferença significante entre os grupos controle, tratados e desnutridos (p<0,01) e entre os tratados e desnutridos (p<0,01).

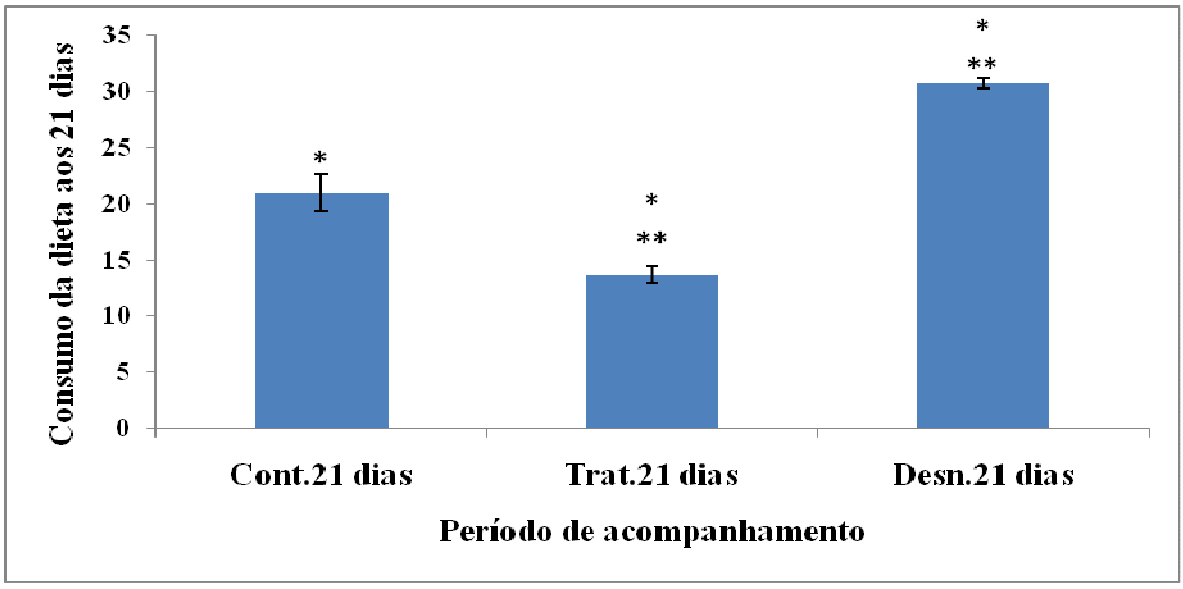


Figura XII. Evolução do consumo das ratas mães durante 21 dias de aleitamento (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). * = controle x tratados x desnutridos;** = tratados x desnutridos.

5.5.2. Consumo dos filhotes

O consumo dos filhotes no pós desmame imediato mostrado na figura XII, revelam um consumo médio de 17,1 ± 4,3 gramas sendo maior nos desnutridos (25,7 ± 5,5 gramas), sendo esta diferença significativa (p=0, 0005) quando comparado ao consumo dos animais desnutridos (31 ± 0,4 gramas) e tratados (14 ± 0,7 gramas).

Aos 28 dias de uso da dieta o grupo que recebeu a dieta indutora da desnutrição continuou com maior consumo (25,7 ± 3,3 gramas), sendo este superior ao consumo médio dos animais de todos os grupos (17,1 ± 4,3 gramas) aos 28 dias de uso das dietas, o que corresponde a um consumo real dos filhotes de apenas 14 dias, se for considerado que os animais só consomem a dieta materna apartir do 14º dia de aleitamento. Os referidos dados estão apresentados na figura XIII.

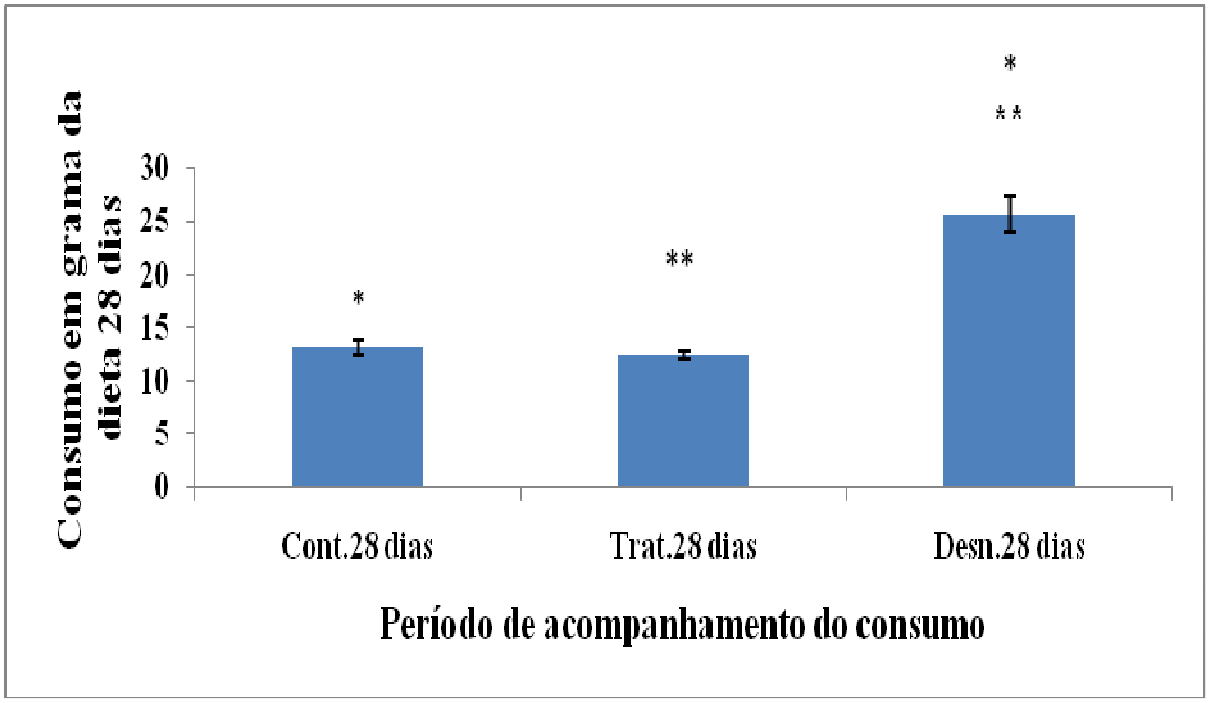


Figura XIII. Avaliação do consumo das dietas dos animais do desmame aos 28 dias de vida. (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey ($p < 0,05$).* = diferença entre os C28 X Tratado 28 x Desn 21; ** = tratado 28 x desn28;

Aos 60 dias de uso da dieta o grupo que recebeu a dieta indutora da desnutrição continuou com maior consumo (23,0 ± 3,3 gramas) e menor nos animais que receberam a dieta suplementada com a farinha instantânea extrusada de *amaranto*, sendo este superior ao consumo médio dos animais de todos os grupos (19,8 ± 1,9 gramas) aos 60 dias de uso das dietas. A diferença de consumo nesse momento foi estatisticamente diferente entre os animais do grupo controle e tratado com *amaranto* ($p < 0,01$) e entre os tratados e desnutridos ($p < 0,01$). Os referidos dados estão apresentados na figura XIV.

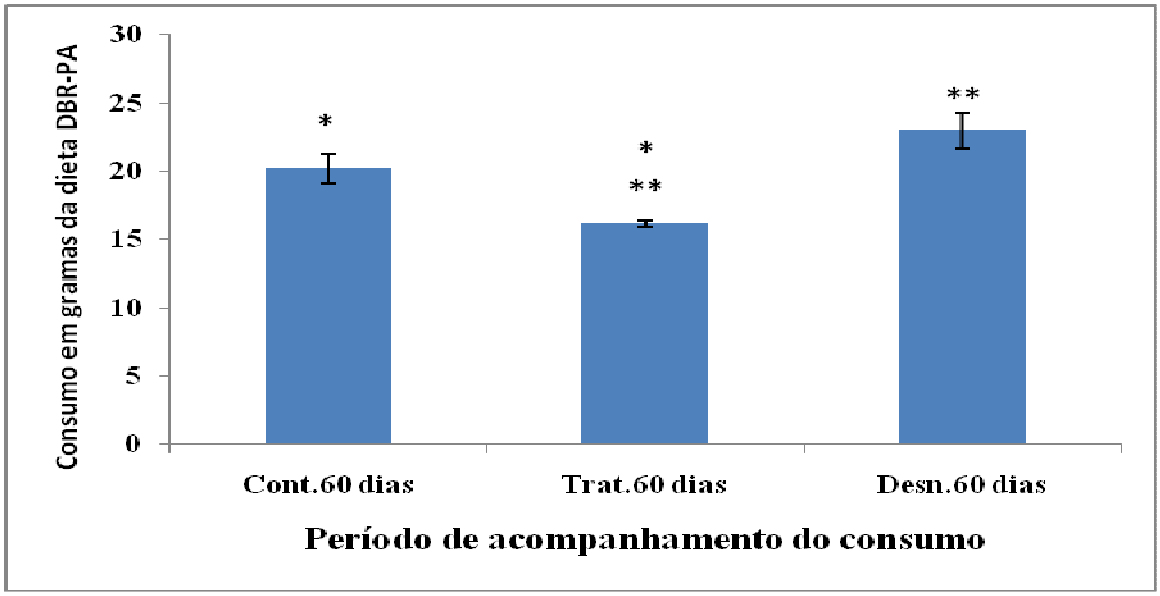


Figura XIV. Avaliação do consumo das dietas dos animais do desmame aos 60 dias de vida. (Média e Erro padrão) dos grupos. Anova. Teste de Tukey (p< 0,05).* = diferença entre os C60 X Tratado 60 x Desn 21; ** = tratado 60 x desn60.

5.6. AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS

5.6.1. Hemograma

Os valores médios hematológicos em função das diferentes dietas estão apresentados na tabela VII Os valores da série vermelha não apresentaram diferenças estatísticas com exceção dos valores de Hemoglobina (p>0,05) e da Hemoglobina Corpuscular média (HCM) (p=0, 0007). O número de hemácias circulantes foi similar os grupos desnutridos em relação aos controles e aos tratados com dieta deficiente em proteínas suplementada com a farinha instantânea extrusada de amaranto adicionada de quirera de arroz na proporção 30/70%.

Estes resultados apresentados na tabela VII encontram-se dentro dos padrões de referência adotados pelo Centro de criação de animais de Laboratório da Fundação Oswaldo Cruz (2004).

No que se refere aos valores das plaquetas, observa-se que foram maiores no grupo controle e menores nos desnutridos, que mesmo assim estão dentro da faixa de normalidade, não havendo diferença estatística entre os grupos (p=0, 1762).

Tabela VII. Valores médios hematológicos (Eritrograma e Plaquetas) em função dos diferentes tratamentos

Avaliações Hematológicas	**Grupo controle M ± Dp**	**Grupo desnutrido M ± Dp**	**Grupo Tratado M ± Dp**	**p**
Hemácias ($mm^{3)}$	8320 ± 1, 498.53	7740 ± 257.7	7812.9 ± 193.9	ns
Hematócrito (%)	39,30 ± 6,36	43,00 ± 1,82	45,32 ± 1,50	ns
Hemoglobina (g/dl)	14,86 ± 0,74	14,67 ± 0,49*****	15,68 ± 0,49*****	ns
CVM (g/dl)	52,96 ± 5,86	55.55 ± 0.83	58.06 ± 1.99	ns
HCM ((g/dl)	31,60 ± 3,78*****	18.98 ± 0,34*****	20.09 ± 0.56*****	0, 0007
CHCM ((g/dl)	34,09 ± 1,18	34.16 ± 0,58	34.63 ± 0,99	ns
Plaquetas (mm^3)	623,00 ± 9,72	459.00 ± 204.00	469.29 ± 7.447	ns

ANOVA, (diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey, p< 0,05)

5.6.2. Leucograma

Na tabela VIII estão apresentados os valores médios hematológicos (Leucograma) em função das diferentes dietas utilizadas. O Leucograma do grupo controle foi o que obteve o menor número de leucócitos. Os demais grupos não apresentaram diferença significativa, apesar do aumento do número de leucócitos nos animais desnutridos (p=0, 0640). Apesar do aumento nos grupos desnutridos e tratado os valores encontram-se dentro da normalidade, segundo os critérios adotados no estudo. No que se refere aos valores dos eosinófilo, basófilos e monócitos não houve diferença significantes entre os grupos (p=1, 7271). Os linfócitos foram diferentes significativamente entre o grupo controle e tratado (p<0,05).

Tabela VIII**.** Valores médios hematológicos (Leucograma) em função dos diferentes Tratamento

Avaliações Hematológicas	**Grupo controle** **M ± Dp**	**Grupo desnutrido** **M ± Dp**	**Grupo Tratado** **M ± Dp**	**p**
Linfócitos (%)	64,87 ± 5,89*	73,25 ± 8,06	79,28 ± 4,49*	ns
Monócitos (%)	4,00 ± 3,03	1,50 0 ± 0,58	3,14 ± 2,98	ns
Eosinófilo (%)	0,44 ± 0,41	1,25 ± 0,96	1,43 ± 0,97	ns
Neutrófilos seg.(%)	30,60 ± 5,36	24,00 ± 8,41	16,00 ± 5,77	ns

(ANOVA) diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey, p <0,05) ; ns= não significante

5.6.3. Perfil lipídico

Em se tratando do perfil dos lipídios os grupos apresentaram diferença significante em quase todos os lipídios exceto para o colesterol, entretanto ao comparar o menor resultado em relação aos demais grupos (11,5 ± 4,7 mg/dL), a diferença foi estatisticamente diferente (p <0,01) o mesmo ocorreu quando comparado aos animais que receberam a dieta com amaranto (p <0,01), entretanto, quando comparado os amarantos(tratados) aos DBR-PA(desnutridos) a diferença dos valores médios não mostrou significância.

Todos os grupos apresentaram diferença significativa entre si (p=0, 004), porém, ao serem comparados os valores dos animais amaranto aos dos animais desnutridos observou-se não haver diferença significante.

Os valores médios dos triglicerídeos foi maior entre os animais Amaranto (268,9 ± 20,8 mg/dL. Porém, Tendo apresentado diferença significante (p=0,0013), entretanto não havendo significância quando comparados os amarantos aos desnutridos.

os valores de HDL, LDL e de Triglicerídeos (p= 0,006; p= 0,0046; p=0,0014), respectivamente, expressos na figura X, porém, os valores médios foram maiores entre os controles (61,2 ± 7,6 mg/ dL). Quanto ao HDL, o grupo DBR-PA foi o que apresentou o maior valor (24,2 ± 3,6 mg / d L, o que pode ser explicado pelo menor conteúdo de colesterol na dieta utilizada como indutora da desnutrição.

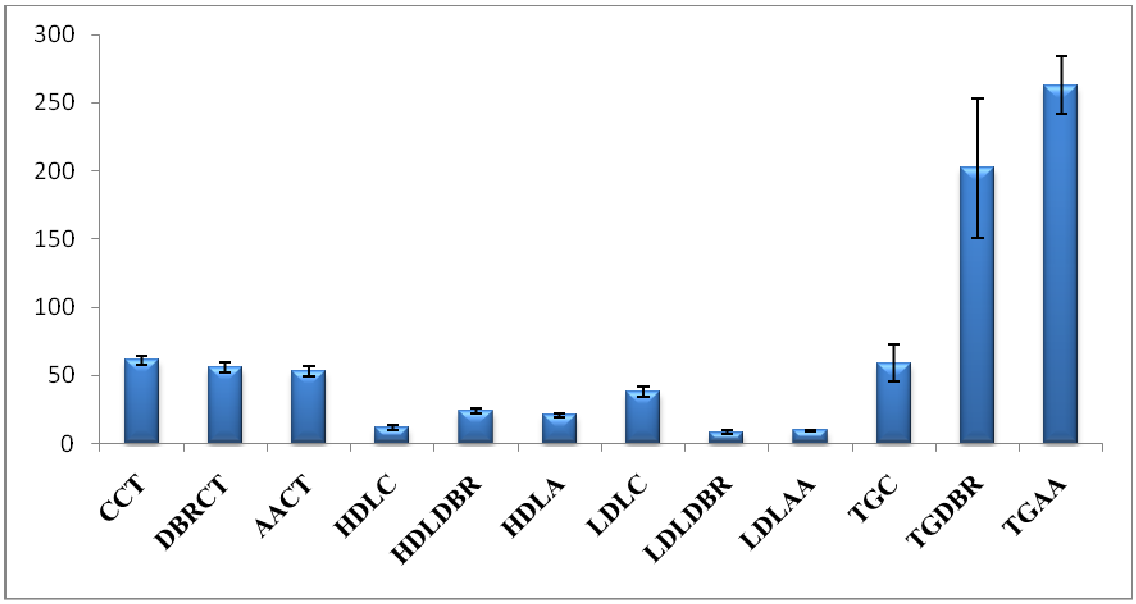


Figura XV**.** Perfil de lipídios dos animais aos 60 dias de dieta (ANOVA) diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey, ($p<0,05$)

5.6.4. Avaliação do Estresse Oxidativo

5.6.4.1. Atividade da catalase (CAT)

A análise da atividade da enzima catalase está demonstrada na figura XVI e se verifica que os animais que receberam dieta de base do Pará adicionada de Amaranto tiveram uma atividade duas vezes e meia maior que o grupo que recebeu apenas a dieta indutora da desnutrição, sendo esta diferença estatisticamente significante ($p=0, 001$) . Dado este esperado por ser a dieta adicionada de amaranto rica em proteínas.

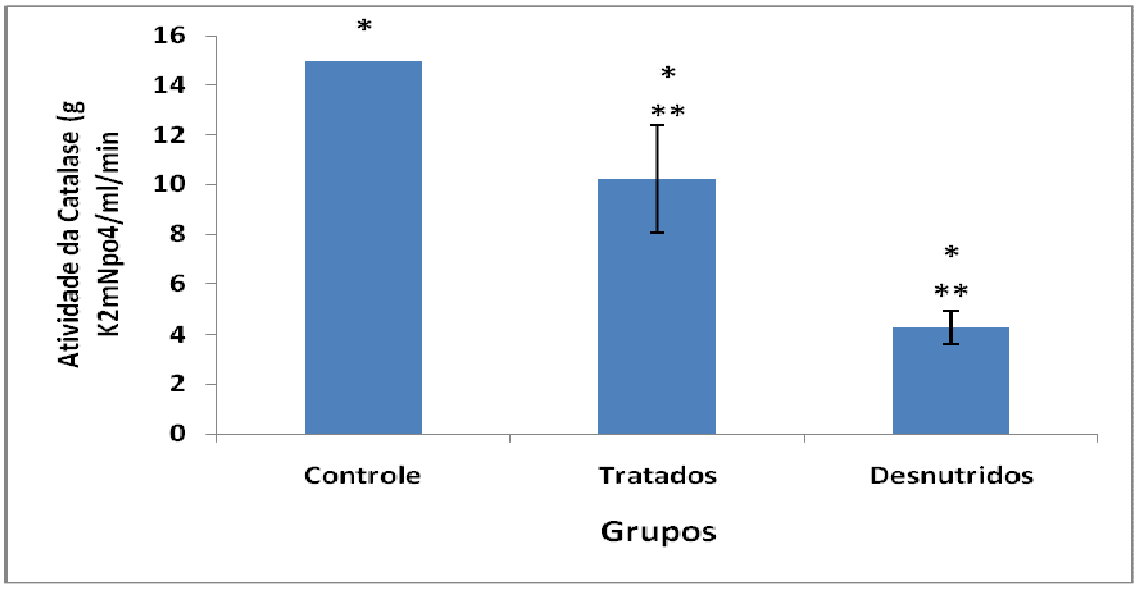


Figura XVI**.** Análise da atividade da enzima Catalase dos grupos desnutridos, tratados e controle. Anova. Teste de tukey (p <0,05).* = controle x tratados x desnutridos

5.6.4.2. Níveis de peroxidação Lipídica

Os níveis de peroxidação lipídica não mostraram diferença significante entre os grupos (*p*=2568), com uma diferença dos valores média muito pequena dos animais que receberam a dieta suplementada com amaranto (DBR+AA) em relação aos controles (0, 1080587 ± 0, 0147 e 0, 10395 ± 0, 017), respectivamente.

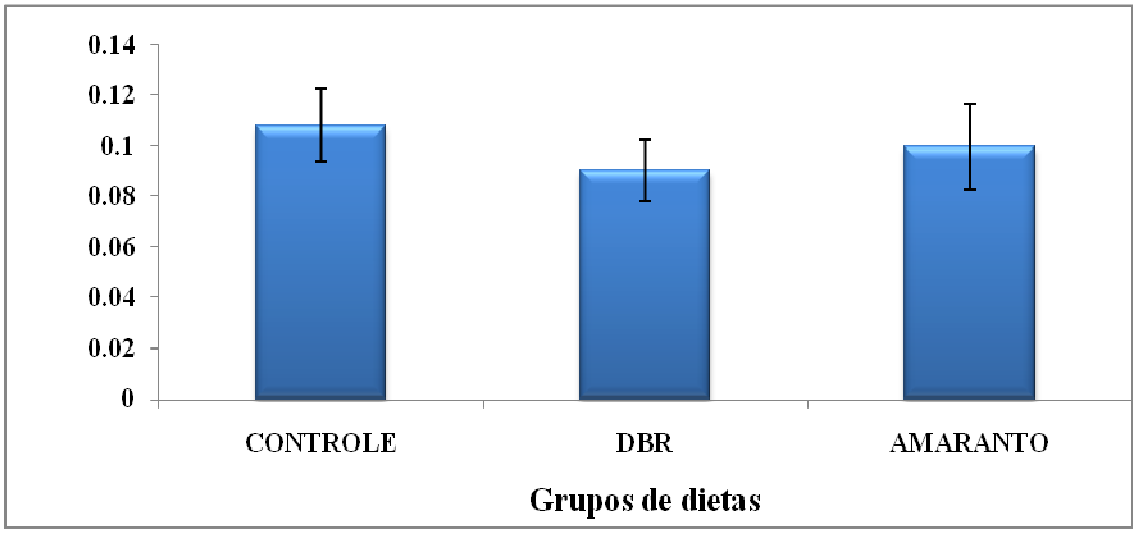


Figura XVII. Análise da Peroxidação lipídica dos grupos desnutridos e tratados aos 60 dias de dieta (ANOVA) diferenças significativas entre si pelo teste de Tukey, (p<0,05)

5.6.5. Avaliação histopatológica do fígado

A análise macro do fígado dos animais do estudo revelados na figura XVIII mostra que o peso dos animais controle (2.07 ± 0.21 g) foi maior que o peso do fígado dos amarantos (1,75 ± 0,06 g), enquanto que os desnutridos apresentaram um fígado bastante reduzido (0,40 ±0,09 g). Os pesos do fígado apresentam diferença significante entre os grupos controle e desnutridos ($p<0,01$) e desnutridos e tratados ($p<0,01$), entretanto, entre o grupo controle e tratados não houve diferença significativa do peso do fígado dos animais ($p>0, 050$). No entanto, quando o peso do fígado foi dividido pelo peso do animal, o peso mostrou-se maior nos animais alimentados com a dieta suplementada com amaranto, porém, não houve diferença estatística entre os grupos.

Os resultados histológicos revelaram não haver alterações de aspectos histológicos nos animais que receberam a dieta controle que pudessem ocasionar alterações nas células do fígado, verificou-se que o tecido hepático de todos os animais do grupo estava de acordo com os padrões de normalidade.

Os animais que receberam dietas com déficit de proteína apresentaram tumefação turva e esteatose hepática em todos os animais avaliados, sendo a maior presença nos tratados com Amaranto, que também apresentaram infiltrado linfo histiocitário lobular e necrose. Dos animais tratados com amaranto 89% apresentaram necrose tubular, sendo 33% leve e 55% moderada. A presença de infiltrado linfo histiocitário 66% foi de leve intensidade nos animais com dieta adicionada de amaranto, enquanto nenhum animal desnutrido apresentou infiltrado. A tumefação turva também foi mais prevalente nos animais amaranto em 89% deles, sendo 33% discreta e 55% de intensidade moderada. No grupo de desnutridos a presença de tumefação foi de 100% dos animais, sendo 89% discretamente e 11% moderada.

A figura XVIII mostra o hepatócito do grupo controle sem alterações, o que já era de se esperar visto que esses animais receberam a dieta controle para ratos desde o período da gestação.

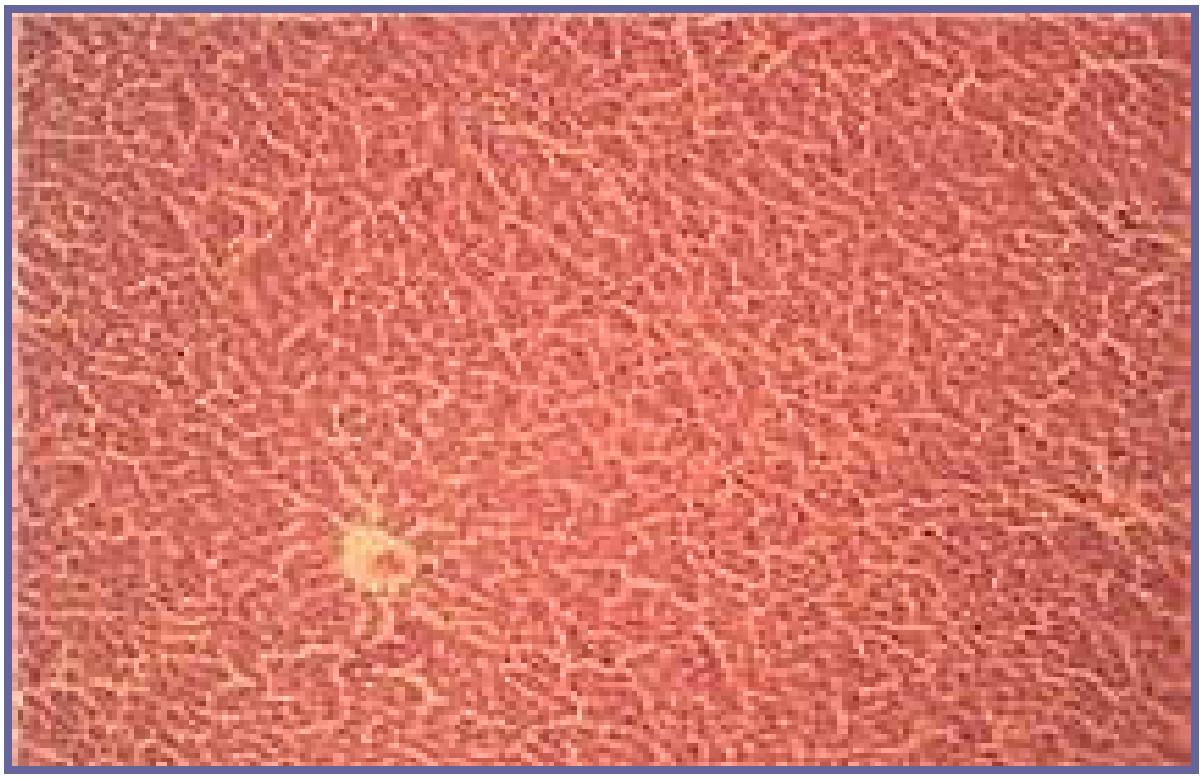


Figura XVIII. Hepatócito sem alterações dos animais controle

A figura XIX mostra o hepatócito dos animais do grupo de desnutridos apresentando o hepatócito com esteatose macrogoticular acentuada .

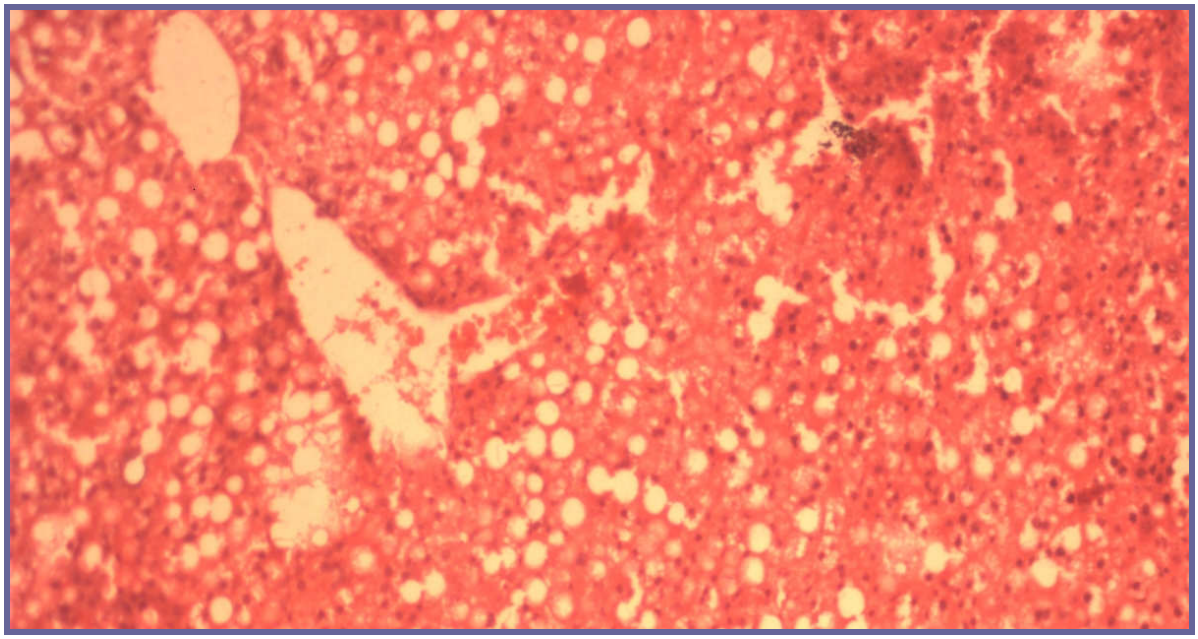


Figura XIX. Grupo desnutrido hepatócito com esteatose macrogoticular acentuada(MO 10X)

A figura XX revela um fígado de um animal do grupo tratado com a farinha instantânea extrusada de amaranto sem alteração do hepatócito.

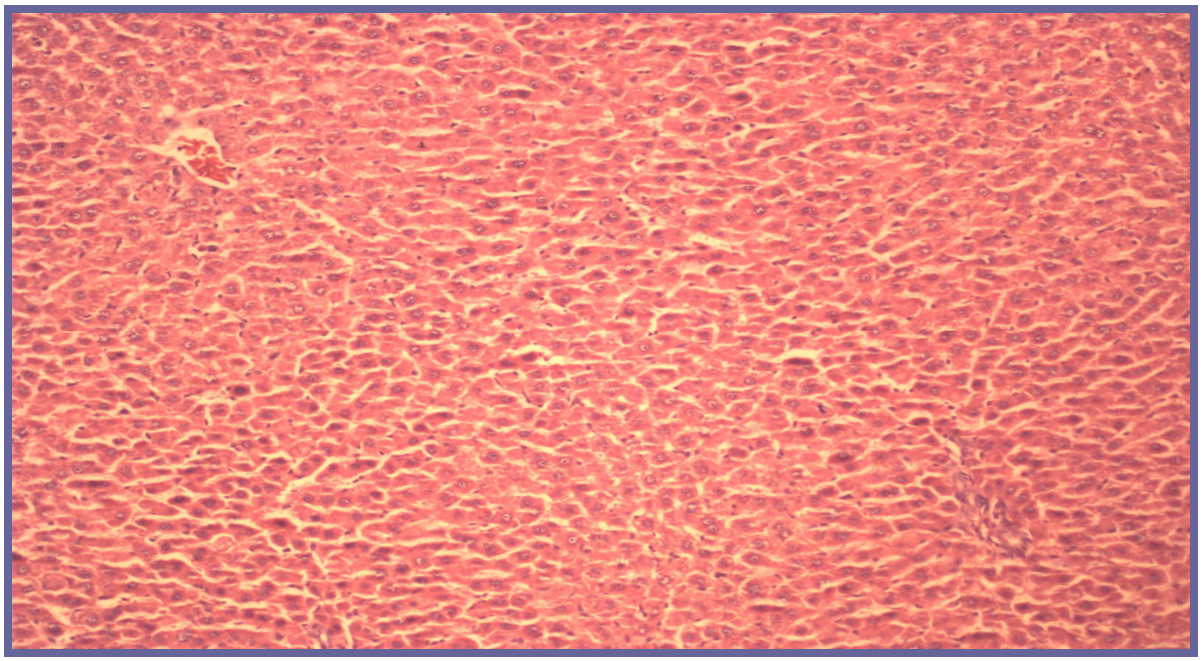


Figura XX. Hepatócito do grupo tratado com amaranto sem alterações. (MO 40X)

A figura XXI mostra o hepatócito **com tumefação turva** dos animais do grupo tratados com amaranto

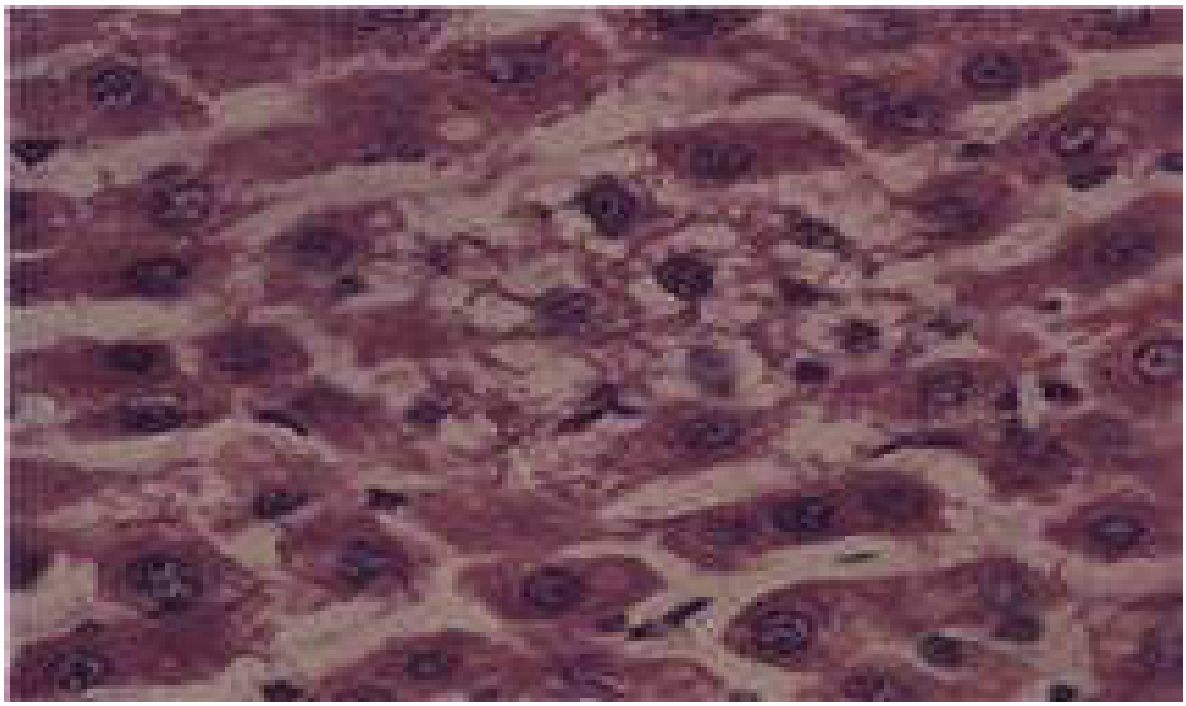


Figura XXI. Hepatócito de animais tratados com amaranto com tumefação turva.(MO 60X.

A figura XXII mostra o hepatócito de animais tratados com amaranto com necrose e infiltrado focal.

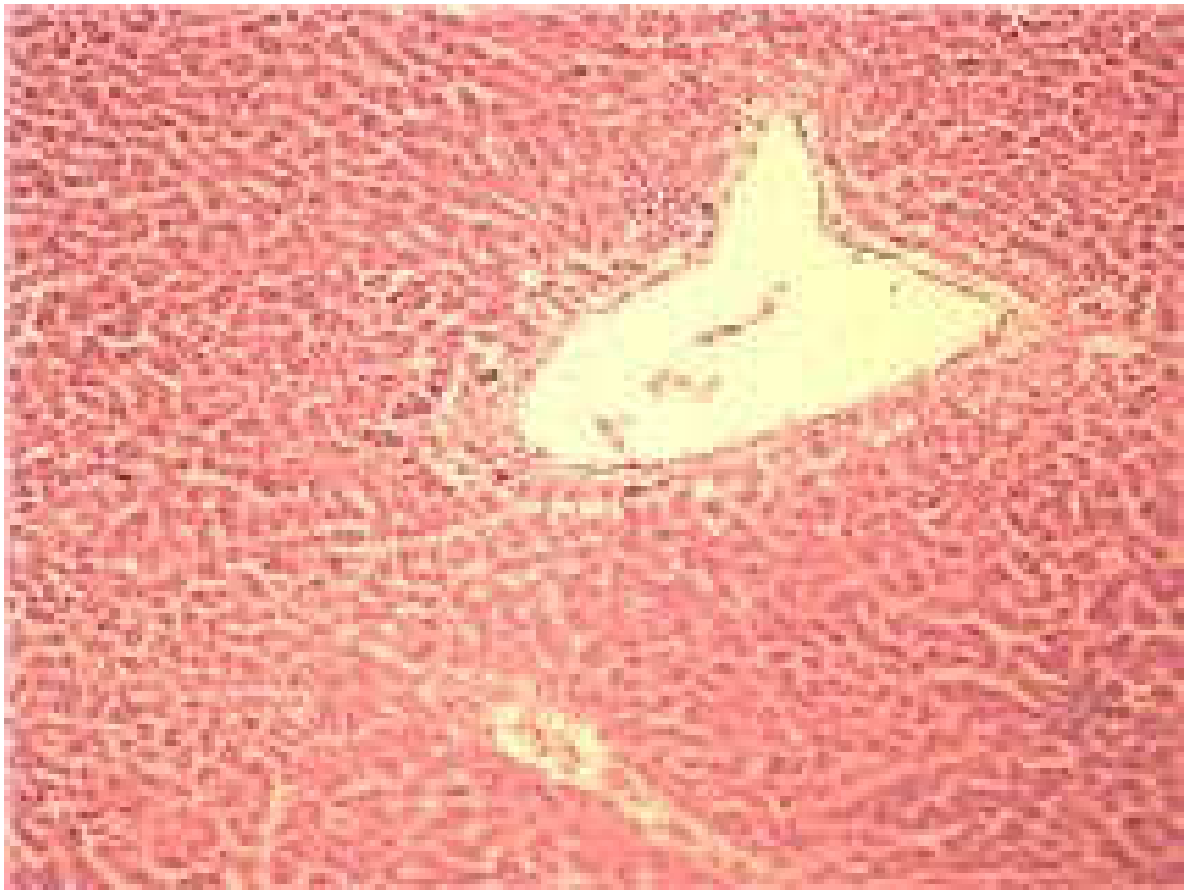


Figura XXII. Hepatócito de animais tratados com amaranto com necrose e infiltrado focal. (MO)

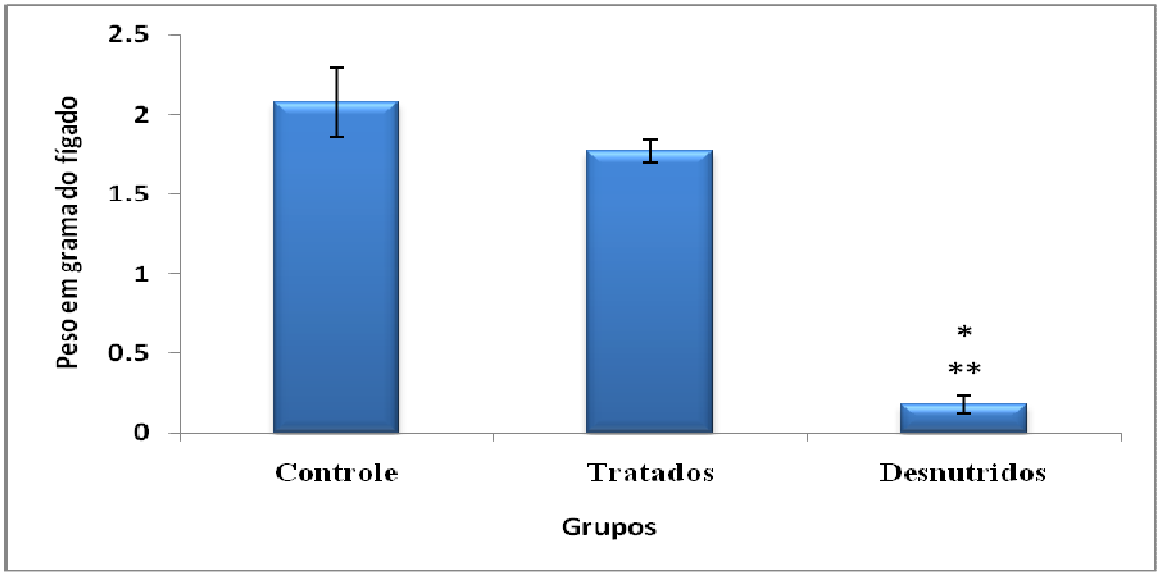


Figura XXIII. Peso médio e Erro padrão em gramas do fígado dos animais dos grupos aos 60 dias de dieta (ANOVA) diferenças significativas entre si pelo teste de (Tukey ($p < 0,05$).* = diferença entre controle x desnutrido; ** diferença entre tratados e desnutridos

6. DISCUSSÃO

Para que um alimento seja utilizado como suplemento alimentar cotidiano em seres humanos, é necessário que ele seja submetido a uma série de procedimentos experimentais que justifiquem sua utilização de forma eficiente e segura, desde que \zatenda aos requisitos previstos na Resolução nº 16/1999, e que se enquadre em qualquer uma dessas situações: Com este propósito, existem diversos órgãos e laboratórios responsáveis pela análise e padronização de alimentos, que os recomendam, e, propõem inicialmente, estudos experimentais em animais, para que se possa analisar os efeitos da composição de substâncias nutricionais e antinutricionais da composição do novo alimento para uso em humanos (ANVISA, 2005)

No Brasil, as pesquisas na área de Saúde são regulamentadas por resoluções, tais como: Resoluções Nº01, de 13 de junho de 1988, publicada no Diário Oficial da União (DOU) de 05\ 01\ 1989, e na resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) Nº 96, de 10\ 10\ 96, publicada no DOU de 16/ 10/ 96, que normativa as pesquisas na área de saúde e regulamentam os aspectos éticos da pesquisa envolvendo seres humanos. Assim, antes da utilização de qualquer alimento em seres humanos, este têm que ser submetido a uma série de experimentos em animais chamados de testes pré clínicos.

Em seres humanos as conseqüências da desnutrição na prática clínica é representada por alterações metabólicas e fisiológicas que podem ser permanentes (SILVA *et al*., 2005), dentre essas a esteatose hepática em decorrência do estresse oxidativo com consequente dano tecidual hepático, devido a elevada oxidação lipídica (ANDRAUS, 2007).

As buscas de fontes alternativas de nutrientes têm a considerar um dos critérios que deve ser respeitado na escolha do uso de alimento como suplemento nutricional, que é o de não ser de uso habitual, mas que forneça qualidade nutricional. Daí a escolha do uso do *Amaranto, cruentus*, como suplemento alimentar na dieta indutora da desnutrição pelo fato de ser um alimento de elevado teor de proteínas, de vitaminas, e minerais, de boa aceitação e palatabilidade comprovada em estudos científicos (MENDONÇA, 2005; SOARES, 2008), porém, sem tradição de consumo em nosso país.

Contudo, em seres humanos, para se avaliar o efeito biológico dos alimentos, deve-se analisar através, da qualidade protéica, da resposta do crescimento, do sistema imunológico e pela capacidade de minimizar o estresse metabólico, durante o período de utilização do produto (alimento), que deverá resultar em desenvolvimento e crescimento adequado (OLIVEIRA *et al.*; 2001)

Esta condição sugere a utilização de um modelo animal que permita tanto a avaliação dos efeitos de estresse metabólico e bioquímicos quanto o exame microscópico dos hepatócitos, após a utilização do produto a ser testado.

Deste modo, para o presente estudo optou-se pelo rato, por ser um animal que apresenta vantagens da semelhança genética, de fácil manuseio e por ser muito empregado nas pesquisas biológicas (MELO *et al.*, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2001; FERRO *et al*., 2010), principalmente nas áreas de pesquisas em nutrição de avaliação da qualidade protéica, desnutrição, estresse metabólico, diabetes (ROMAN *et al*., 2005; HENRIQUES *et al*., 2008; ALVES *et al*, 2008)

Considerando-se o modelo de desnutrição experimental utilizado, a escolha da dieta indutora da desnutrição, foi baseada em dados de um inquérito alimentar realizado nos anos 70 por JORGE JOÃO *et al*.,(1979), a qual foi utilizada como modelo de desnutrição experimental,conforme resultados obtidos por MENEZES (1995) visto que, é deficiente em proteínas e calorias. O modelo experimental utilizado em outro estudo com animais desnutridos apresentou esteatose hepática e fibrose pancreática com alteração na secreção de insulina e de glicose em ratos alimentados com a dieta proposta como indutora da desnutrição por 180 dias (MENEZES, 1995).

Dentre as formas de uso do amaranto optou-se pela farinha instantânea extrusada adicionada de quirera de arroz na proporção 30/70%, pelo seu potencial nutricional, quanto a sua aceitabilidade, e quanto ao seu potencial hipolipemiante comprovado em estudos anteriores (MENDONÇA, 2005; AULER, 2002; SOARES, 2008).

Na escolha da técnica por decapitação em guilhotina para coleta de sangue dos animais considerou-se tratar-se de um dos métodos mais adequado quanto á eficácia e rapidez do procedimento, pois minimiza, ao máximo possível, o sofrimento dos animais, sendo imediatamente realizada a coleta de sangue dos animais para as

dosagens bioquímicas e dos determinantes do estresse oxidativo considerando-se ainda que esta seja uma técnica que causa menor estresse ao animal, não havendo necessidade de anestésico, pois este causa estresse no animal (FIOCRUZ, 2006). Considerando ainda, que o estresse é o resultado de mudanças fisiológicas que ocorrem em resposta a alterações ambientais e estimulações nocivas aplicadas ao corpo de um animal e fazem com que o organismo tenha respostas adaptativas numa tentativa de restabelecer a homeostasia (FEIL, 2010)

No presente estudo, os exames utilizados, o bioquímico e dos determinantes dos fatores de estresse e o histopatológico (fígado) registram tanto a resposta do modelo de desnutrição como a resposta do efeito da suplementação proposta de *amaranto* em uma dieta de base deficiente em proteínas e calorias como a utilizada no estudo.

Os modelos de desnutrição experimental em animais produzem aspectos que tem importância do ponto de vista experimental e clínico, devido à diversidade de reações do organismo, particularmente, às eventuais seqüelas sobre os mecanismos de defesa orgânicos, ocasionados por agressões nutricionais sofridas em diversos períodos em decorrência dos protocolos estabelecidos nos diversos estudos, que vai desde período de grande vulnerabilidade orgânica como da formação dos diversos sistemas orgânicos.

Diversos modelos são descrito na literatura (FRANÇA, 2009; FEOLI, 2006; de MELO *et al*., 2003) a fim de induzir a desnutrição, como a redução da dieta oferecida às ratas mães ou aos filhotes dependendo do período que se deseja estabelecer a desnutrição; aumento do número de filhotes quando se tem como protocolo a desnutrição durante o aleitamento, sendo esta estabelecida por competição entre os filhotes; redução da proteína da dieta materna, quando se tem como objeto de estudo a desnutrição intra-uterina.

Os desenhos experimentais acerca dos efeitos da desnutrição sobre o crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos relacionados ao período de indução da desnutrição são bem variados. Encontramos inúmeros modelos para promover a desnutrição, assim como distintos protocolos de estudos (SANCHES, 2010; TEODÓSIO, 1990; MELO *et al*., 2005). Entretanto, não foi encontrado estudo em animais desnutridos pelo modelo de indução desse estudo e com a variável de estresse

oxidativo. Quanto à desnutrição, utilizou-se um modelo de restrição protéico-calórica periódica, sendo os resultados aplicados a esta condição experimental.

Nesse estudo optou-se por um modelo que se aproxime o máximo possível da realidade alimentar da população do Pará. Na tentativa de buscar uma aproximação com a realidade regional, utilizou no estudo em questão, um protocolo de modelo de indução da desnutrição elaborado apartir de dados divulgados na literatura sobre consumo alimentar no estado do Pará (JORGE JOÃO *et al*., 1979), sendo o mesmo realizado na década de 70 ainda hoje é atual, visto ser o único estudo realizado nos moldes no estado, o qual foi denominado pela autora do modelo (MENEZES, 1995) de Dieta de Base do Paraense por conter os alimentos constituintes da alimentação de base segundo estudo de consumo alimentar utilizado como parâmetro de acordo com o descrito por (TEODÓSIO et al, 1990) quando da realização do modelo de desnutrição baseado na dieta regional de Pernambuco.

Com base no inquérito de consumo, quatro alimentos revelaram compor a alimentação de base do Estado do Pará. Esses alimentos, que são o feijão Jalo (*Phaseolus vulgaris*.), a farinha de mandioca (*Manihot esculenta*.) o pirarucu (A*rapaima gigas*) (peixe salgado e prensado) e o açaí (*Euterpe olerácea*, Mart) fruto consumido na forma de vinho a base de água, compõem a dieta indutora da desnutrição (DBR-PA) dieta que se apresenta deficitária em teor e qualidade das proteínas com aminoácidos extremamente limitantes além de calorias, gordura, vitaminas e minerais em proporções inadequadas. Este modelo reproduz, no rato, um tipo de desnutrição extremamente semelhante ao marasmo prevalente no Nordeste brasileiro e no Norte do Brasil (TEODÓSIO *et al*., 1990; CECAN-NORTE, 2010).

Com base em inquéritos de consumo alimentar realizados no Pará (JORGE JOÃO, 1979), foi possível conhecer a proporção em que cada alimento é consumido, mantendo-se na confecção da dieta para o rato as mesmas proporções utilizadas pela população.

A confecção da dieta de base do Pará foi baseada a exemplo da dieta similar confeccionada para Pernambuco (TEODÓSIO *et, al*, 1990), a qual vem sendo amplamente utilizada como modelo de desnutrição, em numerosas pesquisas (GUEDES *et al*., 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2001; MEDEIROS *et al*., 2008), tendo sido incorporados

à dieta os alimentos que constituem o "back ground" do regime alimentar do paraense de baixo poder aquisitivo segundo dados da época.

A dieta que recebeu denominação de Dieta de Base do Pará (DBR-PA) é hipoproteica (7,8% de proteínas), hipolipídica (1,24% de gordura), e normocalórica (290,4 Kcal), dados similares a dieta de base regional de Pernambuco (GUEDES *et al.*, 2004; TEODÓSIO *et a*l., 1990).

Ao suplementar a DBR-PA com a farinha instantânea de Amaranto pode ser observado na tabela I, que houve um acréscimo das calorias em 41% e em 45% nas proteínas, o que contribui para uma melhor qualidade nutricional. A dieta teste (DBR-PA +AA) expressa na tabela I, apresenta-se hipercalórica (408,46Kcal) e normoproteíca (11,33%), segundo as recomendações para ratos em lactação e em período de crescimento do NRC 2001(PEREIRA, 2005), entretanto, o consumo da dieta em gramas/ dia das ratas não contribuiu para que o consumo calórico fosse satisfatório para o período de lactação, porém, em geral, os animais com livre acesso ao alimento ingerem suas dietas em quantidades que satisfaçam seus requerimentos energéticos. Assim, a ingesta quantitativa de uma dieta altamente energética será provavelmente menor do que aquela de uma dieta com baixo conteúdo de energia (PEREIRA, 2005).

O conteúdo de proteína das dietas DBR-PA é na ordem de 7,8 % e é considerada insuficiente para ratos em crescimento, visto ser necessário nessa etapa de vida dos animais um percentual protéico de 18 a 25 % da energia metabolizável total da dieta por se tratar de ser confeccionada com alimentos naturais. Com relação à dieta DBR-PA adicionada de Amaranto (11,33%) apesar do conteúdo de proteína da dieta de base ser menor do recomendado (18 a 25%) ocorreu um acréscimo de 19,61% no total da energia metabolizável.

A composição da dieta teste utilizada para recuperação do estado de desnutrição avaliada através do efeito sobre o estresse oxidativo e comportamento ponderal dos animais foi baseada na adição suplementar da dieta de Base do Pará pela farinha instantânea extrusada de *amaranto* adicionada de quirera de arroz, que recebeu a denominação (DBR-PA+AA) mostrou-se normoproteíca (11,33% de proteínas), hipolipídica (1,43% de lipídios), e hipercalórica (408,46 Kcal). Este modelo de

desnutrição é similar a dieta indutora de desnutrição elaborada por pesquisadores da Universidade Federal de Pernambuco (TEODÓSIO *et a*l., 1990)

O requerimento diário de energia para manutenção de ratos adultos é de aproximadamente 110 Kcal de energia digerível por Kg, cerca de 50% superior à taxa metabólica basal, representando, a soma de necessidades para a produção de calor basal, atividades físicas, alterações na temperatura ambiente e para as necessidades associadas com o consumo de energia alimentar (REEVES *et al*., 1993).

Grandes quantidades de energia são necessárias durante a síntese de novos tecidos. Animais em crescimento devem consumir alimento suficiente para fornecer cerca de quatro vezes a energia de seu metabolismo basal, cerca de 280 Kcal. O requerimento durante a gestação pode ser de 10 a 30% maior do que em ratas fêmeas adultas em estado de não gestação (121 a 143 Kcal. e a restrição calórica durante este período decresce o tamanho e a viabilidade dos recém nascidos e pode induzir a reabsorção intra-uterina do feto segundo os critérios da AIN–93 (REEVES *et al*., 1993).

Nos períodos de gestação e lactação acontecem várias alterações no organismo materno com o objetivo de garantir o crescimento e desenvolvimento fetal, manter a higidez da gestante e possibilitar a sua recuperação pós parto, bem como resguardar a nutrição do recém nascido por meio do processo da amamentação, assegurando uma adequada produção de leite e, conseqüentemente, o desenvolvimento do neonato (SILVA *et al*., 2003). Tomando-se como referência os requerimentos de energia para ratos em manutenção, percebe-se que a dieta proposta no estudo mostra-se capaz de promover melhor qualidade calórica da dieta de base do Pará, visto apresentar um adicional 4 vezes mais que a recomendação energética diária, o que poderá favorecer os processos fisiológicos que ocorrem durante esses períodos, por requererem um maior aporte de nutrientes, tais como: proteínas, vitaminas e minerais (DRI, 2008).

Segundo Leite (2002) todas estas mudanças levam a maiores demandas nutricionais, havendo a necessidade de um aumento proporcional dos nutrientes na alimentação materna, não só no período pré como pós natal, permitindo que parte da energia e dos nutrientes estocados durante a gestação fique disponível para manter a produção de leite durante a lactação (ARAYA; BARRIGA, 1996), a qual é considerada

bem sucedida quando a prole apresenta crescimento e estado nutricional adequado (PICCIANO, 1996).

No estudo durante o período de gestação não houve ocorrência de reabsorção fetal, comum em ratas desnutridas (MENEZES, 1995) em razão de no período as ratas mães terem recebido em todos os grupos a dieta Padrão para ratos (22% de proteínas), sendo esta isocalórica, atendendo as necessidades das ratas grávidas. Esta constatação foi comprovada pela análise do Coeficiente de Eficácia Alimentar da Ração ofertada, que se mostrou satisfatória quanto à eficiência da proteína controle, que tem sido corroborada por outros autores (SILVA *et al*.,2003) Entretanto, apesar das limitações em alguns aminoácidos essenciais como a tirosina e a metionina a dieta controle foi capaz de promover ganho de peso além do esperado (21%) durante o período de gestação. Porém, a deficiência de tirosina e de metionina da dieta controle usada na gestação diferentemente do relatado por Passos *et al*., (2000) não mostrou ter influenciado no potencial genético fazendo com que o crescimento em relação ao peso tenha sido atingido mesmo quando estes aminoácidos sejam suprimidos da dieta materna.

Os resultados encontrados no estudo são similares aos de SILVA *et al*., (2003), que ao estudarem o potencial da farinha de algaroba (*Prosopis juliflora*) durantes as fases de gestação e lactação em ratas Wistar observaram que apesar das limitações de aminoácidos, conseguiram que os animais, em termos de ganho de peso, apresentassem um desempenho além do esperado (27%), no período de gestação, devendo-se isso a uma ingestão de alimento 1,59 vezes maior do que a dos animais alimentados com a dieta padrão.

Vários aspectos foram levados em consideração para avaliar a repercussão da suplementação protéica da dieta de base com a farinha instantânea extrusada de *amaranto* com arroz, dentre eles a adequação da proteína sobre o ganho de peso dos filhotes no aleitamento, que foi analisado pelo valor de lactância da proteína da dieta, sendo mostrada a valiosa eficácia da proteína do *amaranto* durante a lactação, onde se verificou que a ingestão da dieta enriquecida com o *amaranto* mostrou-se eficaz ao ganho de peso dos filhotes e da rata mãe.

Durante o período de aleitamento ratas mães consome duas a quatro vezes a energia que consumiram quando não lactantes (220 a 440 Kcal), requerendo uma dieta de alta qualidade em quantidades irrestritas (LEITE *et al*., 2002; REEVES *et al*., 1993).. Em geral, os animais com livre acesso ao alimento ingerem suas dietas em quantidades que satisfaçam seus requerimentos energéticos. Assim, a ingesta quantitativa de uma dieta altamente energética será provavelmente menor do que aquela de uma dieta com baixo conteúdo de energia (LEITE *et al*., 2002; IOM,2000).

No período de aleitamento as ratas mães desse estudo receberam dietas com livre acesso apesar de terem valor calórico e protéico diferentes. Foi observado que ratas apesar do livre acesso as dietas, as mesmas responderam negativamente quanto ao ganho de peso e manutenção das crias. Estes resultados contrariamente aos achados por Gonzalez (1998) onde afirma que livre acesso a dieta contribui para que as ratas consumam até satisfazer suas necessidades.

É importante mencionar que a dieta padrão para ratos utilizada no estudo é inferior a dieta teste em relação ao seu conteúdo de aminoácidos essenciais. Apesar do baixo valor de lactância da dieta padrão para ratos não foi observado nesse grupo (controle) mortalidade ou canibalismo, fenômenos que ocorrem durante a administração de dieta desbalanceada em aminoácidos essenciais segundo Silva *et al.*, (2003) como a metionina limitante tanto na dieta controle como na DBR-PA. Porém, a deficiência desses aminoácidos na dieta indutora de desnutrição provocou os fenômenos de canibalismo e de mortalidade durante o período de aleitamento, o que acarretou dificuldades na manutenção da amostra de animais desnutridos. Três ninhadas foram perdidas no grupo desnutrido: uma por rejeição da mãe e duas por canibalismo. O óbito da ninhada é mais comum em grupos com restrição dietética e não no grupo nutrido, tendo como possíveis causas: a procura de alimento pela mãe, deixando de aquecer os filhotes (YOUNG *et al*., 1985); filhotes fracos em uma ninhada grande, onde a competição pelo leite e a sucção débil impedem a alimentação(GURMINI *et al*., 2005); e o canibalismo.

Entretanto, as ratas mães que receberam dietas deficientes em proteínas no período do aleitamento ingeriram menor quantidade, porém, por ser esta dieta superior caloricamente em relação às necessidades descritas por (PASSOS *et al*., 2001), que quando a dieta satisfaz as necessidades energéticas esta passa a ser ingerida em menor quantidade pelo animal. Desta forma o fato da perda de peso apartir do 14º dia tanto dos

filhotes como das mães que receberam no aleitamento a dieta DBR-PA pode ser atribuído ao início da partilha da dieta com os filhotes, demonstrando não ser satisfatória apartir desse momento. Entretanto, têm sido evidenciados que a perda de peso e até mesmo o déficit nutricional materna não afeta a lactação nem a composição do leite materno, desde que a lactante mobilize os nutrientes provenientes do seu organismo (BARBOSA *et al*.,1997).

Destaca-se que, a dieta adicionada de amaranto se mostrou satisfatória considerando o ganho de peso do binômio rata- mãe filhotes.

Esse resultado difere dos achados de Silva, *et, al*,(2003), quando avaliaram os efeitos da farinha de algaroba (Prosopis juliflora) durante as fases de gestação e lactação em ratas Wistar, observaram que nutrizes alimentadas com a farinha de algaroba sofreram uma considerável perda de peso, com discreta inflexão da curva de crescimento das crias, não sendo capaz de manter o peso apartir do 14º dia de aleitamento.

No estudo o peso dos filhotes desnutridos durante a fase de lactação também se apresentou diminuído em comparação ao grupo controle e o grupo tratado com amaranto, ou seja, a desnutrição experimentada pelas mães no período de aleitamento afetou o peso corporal dos filhotes. Dados similares foram encontrados por de Oliveira *et al*., (2001) ao estudarem a mistura alimentar contendo bioproteínas (Saccharomyces cerevisiae): efeitos sobre a gestação, a lactação e o crescimento de ratos, onde foi verificado que os animais que receberam a dieta contendo feijão, arroz, farinha de mandioca sem enriquecimento da bioproteína o peso foi menor quando comparado aos controles (caseína)e menor do que os que receberam a suplementação com a bioproteina.

Existem vários trabalhos na literatura relatando que a desnutrição protéica imposta em estágios iniciais da vida produz, além de alterações morfológicas e neuroquímicas no SNC. (Cintra *et al.,* 1990; Galler *et al.,* 1995; Almeida *et al.,* 1996; Valadares, 2006) promovem uma redução marcante no peso corporal (ALMEIDA, 2001; SANCHES, 2010).

Os resultados encontrados no presente trabalho confirmam os descritos na literatura relativos ao peso corporal, tendo em vista que tanto as ratas mães quanto os filhotes que receberam dieta com deficiência de proteína pesaram menos durante o período de lactação, pelo menos após o 14º dia. As ratas mães com dieta deficiente em proteína apresentaram uma queda no peso corporal, mais evidente apartir da terceira semana da fase de lactação, comparadas com as ratas-mães do grupo controle e tratados com amaranto. Esta perda de peso das mães que receberam dieta pobre em proteína pode ser atribuída a um gasto energético na amamentação e nos cuidados com os filhotes sem a ingestão correspondente (DE OLIVEIRA, 1985). Alguns estudos mostram que as mães desnutridas passam mais tempo amamentando e menos tempo descansando fora do ninho do que as mães controle (LEVITSKY *et al.,* 1995), levando a um maior consumo de energia nesses animais. Outros revelam que ratas lactantes que recebem dieta com deficiência de proteína tendem a consumir menor quantidade de alimento (LIMA *et al*., 1983; SILVA *et al*., 2003).

Segundo relato de Leite *et al*., (2002), outro fator importante que pode justificar a perda de peso das ratas mães alimentadas com a dieta deficiente em proteína se deve ao fato de ratas no pico da amamentação poderem perder gordura corporal e proteínas de reserva acumuladas durante o período de gestação que serve para manter os levados requerimentos energético nesse período.

Os fatores mencionados acima juntamente com a própria dieta deficiente em proteína, portanto, insuficiente para suprir as necessidades do animal durante a lactação, podem explicar a marcante redução de peso das ratas que receberam a dieta indutora de desnutrição, o que dá suporte a hipótese de mobilização de tecidos durante esse período. (SILVA *et al*., 2003).

Diversos autores Leite *et al.,* (2002), Araya; Barriga, (1996), Picciano (1996), ressaltam que para a lactação ser considerada bem sucedida a prole deve apresentar um crescimento adequado, com o menor impacto sobre o estado nutricional materno. Assim, para o desempenho lactacional ser pleno, a ingestão dietética da mãe é muito importante (PINE *et al.*, 1994).

Alguns autores, Silva et al., (2003) Passos *et al*., (2000), acreditam que a diferença de peso entre filhotes desnutridos e controle é somente devido à redução na quantidade

de leite das mães em decorrência da diminuição na produção de lactose, enquanto as concentrações de proteína e de gordura estariam em níveis normais descrevem que esta diferença de peso entre os filhotes se deve a uma alteração na produção, e na composição de leite das ratas mães desnutridas em decorrência da desnutrição.

Os resultados sugerem que a variação na quantidade de proteína materna e o total de alimento ingerido estão associados à diminuição da síntese protéica da glândula mamária. Sendo assim, acredita-se que as mães estariam não apenas fornecendo menor quantidade de leite aos filhotes, mas também um leite com deficiência em proteína, provocando as alterações no crescimento e desenvolvimento desses animais, o que foi refletido de forma diferente nos animais tratados com amaranto.

A diferença entre o peso corporal dos animais desnutridos, controle e tratados persistiu até idade adulta (60 dias). Em nenhum momento, os animais desnutridos com déficit no seu peso corporal conseguiram igualar aos controles e aos animais tratados com amaranto. Há sugestões na literatura Bonjour *et al.*, (2001), que alguns animais desnutridos não apresentam recuperação adaptativa do peso corporal e que esse fato pode ser explicado por alterações no desenvolvimento ósseo e que a proteína exerce um importante papel no desenvolvimento ósseo, portanto, a baixa ingestão de proteína pode causar, em humanos e em animais, prejuízos tanto na aquisição de massa óssea durante o crescimento ósseo, como também persiste até a fase adulta, aumentando o risco de osteoporose.

Passos *et al.*, (2000) argumentam ainda que a regulação do peso corporal do animal adulto é determinada em estágios precoces da vida (gestação e lactação); assim, sendo o peso corporal dos adultos depende das condições materna durante a gestação e lactação sendo a composição do leite um fator crítico no imprinting metabólico. Nesse estudo o baixo peso persistente nos animais desnutridos na fase adulta pode ser resultante da adaptação do organismo às condições precárias impostas pela desnutrição durante o seu desenvolvimento. Estes resultados encontrados confirmam a teoria de alguns pesquisadores (Ramos *et al.*, 1997; Passos *et al.*, 2000), que a restrição protéica em ratas lactantes pode levar a alterações metabólicas e fisiológicas na prole que podem ser irreversíveis, mesmo que tenha acesso normal a dieta após o desmame. Entretanto, é comprovado em outros trabalhos, como o de ao avaliar a eficiência do concentrado de proteína do *amaranto* obteve resultado positivo para o ganho de peso, o que foi

comprovado nos animais desse estudo submetidos à dieta adicionada de *amaranto*, tendo sido observado que o peso final foi 2 vezes o peso dos animais desnutridos (ESCUDERO *et al.* ,2004)

Embora possa parecer paradoxal, verificamos no estudo que os animais alimentados com dieta hipoprotéica consumiram menor quantidade de dieta que os respectivos animais controle e tratados com *amaranto*. Contudo, este comportamento é esperado visto que o animal pode exibir comportamento anorético na tentativa de evitar maiores alterações no balanço nitrogenado negativo que se instala devido á esse tipo de dieta (SOUZA *et al*., 2001).

Medindo a eficácia alimentar (CEA) da dieta controle utilizada na gestação com relação ao valor protéico, verificou-se que o mesmo foi compensado pela maior quantidade de dieta ingerida durante a gestação, compensando a reduzida ingesta durante o aleitamento, quando da dieta específica de cada grupo.

Silva *et al*., (2003) refere um quadro de hiperfagia na gravidez de gestantes bem nutridas, enquanto que as gestantes mal nutridas, não aumentam seu consumo de alimento em relação a ratas gestantes não grávidas. No caso particular deste estudo, a deficiência de metionina + cistina induziu provavelmente a um aumento na ingestão alimentar, como tentativa de compensação, entretanto, isso não foi refletido em ganho de peso, pois estes animais não responderam igualmente, tendo sido observado que houve diferença de peso entre as ratas em torno de 19 gramas, mesmo tendo recebido a mesma dieta. Apesar disso a prole não teve seu peso modificado, o qual foi mantido à custa das reservas da rata mãe, mesmo naquelas cuja dieta foi substituída no pós parto, com 7,8% de proteína. Nesse estudo, a desnutrição reduziu o peso corporal dos animais apartir do 10º dia de vida.

A adequação da proteína das dietas para o aleitamento foi avaliada através do valor de lactância, mostrando que durante os 14 dias de aleitamento, considerando as 6 crias para cada rata, a proteína do *amaranto* apresentou um valor de lactância 8 vezes maior que o da dieta controle. No entanto, é importante ressaltar que o índice de VL alcançado pela dieta controle, foi melhor do que o índice da dieta indutora da desnutrição (0,42) (DBR-PA) e para o feijão (0,8) verificado por (TAGLE, 1981).

Com isso pode-se deduzir que a proteína do *amaranto*, apesar da deficiência na sua composição do aminoácido tirosina, é capaz de manter o aleitamento no período em que as crias se alimentavam apenas do leite materno.

De acordo com o Coeficiente de Correlação de Pearson o consumo de proteína, levando-se em consideração o período do estudo do desmame aos 60 dias de consumo das dietas, a indutora de desnutrição não apresentou correlação com o ganho de peso o que era esperado, entretanto, o consumo da dieta materna parece ter contribuído de alguma forma por ser a dieta materna responsável pelo ganho de peso até ao desmame, ficando assim estabelecido não haver uma correlação entre os valores do ganho de peso e o consumo da dieta nesses animais que receberam a dieta DBR.

Por outro lado, a desnutrição protéica parece estar associada ao aumento do consumo da dieta diária após o desmame, isto ocorre como forma de compensar o déficit de nutrientes oriundos daqueles períodos críticos de desenvolvimento, ocasionando um catch-up de crescimento como o observado por (SILVA *et al*., 2003).

A hematimetria é uma avaliação quantitativa da massa de eritrócitos e de hemoglobina no sangue circulante, que fornece informações sobre a morfologia dos eritrócitos. Em relação á contagem das plaquetas, os valores encontrados nesse estudo apesar de serem compatíveis com os parâmetros da literatura cerca de 500 a 1300 plaquetas segundo Harkness; Wagner (1995) e de 450 a 8850 plaquetas de acordo com Cuba *et al*.(2007), mostraram-se similares entre os grupos.

A desnutrição precoce induz alterações na produção de células sanguíneas, alterando o número de hemácias e leucócitos. A gravidade da desnutrição que tem sido observada é quando a mesma se instala o mais precocemente, quando em todo período lactacional. Tem sido relatado em ratos Wistar como conseqüência aguda a leucopenia e como efeito crônico a anemia. (FEITOSA *et al.*, 2009). Nesse estudo a desnutrição não afetou os perfis hematológicos dos animais dos grupos avaliados, este fato pode este relacionado ao conteúdo de ferro da dieta. O comportamento da série vermelha foi superior nos animais tratados com a farinha de *amaranto* aos achados no estudo realizado por Santos *et al*., (2004) os quais avaliaram o comportamento do enriquecimento de uma dieta utilizada em uma creche com a mistura da folha de mandioca (multimistura), que apesar de terem encontrado valores maiores nos grupos aproteíco, estes foram inferiores aos valores dos grupos tanto desnutridos como os tratados com amaranto nesse estudo.

Ao analisar os valores hematológicos relacionados ao leucograma os mesmos corroboram os da literatura (SANTOS *et al*., 2004; CARVALHO *et al.,* 2009).

Os níveis sanguíneos de colesterol total e da fração LDLc podem ser elevados pelo consumo de calorias em excesso. Esse resultado não foi comprovado em nosso estudo onde se verificou que os animais tratados com *amaranto* e os desnutridos apresentaram teores de LDLc menor que os animais controle, quase 3 vezes menos. No estudo de Escudero *et al.,(*2005), os níveis de LDLc elevou-se após uso do *amaranto*, entretanto o colesterol total apresentou–se reduzido quando comparados aos animais controle .

Um fator importante a ser analisado quanto se trata de colesterolemia é o perfil de aminoácido d dieta consumida visto que, os aminoácidos lisina e metionina são tidos como capazes de induzir hipercolesterolemia em coelhos, ao passo que a arginina comprovadamente é capaz de induzir a redução do colesterol (SUGANO *et al*., 1982) sugerem que a relação lisina/arginina é importante para este efeito, e que quanto menor este coeficiente menor será a colesterolemia (GORINSTEIN *et al*., 2001). Nesse estudo ao se analisar o perfil de aminoácidos verificou-se que a relação dos aminoácidos lisina/arginina para a dieta suplementada com *amaranto cruentus* é de 0,15 menor que a dos (a. hypochondriacus) e da soja cultivada no Brasil que é de 0,51 e 0,63, respectivamente (GORINSTEIN *et al*., 2001) , e menor que a da soja que é de 0,9 (SANCHEZ *et al*., 1988). A dieta controle do estudo mostrou um relação 9 vezes menor que a relação da dieta indutora da desnutrição e comparada a caseína mostrou-se ainda menor (2,2) sendo esta considerada uma proteína reconhecida como hipercolesterolemizante em coelhos. Os dados são contrários ao da literatura pois diferem visto que não foi observado efeito hipercolesterolemizante em nenhuma dieta utilizada. Entretanto, o menor valor de colesterol observado foi nos animais tratados com farinha instantânea extrusada de amaranto (53,13mg/dl).

Os valores de HDLc dos animais apesar de não mostrar diferença significante foi observado que os desnutridos e os tratados com amaranto apresentaram valores maiores quando comparados aos controles, o que pode ser atribuído ao conteúdo de antocianina do açaí segundo (BOBBIO *et al*., 2000).

O fato da redução do colesterol total nos animais desse estudo pode ser devido a presença do feijão na dieta, em decorrência de maior excreção nas fezes, sendo

considerado um fator positivo pelo aumento do HDLc, por ser um fator de proteção cardiovascular (MENDONÇA, 2006).

Os dados encontrados no estudo dos triglicerídeos apresentaram-se bastante elevados tanto nos animais desnutridos como nos que receberam o *amaranto* na dieta.

A desnutrição protéica, além das alterações antropométricas, pode causar danos estruturais e funcionais do organismo ocasionados pelo estresse oxidativo nas células e tecidos, pode ser resultante do excesso na produção oxidante ou na depleção das defesas antioxidantes (LEITE *et al.*, 2002).

Os estudos acerca da avaliação do estresse oxidativo vêm adquirindo relevância significativa. Os marcadores oxidativos desempenham função importante na gênese de processos metabólicos que culminam na ocorrência de enfermidades crônicas degenerativas. Tal capacidade os torna importantes ferramentas na elucidação de mecanismos e implicações biológicas do dano oxidativo, com o objetivo de possibilitar o planejamento de ações eficazes no controle e prevenção de tais processos (BARBOSA *et al*., 2008; MAYNE; 2003; REYES *et al.*, 2006).

Um dos mecanismos orgânicos de maior impacto a hemostasia celular é o estresse oxidativo e a produção de seus radicais. O estresse oxidativo é resultado da diminuição de defesas antioxidantes ou aumento na produção de espécies ativas, pela exposição a valores excessivos de O2 ou de agentes intoxicantes. Portanto o estresse oxidativo é um distúrbio no balanço entre pro-oxidantes e antioxidantes. Tal dano é chamado de estresse oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

Os organismos aeróbios somente conseguem sobreviver na presença do O2 devido às defesas antioxidantes. Essas defesas diferem de tecido para tecido e de célula para célula. As defesas antioxidantes podem ser induzidas por exposição do organismo a Espécie Reativa de Oxigênio (EAO) / Espécies Reativa de Nitrogênio (EAN) e por sinais celulares de moléculas, tais como as citocinas. No entanto, essas defesas podem ser incompletas, ou seja, não previnem completamente o dano. Antioxidantes são substâncias que quando presentes em baixas concentrações comparadas como o agente oxidante, de modo significativo, reduzem ou previne a oxidação do substrato

(molécula). Diferentes antioxidantes são necessários para proteção contra o estresse oxidativo (BLOKHINA *et al*., 2003; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

Os mecanismos de defesa são formados por enzimas, tais como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), glutationa peroxidase (GPx), glutationa S-transferase (GST) e outras que não participam diretamente do processo, mas fornecem suporte à GPx, como a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6DP) e a glutationa redutase (GR). (RITTER *et al*., 2004).

Existem várias evidências da atividade protetora dos componentes do sistema antioxidante. As lesões de reperfusão pós-isquemias de coração, rim, fígado e intestino são prevenidos por SOD e CAT (RITTER *et al*., 2004).

A enzima catalase está presente na maioria dos peroxissomas dos mamíferos, é evidenciada em estudo sendo considerada como sistema eficaz de defesa e catalisa a inativação do peróxido de hidrogênio e de outros hidroperóxidos orgânicos (FERRO 2010).

Muitas reações de degradação dos aminoácidos e gorduras, ocasionadas pelo estresse oxidativo, produzem radicais livres e peróxidos de hidrogênio, espécies altamente reativas capazes de lesar a maquinaria celular. A maneira que a célula encontrou para se defender desses produtos foi à formação de peroxissomas, pequenas vesículas envoltas por membrana, onde ocorrem as reações devido à grande quantidade de catalase, como citado por ATLI; CANLI (2007). A atividade da catalase é importante para o monitoramento, por ser uma enzima que apresenta elevada atividade quando o organismo se encontra em estresse oxidativo (CHANDRAN *et al.,* 2005).

O aumento na produção de EAO induz a danos em lipídeos e no aumento dos níveis da CAT, sendo que esta atua como um antioxidante decompondo o H_2O_2 em grupos estáveis de O_2.

A análise da atividade da catalase desse estudo revelou uma elevação ao término do experimento em relação ao grupo tratado (Farinha Instantânea Extrusada de Amaranto adicionada de Quirera de Arroz) quando comparado ao de animais desnutrido (DBR-PA) com diferença estatística ($p < 0,01$) mantendo-se assim elevada em relação ao controle ($p < 0,01$), o que reflete que houve uma influência latente e abrangente a

todos os animais dos níveis de estresse oxidativo alcançado pela desnutrição que foi aprimorado Esses resultados novamente corroboram com a premissa de que a modulação das enzimas antioxidante é um evento dependente da concentração e o tempo de exposição celular frente as EROS (ANTUNES NETO, *et al.,* 2008)

A lipoperoxidação (LPO) é um processo de oxidação de lipídios poliinsaturados. Membranas e organelas celulares (mitocôndria, lisossomos e peroxissomas) contêm grande quantidade de lipídios poliinsaturados, os quais juntamente com as proteínas compõem os maiores constituintes biológicos de membranas (URSO; CLARKSON, 2003).

A LPO está relacionada com efeitos tóxicos de diversas substâncias químicas, injúrias nos tecidos e no desenvolvimento de doenças (DAL-PIZZOL *et al*., 2000). As lipoproteínas também são alvos do dano oxidativo. A peroxidação de lipoproteínas de baixa densidade contribui para a aterosclerose. As HDL são lipoproteínas de alta densidade, que removem o excesso de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, sendo considerado um agente que previne a aterosclerose. No entanto as HDL também podem sofrer lipoperoxidação (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999).

A peroxidação dos lipídios das membranas celulares é apenas um exemplo de lesão biológica que pode ser promovida pelos radicais livres uma vez que praticamente todas as biomoléculas são suscetíveis à oxidação. Para se protegerem contra oxidações os organismos dispõe de mecanismos químicos e enzimáticos. A peroxidação induz aumento de enzimas antioxidantes como a catalase, responsáveis por remover o excesso de H_2O (HALLIWELL; GUTTERIDGE 1989).

O aumento na produção de EAO induz a danos em lipídeos e no aumento dos níveis da catalase (CAT), sendo que esta atua como um antioxidante decompondo o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em grupos estáveis de O_2.

Os resultados do estudo mostram que mesmo com a elevação da atividade da catalase a mesma não foi suficiente para redução dos peróxidos, apesar de ser maior a atividade da dieta adicionada de amaranto utilizada como tratamento da desnutrição e possivelmente como protetora do estresse oxidativo celular. O uso de suplementos com atividade antioxidante está diretamente relacionado ao conteúdo de vitaminas e

flavonóides e conseqüentemente á sua atividade de seqüestrar radicais livres (FENGLLIN *et al*., 2004). Como a dieta utilizada apresenta quantidade considerável de carotenóides e vitamina E, Zinco estes com ação antioxidante, podem ser responsáveis pela ação da dieta sobre o estresse oxidativo dos animais do estudo (MENDONÇA, 2005).

Foi possível ser observado que o efeito antioxidante positivo do uso da farinha instantânea de amaranto como suplementação da dieta de base do paraense, também pode ser atribuído sobre a reação hepática quando do aumento de 1,59g no peso do fígado dos animais que receberam o amaranto quando comparados aos desnutridos, o que demonstra uma reação do organismo contra o dano oxidativo, que funciona como sistema de defesa ao agente oxidativo (BLOKHINA *et al*., 2003; HALLIWEL; GUTTERIDGE, 1999).

7. CONCLUSÃO

A suplementação da dieta indutora da DBR (Dieta de base do Pará) com a farinha instantânea extrusada de amaranto promoveu:

- Alteração ponderal satisfatória em especial nas lactantes e nos filhotes apartir do 14º dia de vida.
- Por outro lado apresentou uma melhora na qualidade nutricional da dieta de base do Pará (modelo de desnutrição).

- A suplementação com a farinha de amaranto na dieta de base do Pará não refletiu na peroxidação lipídica medida no plasma, através da quantificação do malondialdeído (MDL) após suplementação

- A dieta suplementada com amaranto foi capaz de promover degeneração linfo histiocitária lobular e necrose hepatocitária que pode ter sido ocasionado por edema reversível por maior acúmulo de água e por ação lesiva dos oxidantes produzidos pela desnutrição.

Bibliografia

AMERICAN ASSOCIATON OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods.** 9 ed., St. Paul, v.1-2, 1995.

ABDALLA, D. S. P., LIMA, É. S. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 37, n. 3, p.293-303, set./dez., 2001.

AKHGARI, M., ABDOLLAHI, M., KEBRYAEEZADEH, A., HOSSEINI, R., SABZEVARI, O. Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. **Human & Experimental Toxicology**; n.22:p.205-211. 2003

ALAM NH, HAMADANI JD, DEWAN N, FUCHS GJ. Efficacy and safety of a modified oral rehydration solution (ReSoMaL) in the treatment of severely malnourished children with watery diarrhea. **J Pediatria** .n.143,p. 614-9.2003.

ALLISON, S.P. Malnutrion, disease, and outcome. **Nutrition**, vol. 16, p. 590-591, 2000.

ALMEIDA, S. S.; TONKISS, J.; GALLER, J.R. Malnutrition and reactivity to drugs acting in the central nervous system. Neurosci. Biobehav. Rev. n.4, v.3, p. 223-238.2001.

ALMEIDA, M.F.; YAMASAK, E.N.; SILVEIRA, A.C.; GUEDES, R.C.; HOROC, J.N. The GABA ergic and cholinergic systems in the retina are differentially affected by postnatal malnutrition during the suckling period. **Nutr. Neurosci. Biobehav**. **Rev**.n.20,p.389-402. 2005

ALVES, L.F.;ROCHA, M.S.;GOMES, C. C. Avaliação da qualidade protéica da Quinua Real (Chenopodium quinoa Willd) de métodos biológicos). **E-scientia**,v.1,n.1,novembro, 2008.

AMAYA-FARFAN, J. M.; SPEHAR, C. R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para sua alimentação? A proposta do amaranto (Amaranthus.sp). **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.12, n.1, p.47-56, 2005.

ANDRAUS, W. **Estudo do efeito da S-Nitroso-N-acelticisteína na lesão de isquemia/ reperfusão em fígadoesteatótico em ratos**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2007.

ANTUNES NETO, J. M. F. SILVA, P.da,;MACEDO, D.V.de Proteínas de estresse “HSP70” atuam como marcadoras de estresses oxidativo em ratos “Wistar” submetidos a treinamento intrmitente de corrida para indução de overraching. **Brasilian Journal of Biomotrcity**, v.2, n.3, p.160-175.2008

ANVISA. **Resolução nº 16/1999** de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre Novos Alimentos e Novos Ingredientes. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: 10 abr. 2010.

ARAYA, J.A., BARRIGA, C.P. Efecto de la preñez y la lactancia en el estado nutricional de los acidos grasos esenciales, en la rata. **Revista Medica de Chile**, Santiago, v.124, p.923-927, 1996.

ARUOMA, O.I. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant food. **Mutation Research .**523–524 p**.** 9–20.2003.

ASCHERIO, A.; MEIR J.; STAMPFER, GRAHAM, A.; COLDITZ, E. *et al*. Correlations of vitamin A and intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among american men and women. **J. Nutr**., v.122, p.1792- 1801, 1992.

ASHWORTH, A. Treatment of Severe Malnutrition. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** , n.32, v.5, p. 516-8. 2001.

ATLI G; CANLI, M. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C v.**145, p.282-287. 2007.

AULER, F. **Produção e Caracterização de Farinhas e Concentrados Protéicos de Amaranto** (*Amaranthus cruents*) Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Campinas FEA- 75p. 2002.

AYRES, M. M.JR.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S.S. Biostat 5.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Belém, Pará, Brasil: Sociedade Civil Mamirauá.Brasília, Distrito Federal, Brasil: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), 2009.290p.

BARD, J, E.P. **Psicultura do pirarucu**: Arapaima *gigas*. Belém, 1986.p.189.

BARBOSA, L.; BUTTE; N.F.; VILLALPANDO, S.; WONG, W.W.; SMITH; E.O. Maternal energy balance and lactation performance of Mesoamerindians as a function of body mass index. **Am J.Clin. Nutr**. v. 66, p. 575-83.1997.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O. *et al*. Oxidative stress: assessment of biomarkers. **Nutrire***:* **rev. Soc. Bras. Alim. Nutr**. São Paulo, v. 33, n. 2, p. 111-128, ago. 2008

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Quím. Nova**, São Paulo, v.29, n.1, jan./fev. 2006.

BEATY RD, KERBER JD. **Concepts, Instrumentation and Techniques in atomic absorption spectrophotometry**. Perkin Elmer Corporation, USA, 1993.

BECKER, LEICHSENRING, K. Antioxidant status and nitric oxide in malnutrition syndrome kwashiorkor. **Pediat.Res**., 49: 237-243.2001.

BELLÓ, A. Dano Oxidativo e Regulação Biológica pelos Radicais livres. In: MARRONI,N.P.et al,. **Estresse Oxidativo e Antioxidantes.** Porto Alegre; Editora, p-15-19. ULBRA, 2002.

BERGANZA, B.E. ORAN,A.W.; RODRIGUEZ, G.M.; COTO,N.M.; *et al*. Effect of variety and location on the total fat, fatty acids and saqualine content f amaranth. **Plant Foods Human Nut**.v.58, p.1-6.2003.

BHAN, M.J.; SOMMERFELT, H.; STRAND, T. Micronutrient deficiency in children. **Br J Nutr**., v.85, Suppl. 2, p. 199-203. 2001.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr**., v.12, n.2, p. 123-130, 1999.

BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. **Annals of Botany**, London, v. 91,p. 179-194, 2003.

BOBBIO, F. O; DRUZIAN, J. I; ABRÃO, P. A. BOBBIO, P.A. *et al*. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (Euterpe oleracea, Mart). **Ciênc. Tecnol. Aliment**. vol.20 no.3 Campinas Sept. /Dec. 2000

BONATTO, F.; POLYDORO, M. ANDRADES; M.E.;CONTE da FROTA,J.R. *et al*. Effects of maternal protein malnutrition on oxidative markers in the ypung rat córtex and cerebellum. **Neuroscience Letters**. v.9, p. 281-284.2006.

BONJOUR, J. P.; CHEVALLEY, T.; AMMANN, P.; SLOSMAN, D. *et al*. Gain in bone mineral mass in prepubertal girls 3.5 years after discontinuation of calcium supplementation: a follow-up study. **Lance***t*, London, v. 358, p. 1208-1212, 2001.

BORTOLINE, A.C.M. **Efeitos de diferentes modelos de desnutrição sobre parâmetros bioquímicos hepáticos, plasmáticos e cerebelares de ratos de 21 dias.** 2005. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2005.

BOTELHO, A.T. **Preparação e salga do pirarucu**. Belém. **SPVA**. 1956. 35p

BOZA, J, J.; MOËNNOZ, D.; VUICHOUD, J.; JARRET, A.R. *et al*. Food deprivation and refeeding influence growth, nutrient retention and functional recovery of rats. **J Nutr**., v.129, p.1340-6, 1999.

BRAMBILLA, T.R.; CONSTANTINO, A.P. C.; D´OLIVEIRA, P.S. Efeito da adubação nitrogenada na produção de amaranto Influence of nitrogen fertilization on yield of amaranth. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 29, n. 4, p. 761-768, out./dez. 2008.

BRASIL. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), 2009. **Pobreza e desigualdade** Disponível em: https://www. ipea.org.br Acesso em: 22 de setembro. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Mortalidade infantil Conheça o Pacto pela redução da mortalidade infantil. 2009-2010**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <http://portal,saúde.gov.br/portal. > Acesso em: 22 outubro. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher – PNDS 2009**: Dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. Brasília; 2009. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/>.Acesso em: 12 jun. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE. Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). **Normas para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos E Animais** (Res.CNS 196/96 e outras). RESOLUÇÃO Nº2. 634/CONSEP-UFPA/ 99**.**

BRAY, T. M.; TAYLOR, C. G. Tissue glutathione, nutrition and oxidative stress. **Can. J. Pharmacol**., v.71, p.746-751, 1993.

BREENE, W.M. Food uses of grain amaranth. **Cereal Foods**. World, St.Paul, v.36, n.5, p.426-429, 1991.

BRENNER, D.; WILLIAMS, J.T.Grain amaranth (Amaranthus species).In: WILLIAMS, J.T. (Ed). **Underutilized crops**: cereais and pseudocereais. London: Chapman 7 Hall, 1995.p 128-186.

BRESSANI, R. Grain quality of common beans. **Food Reviews International**, v.9, p.237-297, 1993.
_____The proteins of grain amaranth. **Food Reviews International.** New York, v.5, n.1, p.13-38, 1988.

BRESSANI, R.; MARTELL, E.C.M.D, GODÍNEZ, C.M.D. Protein quality evaluation of amaranth in adult humans. **Plants Foods Human Nutr**. n.43, v.2, p.123-143, Maceió: EDUFAL, 2000.

CAETANO, A. C. **Fenil ester do ácido cafeico melhora a resposta ao estresse oxidativo em modelo animal de obesidade induzida por dieta hiperlipídica.** Dissertação de (Mestrado), 2010. USP. 2010.

CARABAJAL, M. **Principais Causas**: fome no Mundo, 2009. Tese (Mestrado) UAA. Disponível em:< http://www.cepal.org>. Acesso em: 12 jun. 2010.

CARRAZZA, F. R.; MARCONDES, E. **Nutrição clínica em pediatria**. São Paulo. Savier,1991.

CARVALHO, G. D.; MASSENO, A. P. B.; ZANINI, M. S. , ZANINI, S. F.. Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus novergicus* linhagem (Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. **Revista Ceres**. n.56,v.1,p. 051-057.2009.

CAVALCANTI, A.L.; LUCENA, R.N.de; MARTINS, V.M.; GRANVILLE-GARCIA, F.A. Caracterização da pesquisa odontológica experimental em animais. **RGO,** Porto Alegre, v. 57, n.1, p.93-98, jan./mar. 2009.

CENTRO COLABORADOR DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO-NORTE-CECAN NORTE. Chamada Nutricional da Região Norte. Universidade Federal do Pará. 2010.

CHANDRAN, R.; SIVAKUMAR, A.A.; MOHANDA, S.S. S.; ARUCHAMI, M. Effect of cadmium and zinc on antioxidant enzyme activity in the gastropod, Achatina fulica. **Comparative Biochemistry and physiology Part C. v.**140, p.422-426. 2005

CHÁVEZ-JÁUREGUI, R.N.; SILVA, M.E.M.P.; ARĚAS J.A.G. **Journal of Food Sciencev**. 65, n. 6, p. 1009–1015, September 2000.

CHOW, C.S. Vitamin E and oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med**., v.11, p.215- 32, 1991.

CINTRA, L.; DIAZ-CINTRA, S.; GALVAN, A. KEMPNER, T.; *et al*. Effects of protein udemutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. **Brain Res**. n.532, p. 271-277.1990

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE (CNS). (Brasil). **Resolução CNS nº. 196**, de 10 de outubro de 1996. Normas de pesquisa em saúde, publicada em 13/06/88. Brasília: Diário Oficial da União (DOU), 1996. (republicada em 05/01/1999).

CORRÊA, A. D. **Farinha de folhas de mandioca (Manihot esculenta Crantz ev. Baiana): Efeito de processamento sobre alguns nutrientes e antinutrientes**. 2000. Tese de (Doutorado) 108 pag. Universidade de Lavras. Lavras. 2000.

CUBAS ZS, SILVA JCR, CATÃO-DIAS JL (ed.) 2007. **Tratado de animais selvagens medicina veterinária**. São Paulo: Roca. Seção 5: p.432-474.

CUNHA, A. L.P.GONÇALVES,R.M.C. **O açaí**: um estudo sobre hábitos de consumo e sua importância nutricional.Belém.Universidade Federal do Pará.1988.81p

CUNNINGHAM-RUNDLES S, MCNEELEY DF, MOON A. Mechanisms of nutrient modulation of the immune response. **J Allergy Clin Imunnol.** v. 115, p. 1119-28, 2005.

CUPPARI, Lilian. **Guias de medicina ambulatorial e hospitalar UNIFESP/ Escola Paulista de Medicina:** Nutrição. São Paulo: Manole, 2002.

DAL PIZZIOL F, KLAMT F, VIANA MM, SCHRODER N, QUEVEDO J, BENTAFO MS,MOREIRA JC, WALZ R. Lipid peroxidation in hippocampus early and late after status epilepticus induced by pilocarpine or kainic acid in Wistar rats. **Neurosci Lett**. n.291, v.3, p.179-82. 2000:

DE MELLO MA, LUCIANO E, CARNEIRO EM, LATORRACA MQ, MACHADO DE OLIVEIRA CA, BOSCHERO AC. Glucose homeostasis in pregnant rats submitted to dietary protein restriction. **Res Commun Mol Pathol Pharmacol**. 113-114: 229-46. 2003.

DOUGLAS, J. Eating problems in young children. **Hospital medicine** (London England: 1998). n.63, v.3, p.140-143.2002.

DRI- DIETARY REFERENCE INTAKEs. Nutrition during lactation e Pregnances, 2008. Disponível em: Acesso em:19 de novembro de 2010. http://www.calgaryhealthregion.ca/pem/PublicSearch?direct=displayPdf&number=606303

DUTRA de OLIVEIRA, J.E. MARCHINI, J.S. **Ciências Nutricionais**. São Paulo.Sarvier.2000.

ELIA, M.; STRATTON, R.J. How much Undernutrition is there in hospital? **The Bristish Journal of Nutrition**. n.84, v.3, p.257-259, 2000.

EMBRAPA. AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS. **Produção de amaranto**. 2003. Disponível em: <http://www.embrapa.br/cgi-bin/htsearch?_words=amaranto> Acesso em: 12 maio. 2010.

ESCOBAR, A. M. U. **Prática pediátrica**. São Paulo: Atheneu, 2000.

ESCODA, M.S.Q. Debate para a crítica da transição nutricional. **Ciências e Saúde Coletiva**. v.7, n.2. São Paulo. 2002.

SCUDERO NL, ARELLANO MLD, LUCO JM, GIMÉNEZ MS *et al*. Comparison of the chemical composition and nutritional value of Amaranthus cruentus flour and its protein concentrate. **Plants Foods for Human Nutr**. n.59, v.1, p.15-21. 2004.

ESTERBAUER H; CHEEESEMAN KH. Determinación of aldehydic lipid peroxidation products: maionaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Meth. Enzymol**. 186: 407 – 421, 1990.

FAO, Roma. Necesidades de energia y de proteinas. Roma: FAO/OMS, 1991. 219p. (FAO/OMS. Série de Informes Técnicos, 724.

FECHNER, A.; BÖHME, C.C.; GROMER, S.; FUNK, M. *et al*. Antioxidant status and nitric oxide in malnutrition syndrome kwashiorkor. **Pediat. Res**., v.49, p. 237-243, 2001.

FEIL, H.C.P.B. **Efeito do estresse sobre o comportamento sexual de fêmeas: participação da angiotensina II**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.

FENGLLIN, H. RUILI, L.; BAO, H.; LIANG, M.Free radical scaverhging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected chinese medicinal plants.**Fitoterapia**. n.75, p.14-23.2004.

FEOLI, A. M.; SIQUEIRA, I. R.; ALMEIDA, L.; TRAMONTINA, A. C.*et al*., Effect of protein malnutrition on oxidative status in rat brain. **Nutrition**. n. 2,p.160-165.2006.
FERNANDES, B.S. Nova abordagem para o grave problema de desnutrição infantil. **Estudos Avançados.** v.17, n.48, São Paulo, May/Aug. 2005.

FERREIRA, H.S. **Desnutrição**: magnitude, significado social e possibilidades de prevenção. Maceió: EDUFAL, 2000.

FERRO, C. de O.;CAHAGAS,V.L.A.; OLIVEIRA,N.F.de , OLIVEIRA,P.L.de, SCHANAIDER, A..Atividade da catalase no pulmão, rim e intestino delgado não isquemiado de ratos após reperfusão intestinal. **Rev.Col. Bras.** n.37, p.31-38, 2010.

FIOCRUZ. CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ. Curso de manipulação de animais de Laboratório. 28p. Bahia. 2005.

FORD, E.S.GILES, W.H. A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using proposed definitions. **Diabetes Care**. V. 26, n.3, p.81. 2003.

FRANÇA, T. G. D. **Efeito da desnutrição protéica- calórica experimental na resposta imune e na susceptibilidade à infecção por Staphylococus aureus.** 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 2009.

FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **The Journal of Experimental Biology**, v. 201, p.1203-1209, 1998.

FROTA, M. A.; BARROSO, M. G. T. Desnutrição infantil no contexto familiar de mães adolescentes: visão cultural do cuidado. **Acta Scientiarum**., Maringá, Health Sciences, v. 26, n. 1, p. 167-173, 2008.

FROTA, M.A.; ALBUQUERQUE, C.M.; LINARA, A.G. Educação popular em saúde no cuidado à criança desnutrida. **Texto Contexto Enfermagem,** v.16, n.2, p. 246-53, 2007b.

FROTA, M.A.; SOUSA, R.M.V., S.FILHO, O.A.; BARROSO, M.G.T. Diagnóstico das necessidades humanas básicas no contexto sócio familiar de crianças desnutridas. **Cogitare Enfermagem**, v.12, n.2, p. 198-203, 2007 a.

FROTA; MIRNA ALBUQUERQUE; BARROSO MARIA GRASIELA TEIXEIRA. Desnutrição infantil no contexto familiar de mães adolescentes: visão cultural do cuidado. **Acta Scientiarum. Health Sciences.** Maringá, v. 26, no. 1, p. 167-173, 2004.

FUNDO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A CRIANÇA/BRASIL (UNICEF). **Crianças com menos de cinco anos abaixo do peso**. 2009. Disponível em :< http://www.unicefbrasil.org.>. Acesso em: 19 mar. 2010.

GALLER JR, BARRETT LR: Children and famine: long-term effects on behavioral development. **Ambulatory Child Health**.v. 7. p.85–95, 2002.

GALLER JR, SHUMSKY, J.S; MORGANE, P.J. Malnutrition and brain development **Nutrition in Pediatrics**, v.2, cap.14, p.01-55.1995.

GARCIA, L.A.; ALFARO, M.A.; BRESSANI, R. Digestibility and protein quality of raw and heat-processed defatted and nondeftted flour prepared with there amaranth species. **Journal Agricola Food Chemic**. n.35, p.604-607. 1987.

GARCIA, Y.J.; RODRIGUEZ-MALAVER, A. J.; PENALOZ, N. Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in the cereb slices. **Journal of neuroscience methods**.v.15.n.144,p. 127-135.2005.

GOLDEN, M.H.N., RAMADATH, D. Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor. **Proc. Nutr. Soc**. v.46, p.53-68, 1987.

GONZÁLES, J.A. Quantitative determinations of chemical compounds with nutrional value from Inca crops: Chenopodium quinoa ("quinoa"). **Plant Foods for Human Nuttrition**, Lincooln, v. 39, n 4, p. 331-337, 1989.

GONZALEZ, C.T.Impact of food supplementation during lactation on infant breast-milk intake and the proportion of infantsexclusively breasfed. **Journal Nutrition**. v.128,p.1692-1702.1998.

GOODE, H. F.; WEBSTER, N. R. Free radicals and antioxidants in sepsis. **Crit. Care Med**., v.21, n.1, p. 1770-1776, 1993.

GORINSTEIN S, VARGAS, O J M, JARAMILLO, N O, SALAS, I A, AYALA, A L M, ARANCIBIA-AVILA, P, et al. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. **Eur Food Res Technol.**; n.225, v.3-4, p. 321– 328. 2007.

GORINSTEIN, S., et al. Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.2, p.952 - 957, 2001

GORINSTEIN, S. Computation analysis of amin acid reside sequences of amaranth and some other proteins. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.62, n.10, p.1845-1851, 1998.

GROSSNIKLAUS DA, O'BRIEN MC, CLARK PC, DUNBAR SB. Nutrient intake in heart failure patients. **J Cardiovasc Nurs**. v.23: p.357-63, 2008.

GUARDIOLA, A. E; GEWARTH, C.; R., NEWRA T. Avaliação do desenvolvimento neuropsicomotor em escolares de primeira série e sua relação com o estado nutricional. **Journal de Pediatria**. Rio Janeiro, v.77, n.3, 2001.

GUEDES, R., C.A.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; TEODÓSIO, N.R.. O cerébro e a nutrição. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.56, n. 1, jan./mar. 2004.

GUERRA, R.R. **Efeito do tratamento com fatores hepatotróficos em ratas (Wistar) induzidas experimentalmente à cirrose por Tioacetamida.** 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2006.

GURMINI, J. ; CECÍLIO, W. M. A. C.; SCHULER, S. L.; OLANDOSKI, M. *et al*. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **J Bras Patol Med Lab** v. 4. n. 4. p. 271-8. Agosto 2005.

GUZMÁN-SILVA, M. A.; WANDERLEY, A. R.; MACÊDO, V. M.; BOAVENTURA, G. T. Recuperação da desnutrição em ratos mediante rações adicionadas ou não de suplemento alimentar e de vitaminas e minerais durante o período de crescimento. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.17, n.1, jan./mar. 2004.

HALLIWEL, B.; GUTTERDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 2th ed. Oxford: Clarenton Press, 1989.

HALLIWELL B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. **Nutr. Rev.Medicine,** v.57,p.104-113.1999.

HALLIWELL B., Gutteridge J. M., Cross C. E. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? **Journal of. Laboratory and clinical medicine.** v.119, p.598-620.1992.

HALLIWELL, B. Oral inflammation and reactive species: a missed opportunity? The **Lancet**, v.355, p.1179, 2000.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; AROUMA, O. I. **Food Chem**. **Toxicol**., v.33, p.601, 1995.

HARKNESS, S.E. Wagner, J.E. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 3ed. São Paulo: Roca. 1993

HENRIQUES, G.S.; SIMEONE, M.L.F.; ALMEIDA, A. Avaliação in vivo da qualidade protéica do champignon do Brasil (Agaricusbrasiliensis Wasser et al.) **Revista de Nutrição**, v.21,n.5.Sept/Oct.2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Departamento da População e Indicadores Sociais. **Evolução e perspectivas da mortalidade infantil no Brasil.** Rio de Janeiro: IBGE, 2009. Disponível em:.www.**ibge**.gov.br/home/**populacao**/indic.../**2009**/indicsaude.pdf. Acessado em 10 de maio de 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. POF 2008-2009 **Resultados da Pesquisa de Orçamentos Familiares. (*POF*) 2008-2009.** Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/sipd/.../POF.pdf. Acesso em 27 de novembro de 2010.

INOUE, M. Protective mechanism against reactive oxygen species. En: The Liver. Biology and Pathology. **Raven Press**, p. 443-60, 1994.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3ª ed. São Paulo, 1985. v. 1.

INSTITUE OF MEDICINE OF NATIONAL ACADEMIES **– Food and Nutrition 2000**. Disponível em: <http://www.iom.kdm>. Acessado em 20 nov. 2010.

JORDÃO, J.R. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no Sistema de defesa antioxidan. **Medicina, Ribeirão Preto**, v.31, p. 31-44, jan./mar. 1998.

JORGE JOÃO, W. S.; BRITO, R. S.; BONATI, W.F. Diagnóstico da realidade alimentar e nutricional do Estado do Pará. **Revista Paraense de Saúde**, Belém, v. 3/4, p.79, 1979.

KAPPEL, V. D. **Avaliação das propriedades antimicrobiana de extratos de Capsicum laccatum L Var. Pendulum**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2007.

KATONA P, KATONA-APTE J. The interaction between nutrition and infection. Clin **Infect Dis.** v. 46: p.1582-8, 2008.

KAUR, C.; KAPOOR, H. Ctioxidants in fruits and vegetables the millennium's health. **Int J Food Sci Technol.**, v.36, n.7, p.703-725, 2001.

KESSAVULU, M.M., GIRI, R., RAO, B.K., APPARAO, C. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in type 2 diabetics with microvascular complication. **Diabetes & Metabolism,** 26, 387-392. 2000.

KONISKI, Y.; HORIKAMA, K., OKU, Y. AZUMAYA, N. *et al*. Extraction of albumin fractions from amaranth grains: comparision of some physicochemical prpperties and the putative localization in the grains. **Agricultural of Biological Chemistry**. v. 55, n.11, p.2745-2750, Tokyo. 1991.

LEITE, M.S.; AZEREDO, V.B. de; CARMO, M. das G. T, do; BOAVENTURA, G.T. Utilização da multimistura durante a lactação e seus efeitos na produção e composição do leite materno de ratas**. Rev. Nutr.** vol.15, n. 2, Campinas May/Aug. 2002

LEVITSKY, D. A.; STRUPP, B. J. Malnutrition and the brain: Changing concepts, changing concems. **J. Nutr**. n.125, p.2212S – 2220S.1995.

LIMA, D. F NASCIMENTO, C. B. S.; LIMA, R. B. DE, GUACYRA, G.M. FARIAS. Avaliação nutricional da farinha de Algaroba (*Prosopis juliflora)*: preparo, composição centesimal e toxidez. **Arq. Biol. Tecnol**., Curitiba, v. 26, p. 193, 1983.

LION, I. K. V.; KAWDLEY, N. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis. **Journal Clinical Gastroenterol**.n. 46, p.511-516. 2006.

LORENZ, K.; WRIGHT, B. Phytate and tannin content of Amaranth. **Food Chemistry,** v.14, p.27-34, 1984.

LUNQUEZ, N. G. de; FERNANDEZ, S. MUCCIARELLI, S.L. de. Cconcentrado protéico de *Amaranthus cruents*. Método de extraccion, Propriedades funcionales. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**.v. 46. n.2,p.143-145,1996.

MADANI, S.; PROST, J.; BELLEVILE, J. Dietary protein level and origin (casein and highty purified soybean protein) affect hepatic stored plasma lipid transport and antioxidantive defese status in the rat. **Nutrition**. V.16.p.368-375.2000.

MAYNE, S. T. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **J. Nutr**., v. 133, p. 933S-940S, 2003. Supplement.

MANARY, LEEUVENBURG, M.J.; LEEUVENBURG, C.; HEINECKE, W. Increased oxidative stress in kwashiorkor. **J. Pediatr**., 137:421-4.2000.

MARCÍLIO R, AMAYA-FARFAN J, CIACCO CF, SPEHAR CR. Fracionamento do grão de amaranto (*A.cruentus*) brasileiro e suas características composicionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 23(3): 511-516, 2003.

MARCONDES, E.; VAZ, F. A.;RAMOS, J. L. A. **Pediatria Básica**: Pediatria Clínica Especializada. Tomo III. Editora Sarvier. São Paulo. 2008.

MARUBAYASHI, S. et al. The protective effect of administred tocofherol against hepatic damage caused by isquemiareperfusion or endotoxemia. **Ann. N. Y. Acad. Sciences**, v.570, p.208-218, 1989.

MATUZ, J; BARTOK, T; MOROCZ-SALOMON, K; BONA, L. Structure and potencial allergenic character of cereal protein I. Protein content and aminoacid complosition. **Cereal Research Communication,** Szeged, v.28, n.3, p.263-270, 2000.

MEDEIROS, M.DO C. TEODÓSIO, N.R. PESSOA, D. C.N. BION, F. M., SOARES, J. K. B. BARRETO, E. M. F. NASCIMENTO, E. História da Dieta Básica Regional (DBR) – um modelo experimental de desnutrição **Neurobiologia,** n.71. v. 4. out./dez., 2008.

MELO, D. S.; CORRÊA, A.D.,MARCUS, F. C. A.,SOUZA,R.V.de, ABREU, C.M.P.de, SANTOS, C.D. dos. Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a peroxidação lipídica, o perfil lipídico snguíneo e o peso do fígado de ratos. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v.31, n.2,p.420-428, mar/abr., 2005.

MELO; J. F; CORREIA, E. M. DE M.; SILVA; R. P.P. VIANA, M. T. et al. Efeito da desnutrição neonatal sobre o recrutamento celular e a atividade oxidante-antioxidante de Macrófagos em ratos adultos endotoxêmicos. **Revista de Nutrição**. V.21. N.6. Campinas. Nov/Dec.2008.

MENDONÇA, S. **Efeito hipocolesterolemizante da Proteína do Amaranto (Amaranthus cruents-BR-Alegria) em Hamisters**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2006.

MENDONÇA, X.M.F.D. A **extrusão termoplástica no desenvolvimento de produtos de amaranto e arroz.** Rio de Janeiro, 2005. Tese de (Doutorado)- Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

MENEZES, M. A.; TEODÓSIO; N. R; FREITAS, E. M. P. de. **Glicemia de ratos cronicamente desnutridos e efeito da Bauhinia forficata, Link "Pata-de-vaca" no rato adulto diabético e normal.** Recife, 1995. Tese (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Recife, 1995.

MERUSSE, J. L. B.; LAPICHICK, V. B. V.; SOUZA, N. L. DE; LAUS, J. E (Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA). Manual para técnicos em Bioterismo. Editora EPM, *São Paulo*, Brasil.1996.

MIETTINEM, J.A.; VANHANEN,H. Serum concentration and metabolism of cholesterol during rpeseed oil and squalie feeding. **American Journal Clinical Nutrition**. v. 59, p.356-363. 1994.

MILLWARD DJ, JACKSON AA. Protein/energy ratios of current diets in developed and developing countries compared with a safe protein/energy ratio: implications for recommended protein and amino acid intakes**. Public Health Nutr**. v.7: p.387-405, 2004.

MONTE, Cristina M. G. Desnutrição: um desafio secular à nutrição infantil. **Jornal de Pediatria,** Rio de Janeiro, 2000.

MONTEIRO, B., OLIVEIRA, E.LOPES, J, DINIZ, K. A desnutrição infantil nergético-protéica e suas Implicações no processo de memória E aprendizagem motora. **Anais do VI Congresso Goiano de Ciências do Esporte,** Goiânia 10 a 12 de Junho de 2009.

MONTEIRO, C. A.; LIMA, A. L. L.; SILVA, A. C.; FELDENHEIMER, D.A.; KONNO, S. C. *et al*. Causas do declínio acelerado da desnutrição infantil no Nordeste do Brasil (1986-1996-2006). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.44, n.1, p.17-27, 2010.

MÜLLER, O; KRAWINKEL M. Malnutrition and health in developing countries. **CMAJ**. n.173v.3:p.279-86. 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle.** 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.

NUNES, M. L. BATISTA, B. B. MICHELI, F.; BATISTELLA, V. Efeitos de desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. **Jornal de Pediatria**. v.78, n.1,p. 39-44.2002.

OLIVEIRA, C.A.C.; CARDOSO, A.C.A.; TROSTER, E.J.; CIACCIA, M.C.C. Suporte nutricional enteral versus parenteral: revisão sistemática. **Rev Bras Nutr Clin**., p.17, p.20-6, 2002.

OLIVEIRA, S.R.P. de; BION, F.M.; LOPES, S.M.L.;METRI,A.C. Uso de uma mistura alimentar contendo bioproteínas (Saccharomyces cerevisiae): efeitos sobre a gestação, a lactação e o crescimento de ratos. **Archivos Latinoamericanos de Nutición.v.51, n.1.supl.51.Caracas.2001**.

ONIS M, BLÖSSNER M, BORGHI E, FRONGILLO EA, MORRIS R. Estimates of global prevalence of childhood underweight in 1990 and 2015. **JAMA.** n.291, v.21;p. 2600-6. 2003.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Relatório da Organização Mundial da Saúde coloca a desnutrição entre as principais causas de morte do planeta**. 2010. Acesso em 26 de setembro de 2010.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Relatório das Metas de Desenvolvimento do Milênio.** 2009**.** Disponível em: <www. onu.org.>. Acesso em: 12 maio 2010.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. **Evaluación de la calidad de las proteínas.** Roma: FAO, 1992. 65 p. (Estudio FAO Alimentación y Nutrición), 51. 1992

OUMEISH OY, OUMEISH I. Nutritional skin problems in children. **Clin Dermatol**..v. 21:p.260-3. 2003.

PASKO, P. BARTON H, ZAGRODZKI P, GORINSTEIN S, FOLTA M, ZACHWIEJA Z. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. **Food Chem**.; n.115,v.3, p. 994–998. 2009.

PASSOS, M. C. F., RAMOS, C. F., TEIXEIRA, C. V., MOURA, E. G. Comportamento alimentar de ratos adultos submetidos à restrição protéica cujas mães sofreram desnutrição durante a lactação. **Revista de Nutrição**, v.14, p.7-11, 2001.

PELLETIER DL, FRONGILLO JR EA, SCHROEDER DG, HABICHT JP. A methodology for estimating the contribution of malnutrition to child mortality in developing countries. **J Nutr**. v.124: p.2106S-22.1994.

PELLETIER, D.L.; FRONGILLO, E.A. Changes in Child Survival Are Strongly Associated with Changes in Malnutrition in Developing Countries. **Journal of Nutrition** 133:107-119. 2003.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Dietary antioxidants:chemical and biological importance. **J. Brazilian Soc. Food Nutr.,** São Paulo, SP, v. 34, n. 3, p. 231-247,dez. 2009.

PEREIRA, B. Radicais Livres de Oxigênio e sua Importância para a Funcionalidade Imunológica. **Motriz**, São Paulo, v. 2, n. 2, dez. p. 71-79, 1996.

PEREIRA, M. A. G. **Influência da desnutrição energético protéica no processo de translocação bacteriana em modelo experimental de obstrução intestinal em ratos**. 2005. Dissertação de Mestrado. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. 2005.

PHILLIPS, D.Z.W.; HRST, S.; CLAREK, .N.S.; HALES, C.N.; OSMON, D.C. Fetal growth and insulin secretion in adult life. **Diabet**. v.37, p. 592-596. 1994.

PICCIANO, M.F. Pregnancy and lactation. *In*: ZIEGLER, G.E., FILER, L.J. *Present knowledge in nutrition*. 7.ed. [S.L.] **: Ilsi Press**,. v.37, p.384-395.1996.

PIETTA, P.; Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Produtc**., v. 63, p. 1035. 2000.

PINE, A. P.; JESSOP,; N.S.; OLDHAM, J.D. Maternalprotein reserves and their influence on lactational performance in rats, 3. The effects of dietary protein restriction and stage of lactation on milk composition. **Br. J. Nutr**.n.72, v.6, p.815-830.1994.

PINHEIRO, M. da C.N.. **Exposição mercurial e defesas antioxidantes em mulheres ribeirinhas da Amazônia.** 2005. 166 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, 2005.

PIRES FDA. Educação e a ética da experimentação em seres humanos. **Cad Saúde Pública.** 5(4): 403-7.1989.

PONS LEITE, H. SARNI, R.S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Rev. bras Nutr. Clin.**v.18,n2, p.87-94.2003.

POONAM, Y., SARKAR, S., BHATNAGAR, D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes and tissues in aged diabetics rats. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, 35, 389-392.1997.

PRADA, F. J. A. **Restrição proteica e estresse oxidativo em ratos submetidos ou não ao exercício físico.** Campinas, 2005. Tese (Doutorado) – Universidade de Campinas – UNICAMP, 2005.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO (PNUD). Brasil. **Crise deixará até 90 milhões a mais de pessoas desnutridas.** Disponível em: <http://www.onu-brasil.org.br/obrasilnaonu.php>. Acesso em: 20 abr. 2010.

QUEIROZ, Y.S. DE; SOARES, R. A. M.; CAPRILES, V. D, TORRES, *et al*. Efeito do processamento na atividade antioxidante do grão de amaranto (Amaranthus cruentus L. BRS-Alegria). **Archivos latinoamericanos de nutricion.** Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición v. 59,n. 4, 2009.

QURESHI AA, LEHMAN JW, PETERSON DM. Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female ckichens. **Journal of Nutrition**. v.126, n.8: p.1972-1978. 1996.

RABELO, F. **Marcadores inflamatórios sistêmicos em pacientes com doença hepática não gordurosa não alcoólica (DHGNA).** 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 2010.

RAMAKRISHNA, V., JAILKHANI, R. Evaluation of oxidative stress in Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) patients. **Diagnostic Pathology**, 2(22), 1-6. 2007.

RANA, S.; SODHI, C.P.; METHA, S.; VAIPHEI, K.; KATYAL, R.; THAKUR, S. et al. Protein-energy malnutrition and oxidative injury in growing rats. **Hum. Exp. Tox**., v.15, p. 810-814, 1996.

RAMOS, C. F.; LIMA, A. P.S.; TEIXEIRA, C.V.; BRITO, P.D.; MOURA, E.G. Thyroid funct in post-wearing rats which dams were fed a low protein diet during suckling. **Brasiliam Journal of Medical Biology Research**. Ribeirão Preto.v.30,n.1,p.133-137.1997.

REICHLING, T.D.; GERMAN, R.Z. Bones, muscles and visceral organs of protein-malnourished rats (Rattus norvegicus) grow more slowly but for longer durations to reach normal final size. **J. Nutr**., Filadélfia, v. 130, p. 2326-2332, 2000.

REYES, G. C.; SÁNCHEZ, I. R.; CALZADAMENDONZA, C. C.; OLIVARES-CORICHI, I. M. Disfunción endotelial y estrés oxidativo. **Rev. Endocrinol. Nutr**., v. 14, n. 4, p. 233-236, 2006.

RITTER, C., ANDRADES, M. E., REINKE, A., BARRETO, S. M., *et al*.Treatment with N-acetylcysteine plus deferoxamine protects rats against oxidative stress and improves survival in sepsis. **Critical Care Medicine**. n. 32, v.2,p.342-349. 2004

ROLLAND-CACHERA, M.F. Desequilibre nutritionnel au debut de la vie: effects a long term. **Archives de Pediatrie,** Paris, v.5, p.209S-211S, Supplemento. 1998.

ROMAN, J.A.; SGABIERI, V. C. Obtenção e caracterização química e nutricional de diferentes concentrados de caseína. **Rev. Nutr**. v.18, n.1, p.75-83, jan/fev.2005.

SAKURADA S, SHIDO O, SUGIMOTO N, HIRATSUKA Y, YODA T, KANOSUE K. SALONEN, J. T. et al. Interactions of serum cooper, selenium, and low density lipoprotein cholesterol in atherogenesis. **B.M.J**., v.302, n.30, p.756-760, 1991.

SAKURADA S, SHIDO O, SUGIMOTO N, HIRATSUKA Y, YODA T, KANOSUE K. Autonomic and behavioural thermoregulation in starved rats. **J Physiol**. N 2, p. 417-24. 2000.

SANCHES, E. F. **Efeito da desnutrição protéica em ratos submetidos à hipóxia-esquemica neonatal.** Dissertação de (Mestrado). 2010. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.

SANCHEZ, A.; RUBANO, D.A.; SHAULIK, G.W.; HUBBAND, R.; HORNING,M. C. Cholesterolemic effects of the lysine/aginine ration in rabbits after initial early growth. **Arch Latinoam Nutr,** v.28, p.229-238.1988.

SAUDERS, R.M.; BECKER, R. Amaranthus: a potencial food and feed resource. **Advances Cereal Science Technology**., St.Paul, v.6, p.357-396, 1984.

SCHNAIDER TB, SOUZA C. Aspectos éticos da experimentação animal. **Rev Bras Anestesiol**. 53(2): 278-85. 2003.

SEN, C.K. Exercise-induced oxidative stress and antioxidant nutrients. In: Nutrition in Sports **The Encyclopaedia of Sports Medicine**.. v. 7, cap. 22. 2001

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações.** São Paulo: Varela, 1996.

SILVA, L.F.;LIMA,D.F.; NASCIMENTO,C.B.S.; FARIAS,G.G.M. Efeito da farinha de algaroba (Prosopis juliflora) durante as fases de gestação e lactação em ratas Wistar.**Acta Scientiarum Biological Science**. v. 25,n. 2,p.459-465. Maringá. 2003.

SMITH, T. J. Squaline potencial chemopreventive agent. **Expert Opin Invert Drugs**. n. 9, p. 1841-1848.2000.

SOARES,R.A.M. **Identificação de pepitídios hipercolesterolemizantes do isolado protéico do grão de amaranto**. 2008. Tese de Mestrado. Universidade São Paulo. 2008.

SOUTHORN, P.A.; POWIS, G. Free radicals in medicine. In: chemical nature anal biologia reactions. **Mayo Clin. Prod**., v.63, n.4, p.300-408, 1988.

SOUZA, F. C.; MIRANDA NETO, M. H. **Desnutrição**: inter – relações entre os aspectos celulares e sociais. Maringá (PR), 2007.

SOUZA, I. P.; KANG, H. C NARDINELLI. ; L.; BORELLI, P. Desnutrição protéica: efeito sobre o espraiamento, fagocitose e atividade fungicida de macrófagos peritoneais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. V. 37, n. 2, maio/ago., 2001.

SPEHAR, C.R.; SANTOS, R.L.B.; NASSER, L.C.B. Diferenças entre Chenopodium quinoa e a planta daninha Chenopodium album. **Planta daninha**, Viçosa, v.21, n.3, p.487-491. 2003.

STEINBERG, D. Antioxidants and coronary heart disease. **New Engl. J Med**., v.328, n.20, p.1487-1489, 1993.

SUGANO, M.; ISHIWAKI, N.; NAGATA, Y., IMAIZUMI,K. Effects of arginini and lysine addition to casein soya-bean protein on serum lipids, apolipoproteins insulin and glucagon. **British Journal of Nutrition**. n. 48, p.211-221.1982.

TAGLE, M.A. **Nutrição**. São Paulo: Ed. Artes Médicas, 1981.

TAVARES, S.G., KIYAN,C. Avaliação da qualidade nutricional da proteína da farinha de Tempeh, produto fermentado, obtido a partir da soja. **Alim. Nutr.** São Paulo. n. 13, p.23-33, 2002.

TAYLOR, C. G.; BRAY, T. M. Effect of hiperoxia on oxigen free radical efense enzymes in lung of zinc deficient rats. **J. Nutr**., v.121, p.460-466, 1991.

TEODÓSIO NR, LAGO ES, ROMANI AS, GUEDES RCA. A regional basic diet from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion** n.;40, v.4: 533-47.1990.

TEUTÔNICO, R.A.; KNORR, D. Amaranth: composition, properties and applications of rediscovered food crop. **Food Technol**., Chicago, v.10, n.5, p.49-60, 1985.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-USP **Manual de Normas Técnicas**. Biotério de Experimentação Animal Departamento de Microbiologia Instituto de Ciências Biomédicas 2004.

URSO, M.L.; CLARKSON, P.M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. **Toxicology**.v.189,p.41-54.2003

VALADARES, C.T. **Efeitos da desnutrição protéica pós natal no desempenho de ratos em diferentes tarefas de aprendizagem**. São Paulo, 2006. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

VILELA MC, MENDONÇA JE, BITTENCOURT H, LAPA RM *et al*. Differential vulnerability of the rat retina, suprachiasmatic nucleus and intergeniculate leaflet to malnutrition induced during brain development. **Brain Res Bull**;.15; 64(5): 395-408. 2005.

VISIOLI, F.; KEANEY JR., J. F.; HALLIWELL, B. Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep? **Cardiovasc. Res**., *47*, 409. 2000.

WHO /FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Incorporating Nutrition: **Considerations into Development Policies and Programmers Brief for Policies- makers and Programme**. Planneres in developing countries nutrition Planning, assessment and evaluation service food and nutrition division food and agriculture arganization of the united nations. 2004. Disponível em: http://ftp.fao.org/docrep/fao/007/v5343e/y5343e00.pdf. Acessado em 20 de março de 2010.

WHO /FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Eradicating World hunger- Key to achieving the Millennium Development Goals The State of Food Insecurity in the word**, Rome, 2005. Disponível em: http://ftp.fao.org/docrep/fao/008/a0200 e/a0200e06.pdf. Acessado em 20 de março de 2010.

WILLIAMS, R.S, CHASMAN, D.I, HAU, D.D, HUI, B, LAU, A.Y, GLOVER, J.N. Detection of protein folding defects caused by BRCA1-BRCT truncation and missense mutations..J Biol Chem. v.;278,n.52:p.53007-16. 2003.

WINTERGERST ES, MAGGINI S, HORNIG DH. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. **Ann Nutr Metab**. v.51: p.301-23, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO)- **Organization Nutrition for Health and Development a Global agenda for combating malnutrition**, 2000. Disponível em: http://whglibdoc.who.inthg/2000/WHD. 006.pdf. Acessado em 20 de março de 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) – **Desenvolvimento sustentável e saúde ambiental,** 2010. All rights reserved. Capítulo 3. Disponível em: <www.paho. org/hia/archivosvol1/>. Acesso: 20 mar. 2010.

YOUNG, C. M.; RASMUSSEN, K. M. Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. **Am J Clin Nutr**, v. 41, n. 5, p. 979-87, 1985.

YU, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol. Rev**., v.74, p. 139-162, 1994.