

Efeito da pectina e celulose nos níveis de somatomedina C e síntese de proteoglicano no músculo e cartilagem de ratos

Julio Tirapegui¹, Gloria Silva², Kristine Bruscatto³, Ana Paula Silvatti³, Solange Tomoe Osuka³

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, Brasil

RESUMO. A suplementação de 15% de pectina na dieta causa diminuição do crescimento, porém o mecanismo desse processo não está ainda estabelecido. Concentração plasmática de somatomedina C ou insulin-like growth factor-I (IGF-I) e síntese de proteoglicano no músculo e na cartilagem foram comparados em ratos em crescimento alimentados com dietas de 8,5% de proteína e teores de 7,5 e 15% de celulose e pectina, respectivamente. No experimento 1 (G1-G6) foi usada celulose como fonte de fibra e no experimento 2 (G7-G11) pectina. Uma acentuada redução no peso, ingestão de alimento e crescimento do músculo e do osso foram observado no grupo alimentado com pectina 15%. A concentração plasmática de somatomedina C correlacionou com a síntese de proteína e de proteoglicano no osso no grupo alimentado com pectina 15%. No entanto, nos grupos alimentados com celulose a maioria dos parâmetro analisados não foram alterados, com exceção dos grupos alimentados com a mistura de arroz e feijão (grupos G5 e G6). Nosso estudo sugere que a suplementação de pectina na dieta prejudicou o crescimento devido a menor ingestão de alimento, reduzida resposta anabólica com menor síntese de proteína e de proteoglicano refletindo uma menor ação e secreção da somatomedina C.

Palavras chave: Somatomedina C, pectina, proteoglicano, ratos.

SUMMARY. Effect of pectin and cellulose on insulin-like growth factor (IGF-I) levels and proteoglycan synthesis rate in muscle and rat cartilage. The inclusion of 15% pectin in a diet causes growth retardation in rats, but the mechanism for the impaired growth has not been established. Serum concentration of IGF-I and proteoglycan synthesis rate on muscle and the tibial epiphysis, an estimate of biological response to IGF-I in a target tissue, were compared in weaning rat fed with 8,5% protein and levels of 7,5 and 15% of pectin and cellulose, respectively. In experiment 1 (G1-G6) was used cellulose as source of fiber and in experiment 2 (G7-G11) pectin. A marked reduction in weight, muscle and bone growth was observed for the groups fed on 15% pectin. Plasma IGF-I concentration correlated with both protein and tibial proteoglycan synthesis rate in the group with 15% pectin diet. However, in the group fed with cellulose the most of the parameters were well maintained, with exception the group fed with beans and rice (G5 e G6). Our study suggest that the inclusion of pectin in a experimental diet impairs growth by a combination of reduced food intake, a reduced anabolic response to food due to a reduced protein and proteoglycan synthesis possibly reflecting impaired IGF-I action and secretion.

Key words: Pectin, proteoglycan, rat cartilage.

INTRODUÇÃO

Conforme foi verificado por Waterlow e cols. (1), existem vários fatores que condicionam o crescimento do indivíduo. Entre estes a relação proteína/calorias totais, energia, vitaminas, minerais e fibra, desempenham um papel muito importante no aproveitamento da dieta e conseqüentemente no crescimento corporal.

Considera-se fração «fibra da dieta», o conjunto de componentes dos alimentos vegetais que resistem a hidrólise pelas enzimas endógenas do tubo digestivo. Tais componentes incluem a celulose, a lignina, as hemiceluloses, pectinas, gomas, mucilagens e ceras. Pequenos teores de proteínas, lipídeos e glicídeos normalmente digeríveis, as vezes não o

são, aumentando o valor energético do volume excretado (2). O interesse pela fração não absorvível do alimento surgiu de observações clínicas que relacionaram a ocorrência de certas moléstias ao tipo de dieta pobre em fibra natural de produtos vegetais. Assim Burkitt (3) apresentou relação dessas moléstias típicas de coletividade desenvolvidas entre as quais se destacam: hipertensão arterial, obesidade, colite ulcerativa, diverticulite, câncer do intestino grosso, além de síndromes isquêmicas miocárdicas, colesterolemia e artrite reumatóide.

As ações prováveis da fibra, que vêm sendo mais discutida na literatura, são aquelas que dizem respeito ao aproveitamento biológico dos minerais, glicose e colesterol (2,4,5). Entretanto a relação proteína e fibra na dieta tem sido pouco abordada, apesar de ser fato conhecido que altos teores de fibra da dieta limitam o aproveitamento da proteína (2,6). Sabe-se que o consumo elevado de fibra aumenta o volume do bolo fecal. O aumento deste conteúdo pode derivar de material não digerível, secreção endógena ou de nutrientes da dieta que não foram degradados e absorvidos. O nitrogênio nas fezes foi

1. Professor Associado.
2. Aluna de Pós-Graduação.
3. Aluna de Graduação.

primeiramente associado com a massa de bactérias e células descarnadas, entretanto, evidências experimentais sugerem que em dietas ricas em fibra a origem deste nitrogênio pode ser endógeno ou dietético. Estudos «in vitro» têm sugerido que várias fontes de fibra podem interagir com as enzimas digestivas, reduzindo sua atividade e consequentemente interferindo negativamente no processo de digestão das proteínas (7).

Alguns autores (8) tem estudado a relações da proteína e fibra da dieta no crescimento em crianças. Os principais parâmetros utilizados foram, peso ao nascimento, ferro, vitamina B₁₂ e raquitismo. Considerando-se os níveis de proteína e o tipo e quantidade de fibra na dieta, os autores sugerem que dietas com altas quantidades de fibra são prejudiciais para crianças em fase de crescimento.

Foi demonstrado que, modificações na dieta de ratos podem causar alterações permanentes quando impostas durante períodos críticos de crescimento, como é o caso da última fase do desenvolvimento intra-uterino, período de lactação e pós desmame. A probabilidade de lesão permanente será tanto maior quanto mais precoce for a deficiência nutricional (9). Como o organismo não possui reservas de proteínas, há necessidade de um suprimento exógeno de nitrogênio e aminoácidos essenciais. Os aminoácidos dentre os vários tipos de nutrientes, desempenham papel fundamental na fisiologia e crescimento celular (1).

Há uma relação direta entre o crescimento ósseo e muscular, evidenciada pelo fato de que o comprimento do osso é o determinante primário da massa muscular corporal em todas as espécies. Desta forma, no adulto, quando o crescimento do osso cessa, o crescimento do músculo é mínimo. Tem sido sugerido que o estiramento muscular por efeito do crescimento ósseo ao qual o músculo está unido, é um pré requisito para o crescimento do músculo e determina o crescimento coordenado destes dois tecidos (10).

Além dos fatores nutricionais, o crescimento normal depende, também, de uma regulação coordenada de fatores hormonais. Evidências acumuladas nos últimos anos sugerem que muitas das influências hormonais no crescimento são reguladas pela família das somatomedinas (11). A ingestão de energia e de proteína em níveis adequados são fatores de grande importância na regulação dos níveis da somatomedina C e, consequentemente, do crescimento muscular e ósseo em humanos e animais em crescimento. Em ratos em crescimento, a redução da ingestão de proteínas e caloria originam uma queda imediata dos níveis plasmáticos da somatomedina C (9). Esses autores observaram uma correlação significativa entre o teor de proteína da dieta e os níveis de somatomedina C. A atividade da somatomedina C é determinada pela incorporação de sulfato radioativo nas moléculas de proteoglicano. Maior incorporação de sulfato no proteoglicano, significa maior concentração plasmática de somatomedina C. Estudos recentes (12) têm assinalado que os níveis de somatomedina C plasmática representam um parâmetro bastante sensível na detecção de deficiência protéico-calórica em

humanos e os seus valores se correlacionam significativamente com as determinações de balanço nitrogenado. Além disso, estes valores aumentam rapidamente em decorrência da recuperação nutricional ou realimentação em humanos desnutridos.

A importância das somatomedinas em geral e da somatomedina C, em particular, já se encontra parcialmente estabelecida. Entretanto a maior parte das pesquisas mencionadas na literatura, restringem-se ao enfoque da relação da somatomedina, crescimento e energia da dieta. No entanto, esta complexa interação, indubitavelmente, está também sob a influência da interação, proteína e fibra da dieta.

As populações economicamente menos favorecidas, nos países em desenvolvimento consomem grandes quantidades de fibra e níveis marginais de proteínas de fonte vegetal reconhecidamente de qualidade inferior. Neste estudo reproduzimos em animais de laboratório situações observadas frequentemente em populações de baixa renda, tais como, insuficiente ingestão protéica associada a teores aumentados de fibra na dieta. Utilizamos também um grupo alimentado com proteínas de cereais e leguminosas (arroz-feijão) que constituem a base da alimentação da população brasileira. Afirma-se que 69% do total protéico consumido pela população do Brasil é de origem vegetal (13). Dependendo da região, a proporção da relação arroz-feijão, varia, sendo as de 47:53 ou de 82:18 as mais comuns. Os estudos realizados por De Angelis e cols. (13) revelaram que a proporção 77:23 deu os melhores resultados em diferentes parâmetros de avaliação nutricional em ratos em crescimento quando comparados ao grupo controle, motivo pelo qual foi a proporção escolhida para o nosso experimento.

O objetivo deste trabalho foi determinar a influência da fração fibra da dieta na regulação do crescimento em altura. Este estudo foi realizado em ratos em crescimento até 30 dias após desmame submetidos a graus variáveis de proteína e tipo e quantidade de fibra da dieta.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais de experiência e dietas: Foram utilizados ratos machos «Wistar» recém desmamados com peso médio de 45 + 2g, provenientes do Biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

Foram preparadas 3 dietas experimentais com teores de 20, 8,5 e 8,5% de proteína respectivamente. A dieta 1 foi constituída de caseína 20% e a dieta 2 foi de caseína 8,5%. A dieta 3 foi a base da mistura arroz-feijão na proporção de 3:1 (8,5% de proteína). Cada dieta foi dividida em duas partes recebendo percentagens de fibra de 7,5 e 15% respectivamente (Tabela 1).

As misturas de sais e vitaminas foram feitas de acordo com as recomendações da AIN 93 (16). O teor calórico de todas as dietas foi aproximadamente de 400 Kcal/100 g.

TABELA 1
Composição das dietas experimentais

Componentes (g/100g)	G1	G2	G3	G4	G5	G6
Caseína ¹	20	20	8,5	8,5	-	-
Mistura arroz/feijão ²	-	-	-	-	8,5	8,5
Fibra ³	7,5	1	5	7,5	15	- 15
Mistura salina	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Mistura vitamínica	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sacarose	10	10	10	10	10	10
Bitartrato de colina	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Óleo de soja	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Amido	62,5	55,0	62,0	54,5	8,2	-
DL metionina	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1

1. Caseína contendo 85% de pureza
2. O valor da Tabela é o valor correspondente à percentagem de proteína da mistura arroz-feijão.
3. Fibra insolúvel: celulose, G1 a G6. Fibra solúvel: pectina, G7 a G11

Procedimento experimental. Este trabalho foi composto de dois experimentos com duração de 30 dias cada. No primeiro, determinou-se os efeitos dos diferentes níveis de proteína e fibra insolúvel da dieta sobre o desenvolvimento corporal total, do músculo gastrocnêmio e do osso. No segundo experimento foram utilizados os mesmos teores proteicos do primeiro, porém o tipo de fibra foi a pectina, que é fibra solúvel

Os ratos recém desmamados foram divididos em 6 grupos experimentais (grupos G1 a G6). O grupo 1 e 2 (controles) foram alimentados com dieta de caseína 20% com teores de fibra de 7,5% e 15%. O grupo 3 e 4 receberam caseína 8,5% e teores de fibra de 7,5% e 15%. O grupo 5 e 6 receberam mistura arroz-feijão na proporção 3:1 com teor protéico de 8,5% e teores de fibra de 7,5 e 15%. Na primeira parte do estudo foi utilizada fibra insolúvel (celulose) e na segunda, (grupos G7 a G11) fibra solúvel que é a pectina (Tabela 2).

Os animais foram pesados no desmame e mantidos com as dietas experimentais por 30 dias, sendo pesados a cada 4 dias e sacrificados aos 51 dias de idade.

Todos os animais foram sacrificados entre 08:00 e 11:00 horas. O sangue, o músculo gastrocnêmio e a tibia de ambas as pernas foram retiradas e armazenadas em freezer a -20°C para determinações bioquímicas posteriores.

Metodos analíticos. As diferentes rações foram analisadas quanto ao teor de cada componente segundo os métodos descritos pela AOAC. A fração fibra foi determinada pelo método enzimático, segundo APS e cols. (14), onde analisaram as frações solúveis e insolúveis. O crescimento da tibia foi determinado em milímetro manualmente com paquímetro (Norma).

As dosagens dos ácidos ribonucléico (RNA) e proteína em homogeneizado de cartilagem e músculo e as proteínas

plasmáticas foram realizados segundo os métodos descritos previamente (9).

A atividade da somatomedina C ou síntese de proteoglicano na cartilagem da epífise da tibia e no músculo gastrocnêmio foi determinada pelo método descrito por Yahya e cols. (15). O método consiste em determinar a incorporação de sulfato radiativo nos tecidos (cpm/100 mg tec.). Esta incorporação é estimulada pela somatomedina C.

A determinação de somatomedina C plasmática foi realizada por radioimunoensaio (RIA) segundo técnica descrita previamente (9). Foi utilizado um kit de RIA fornecido pela Amersham (UK).

Os valores dos diversos parâmetros estudados foram submetidos à análise de variância e posteriormente pelo teste de Duncan. O nível de rejeição da hipótese de nulidade adotada foi de 5%.

TABELA 2
Grupos experimentais com fibra insolúvel (celulose) e solúvel (pectina). Duração dos experimentos 30 dias

Grupos (N)a		Tratamento dietético
Grupo 1 (G1)	caseína	20% + 7,5% celulose
Grupo 2 (G2)	caseína	20% + 15% celulose
Grupo 3 (G3)	caseína	8,5% + 7,5% celulose
Grupo 4 (G4)	caseína	8,5% + 15% celulose
Grupo 5 (G5)	arroz/feijão	8,5% + 7,5% celulose
Grupo 6 (G6)	arroz/feijão	8,5% + 15% celulose
Grupo 7 (G7)	caseína	20% + 7,5% pectina
Grupo 8 (G8)	caseína	20% + 15% pectina
Grupo 9 (G9)	caseína	8,5% + 7,5% pectina
Grupo 10 (G10)	caseína	8,5% + 15% pectina
Grupo 11 (G11)	arroz/feijão	8,5% + 15% pectina

- a: oito ratos por grupo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois experimentos determinou-se a influência da somatomedina C plasmática no crescimento do tecido muscular e ósseo. Este foi avaliado pelo aumento da massa protéica e de proteoglicano nos tecidos assinalados. Foi determinado também a proteína plasmática, parâmetro indicativo do estado nutricional dos animais de experimentação.

Em ambos experimentos foram estudados os efeitos da fibra em ratos alimentados com a mistura arroz-feijão na proporção 3:1, como é realmente consumido pela população brasileira.

Analisando as tabelas 3 e 4 podemos observar que os ratos alimentados com pectina apresentaram o menor ganho de peso durante todo o período experimental. Os grupos alimentados com pectina 15% (grupos G10 e G11) apresentaram menos de 50% do ganho de peso quando comparado ao grupo controle.

TABELA 3

Peso corporal inicial, final, variação do peso, consumo de proteínas e de ração total nos ratos alimentados com ração contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	Peso Corporal (g)		Ganho de peso (g)	Consumo total (g) ração	Consumo total (g) protéico
		Inicial	Final			
G1	8	49 (3)	189 (22)	150 (23)	403 (44)	71,8 (7,8)
G2	7	49 (4)	186 (21)	145 (22)	425 (61)	71,5 (7,4) _{bd}
G3	8	49 (3)	182 (13)	133 (14)	424 (32)	29,2 (2,2) _{bd}
G4	7	51 (4)	188 (11) _a	146 (9) _a	460 (43)	33,8 (3,2) _{bd}
G5	8	49 (2)	152 (11) _a	129 (10) _a	414 (44) _c	41,4 (4,4) _{bd}
G6	7	50 (2)	151 (12) _a	113 (16) _a	381 (61) _c	34,3 (5,5) _{bd}

N. número de determinações

- a. significativamente diferente dos grupos G1, G2 e G4 (P<0.05).
 b. significativamente diferente dos grupos G1, G2 e G5 (P<0.05).
 c. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05).
 d. significativamente diferente do grupo G5. (P<0.05).

TABELA 4

Peso corporal inicial, final, variação do peso corporal, consumo de proteína e de ração total nos ratos alimentados com ração contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	Peso Corporal (g)		Ganho de peso (g)	Consumo total (g) ração	Consumo total (g) protéico
		Inicial	Final			
G7	8	52 (3)	194 (17)	143 (16)	377 (30)	60,1 (4,8)
G8	7	52 (3)	158 (11) _b	109 (11) _b	312 (26) _c	55,2 (4,7) _f
G9	6	50 (2)	145 (14) _b	102 (6) _b	353 (35)	30,6 (3,0) _d
G10	8	50 (2)	113 (5) _a	63 (6) _a	300 (24) _c	23,4 (1,9) _e
G11	8	52 (3)	127 (7) _a	67 (8) _a	313 (34) _c	29,5 (3,2) _d

N. número de determinações

- a. significativamente diferente de G7, G8 e G9 (P<0.05)
 b. significativamente diferente de G1 (P<0.05)
 c. significativamente diferente de G7 e G9 (P<0.05).
 d. significativamente diferente de G7, G8 e G10 (P<0.05).
 e. significativamente diferente de G9 e G11 (P<0.05).
 f. significativamente diferente de G7 (P<0.05).

Em nosso experimento os teores de fibra foram 7,5 e 15%, sem dúvida, maiores que os recomendados pela literatura para o crescimento de ratos. Devemos salientar no entanto, que estes teores foram escolhidos devido ao fato de que a mistura arroz-feijão na proporção 3:1, após determinação da fração, apresentou o valor de 7,5%. Em relação a concentração de proteína da mistura arroz-feijão, os valores encontrados foram de 8,5%. Este teor protéico pode ser considerado como marginal no rato em crescimento, ocasionando deficiência protéica moderada.

Uma das características mais importantes da deficiência protéica em ratos na fase de crescimento é o retardo desse

crescimento, verificado pela redução de peso corporal. Este menor ritmo não foi observado nos ratos alimentados com caseína 8,5% mais celulose. Somente os grupos alimentados com a mistura arroz-feijão apresentaram diferenças significativas neste parâmetro. Estas observações vão de encontro com a literatura (9) onde, outros autores registraram resultados semelhantes em ratos alimentados com caseína 7,5% mais 5% de celulose. Com relação aos grupos alimentados com fibra solúvel pectina, as diferenças observadas no peso corporal final foram acentuadas e diretamente proporcional ao consumo da ração total. Houve diferenças significativas no peso corporal dos animais alimentados com o mesmo teor protéico porém, com diferente concentração de pectina. A medida que aumentava a fibra na dieta diminuiu o peso corporal total. Estes resultados sugerem que a fibra solúvel prejudicou o crescimento do animal de forma mais intensa que a celulose.

A deficiência protéica moderada na dieta é geralmente acompanhada por reduzida ingestão de alimento. Isto foi confirmado no segundo experimento, nos ratos alimentados com pectina. A diminuição do apetite no grupo 10 e 11 seria responsável por uma redução no fornecimento das principais fontes calóricas do organismo como, lípidos e glicídeos, além de proteínas. Esta situação, segundo alguns autores (17) poderia representar um mecanismo de defesa do qual se valeria o organismo animal, com o objetivo de atenuar os efeitos da deficiência protéica. Em nosso experimento com pectina o consumo da ração foi menor a medida que aumentava a concentração de fibra solúvel na dieta.

O peso médio do músculo gastrocnêmio e da cartilagem e o comprimento da tibia, dos ratos com tratamento dietético de celulose e pectina, são apresentados nas tabelas 5 e 6, respectivamente. No primeiro experimento, os ratos alimentados com dietas contendo a mistura arroz-feijão + 15% celulose, foram os que apresentaram os menores valores nos três parâmetros analisados, (peso do músculo gastrocnêmio, da cartilagem e comprimento da tibia), demonstrando a semelhança do peso corporal que esta dieta não induz um crescimento corporal e de tecidos semelhante ao grupo controle com o mesmo teor protéico e de fibra (grupos G3 e G6). No segundo, ratos alimentados com dietas contendo pectina, os menores valores apresentados foram os do grupo 10, alimentados com caseína 8,5% + 15% de pectina pura. Com relação ao peso do músculo e do comprimento da tibia, no grupo 11, podemos observar que estes dois parâmetros apresentaram-se significativamente maiores do que os valores do grupo 10. Entretanto, é necessário salientar que a ração do grupo 10 apresentava reais 15% de pectina, enquanto que a ração do grupo 11 foi acrescida apenas de 7,5% de pectina, pois a mistura arroz-feijão já apresentava 7,5% de fibra total, considerando a solúvel e a insolúvel. Os parâmetros plasmáticos analisados nos dois experimentos são apresentados nas tabelas 5 e 6. Quanto a proteína total verificamos que o grupo G6 alimentado com a mistura arroz-feijão 8,5% + 15% celulose apresentou os menores valores deste parâmetro. Não houve diferenças

significativas quando foram comparados os grupos G1-G2 e G3-G4, demonstrando mais uma vez que o aumento da fibra no grupo 6 prejudicou o metabolismo de proteína no fígado.

TABELA 5

Peso médio do músculo gastrocnêmio e da cartilagem da epífise da tibia, comprimento total da tibia, proteína total e somatomedina C plasmática dos ratos alimentados com dietas contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	Peso médio(mg) músculo	cartilagem	Comprimento tibia (mm)	Proteína total (g/100ml)	Somatomedina C (ng/ml)
G1	16	822 (80)	84 (9)	33,76 (0,80)	8,05 (0,76)	1146 (240)
G2	16	826 (63)	83 (8)	33,36 (0,48)	7,89 (0,74)	1100 (241)
G3	16	783 (59)	79 (5)	33,26 (0,40)	7,50 (0,38)	886 (183)
G4	16	781 (71)	84 (6)	33,66 (0,61)	8,04 (0,84)	1099 (125)
G5	16	726 (83)	71 (7) ^b	32,64 (0,68) ^d	7,29 (0,65)	855 (312) ^g
G6	16	651 (80) ^a	76 (9) ^b	30,19 (0,64) ^c	6,57 (0,50) ^e	184 (36) ^f

N. número de determinações

- a. significativamente diferente a todos os outros grupos (P<0.05)
 b. significativamente diferente dos grupos G1, G2 e G4 (P<0.05)
 c. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 d. significativamente diferente dos grupos G1, G2, G3, G4 e G6 (P<0.05)
 e. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 f. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 g. significativamente diferente de G1, G2 e G4 (P<0.05)

TABELA 6

Peso médio do músculo gastrocnêmio e da cartilagem da epífise da tibia, comprimento total da tibia, proteína total e somatomedina C plasmática dos ratos alimentados com dietas contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão).

Grupos	N	Peso médio(mg) músculo	cartilagem	Comprimento tibia (mm)	Proteína total (g/100ml)	Somatomedina C (ng/ml)
G7	16	829 (74)	87(9)	33,89(0,83)	7,38(0,41) ^d	1023(250)
G8	16	615 (59) ^a	70 (5) ^a	32,09(0,29) ^a	6,45(0,49)	332(103) ^f
G9	16	549 (53)	72 (8)	31,41(1,00)	6,33(0,78)	200(57) ^f
G10	16	417 (26) ^h	52 (3) ^g	29,29(0,47) ^h	6,00(0,24)	65(8) ^g
G11	16	454 (62)	56 (5)	30,58(0,84)	6,25(0,61)	68(9)

N. número de determinações

- a. significativamente diferente de G7, G9, G10 e G11 (P<0.05)
 b. significativamente diferente de G7, G8, G9 e G11 (P<0.05)
 c. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 d. significativamente diferente de todos os outros grupos (P<0.05)
 e. significativamente diferente de G7, G8 e G9 (P<0.05)
 f. significativamente diferente de G7, G10 e G11

A menor oferta de aminoácidos no fígado constitui fator limitante na manutenção das proteínas plasmáticas e albumina em níveis normais, especialmente quanto aos aminoácidos de cadeia ramificada (18). Estes resultados estão de acordo com

os dados de outros autores (9) que não encontraram diferenças significativas quando foram comparadas a albumina e proteína total plasmáticas de ratos submetidos a dietas de caseína 7,5% com o grupo controle, 20%. Em geral a proteína total e a uréia são bem conservadas em condições de deficiência protéica-energética moderada.

Com relação ao segundo experimento, nos ratos alimentados com dieta contendo pectina, verificamos que os grupos G8, G9, G10 e G11 apresentaram diferenças significativas quando comparadas com o grupo controle, demonstrando o efeito mais acentuado da pectina em relação a celulose neste parâmetro.

Quanto a somatomedina C plasmático (tabelas 5 e 6) foram observadas diferenças acentuadas nos seus valores, entre os diferentes grupos. Tanto nos ratos de dietas com celulose quanto nos ratos com dietas com pectina. A semelhança dos outros parâmetros analisados a concentração plasmática deste hormônio dos grupos do segundo experimento com pectina apresentaram os menores valores que nos grupos 10 e 11 corresponderam a 7% dos valores encontrado no grupo G7 controle.

Este estudo confirma resultados de outros autores (19,20,21) que observaram uma correlação altamente significativa entre a somatomedina C, peso corporal e comprimento da tibia. Yahya e cols (22) verificaram também uma correlação altamente positiva entre somatomedina C e outras variáveis (proteína, energia e insulina plasmática) em ratos previamente alimentados com dietas de caseína 0,5% e realimentados com dietas de caseína de 3%, 6%, 9%, 12% e 20%. Segundo estes autores, a proteína da dieta apresentou a maior correlação com a somatomedina C (P<0.001) e a variável energia, também, mostrou influência significativa (P<0.01).

A qualidade da proteína é um fator que deve ser considerado no estudo da concentração de somatomedina C plasmático. Miura e cols (23) observaram que os níveis plasmáticos em ratos alimentados com proteína de soja estavam diminuídos quando comparados com o grupo controle, alimentado com caseína. Foi comprovado também por esses autores, uma diminuição do m RNA para somatomedina C em ratos alimentados com proteína de glúten, comprovadamente deficiente em alguns aminoácidos essenciais. Estes resultados demonstraram que o conteúdo do m RNA para somatomedina C é regulado não só pela quantidade mas também, pela qualidade da proteína.

Em nosso experimento, possivelmente houve influência no grupo G5 e G6 tanto da quantidade de fibra presente na dieta, especialmente no grupo 6 (15% de celulose) quanto da qualidade protéica da mistura arroz-feijão. Os valores encontrados para somatomedina C no grupo 6 corresponderam a 16% de valor encontrado no grupo controle G1.

Referente a interação fibra e somatomedina C a literatura científica nos oferece pouca informação. Nunes e Malmlof, (24) em porcos alimentados com dieta com celulose e goma quar comprovaram que só os animais alimentados com goma

quar tiveram uma menor produção de somatomedina C. Quando os porcos ingeriram celulose não houve diferenças significativas na síntese de somatomedina em relação ao grupo controle. Não encontramos na literatura dados sobre a ingestão de pectina e os níveis plasmáticos de somatomedina C. Fora dos fatores nutricionais, a concentração de somatomedina plasmática, depende de fatores hormonais. Dados de outros autores (25) sugerem que a insulina é de fundamental importância na síntese de somatomedina c. Assim por exemplo, em ratos diabéticos por efeito da estreptozotocina foram encontrados valores de somatomedina C drasticamente reduzidas. Tirapegui (26) recentemente comprovou uma relação direta entre os níveis de somatomedina c e insulina em ratos em crescimentos submetidos a graus variáveis de energia e proteína da dieta. Outros autores (27) também comprovaram que animais desnutridos ou tratados com corticosterona, apresentaram uma acentuada diminuição das concentrações de insulina e somatomedina C plasmática, como também diminuição do comprimento e da variação do comprimento da tibia, sugerindo que houve uma inibição da ação e da síntese de somatomedina C.

A síntese de proteoglicano e a concentração do RNA no músculo gastrocnêmio dos ratos dos dois experimentos são apresentado nas tabelas 7 e 8. Analisando os dados da síntese de proteoglicano podemos constatar nos animais alimentados com arroz-feijão 8,5% + celulose 15% (G6) no primeiro experimento e nos ratos com caseína 8,5% + 15% pectina (G10) e arroz-feijão 8,5% + 15% pectina (G11) do segundo, apresentaram menores valores significativamente em relação aos seus grupos controles G1 e G7, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os valores de somatomedina C plasmática analisados anteriormente. No grupo G11 com pectina 15% o valor encontrado correspondeu a 55% de valor controle G7 demonstrando mais uma vez o efeito negativo de altos teores de fibra no crescimento. Os valores da concentração de RNA seguem a mesma tendência.

Com relação ao metabolismo de proteína no músculo, o aumento da massa muscular é determinada pelo balanço entre a síntese e a degradação de proteína. Trabalhos de vários autores (1,10,15,28) enfocaram os aspectos endocrinológicos e nutricionais neste processo, com especial enfoque ao papel da insulina, corticosterona, hormônio da tireóide, de crescimento e somatomedina C. Sem dúvida uma análise completa deste processo é impossível no presente estudo, devido ao fato de não ter realizado a determinação dos outros hormônios impossibilitando conseqüentemente uma discussão mais aprimorada dos resultados obtidos.

TABELA 7

RNA, proteína e síntese de proteoglicano no músculo gastrocnêmio de ratos alimentados com dietas contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	RNA ($\mu\text{g}/100\text{mg}$)	Proteína ($\text{mg}/100\text{mg}$)	Proteoglicano (cpm/100mg tec.)
G1	6	167 (8)	18 (3)	1332 (200)
G2	7	140 (8)	17 (3)	1313 (221)
G3	8	153 (12)	16 (3)	1394 (180)
G4	6	108 (8) ^a	12 (1) ^b	1562 (200)
G5	6	123 (11) ^a	10 (2) ^b	1452 (200)
G6	6	110 (12)	10 (2) ^b	983 (140) ^c

N. número de determinações

- a. significativamente diferente de G1, G2, G3 e G6 ($P < 0.05$).
- b. significativamente diferente de G1, G2 e G3 ($P < 0.05$).
- c. significativamente diferente dos outros grupos ($p < 0.05$).

TABELA 8

RNA, proteína e síntese de proteoglicano no músculo gastrocnêmio dos ratos alimentados com dietas contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão).

Grupos	N	RNA ($\mu\text{g}/100\text{mg}$)	Proteína ($\text{mg}/100\text{mg}$)	Proteoglicano (cpm/100mg tec.)
G7	7	126 (8)	17 (4)	1442 (150)
G8	6	152 (12)	16 (3)	1390 (140)
G9	7	145 (9)	16 (2)	1285 (123)
G10	8	128 (5) ^a	11 (3) ^b	637 (90) ^c
G11	8	119 (8) ^a	10 (2) ^b	696 (81) ^c

N. número de determinações

- a. significativamente diferente dos grupos G8 e G9 ($P < 0.05$).
- b. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 ($P < 0.05$).
- c. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 ($p < 0.05$).

Os resultados dos parametros analisados na cartilagem da epifise da tibia são apresentados nas tabelas 9 e 10. Os dados obtidos, seguem a tendência geral das outras variáveis estudadas. Com relação a síntese de proteoglicano os ratos alimentados com dieta com pectina apresentaram as maiores alterações quando comparados entre si. Houve diferenças significativas entre os diferentes grupos tanto pela quantidade de proteína quanto pela fibra. O grupo arroz-feijão 8,5% + 15% de pectina (G11) apresentou o valor correspondente a 23% de síntese de proteoglicano dos animais do grupo controle G7. Estas diferenças foram menos intensas que as concentrações de somatomedina C plasmática obtidas nos mesmos grupos e apresentadas na tabela 6.

TABELA 9

RNA, proteína e síntese de proteoglicano na cartilagem de ratos alimentados com dietas contendo celulose. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	RNA ($\mu\text{g}/100\text{mg}$)	Proteína ($\text{mg}/100\text{mg}$)	Proteoglicano ($\text{cpm}/100\text{mg tec.}$)
G1	7	245 (38)	8,23 (1,09)	2552 (250)
G2	6	229 (44)	8,25 (0,69)	2584 (255)
G3	7	238 (28)	8,12 (0,12)	2696 (270)
G4	7	236 (47)	7,27 (1,03)	2720 (250)
G5	7	194 (18)a	5,76 (1,21)b	2551 (200)
G6	7	176 (35)a	5,62 (0,88)b	1520 (130)c

N. número de determinações.

a. significativamente diferente dos grupos G1, G2, G3 e G4 ($P < 0.05$).

b. significativamente diferente dos grupos G1, G2, G3 e G4 ($P < 0.05$).

c. significativamente diferente dos outros grupos ($p < 0.05$).

TABELA 10

RNA, proteína e síntese de proteoglicano na cartilagem dos ratos alimentados com dietas contendo pectina. Valores expressos em média (desvio padrão)

Grupos	N	RNA ($\mu\text{g}/100\text{mg}$)	Proteína ($\text{mg}/100\text{mg}$)	Proteoglicano ($\text{cpm}/100\text{mg tec.}$)
G7	6	245 (29)	7,81 (0,30)	2550 (145)
G8	8	284 (32)	7,68 (0,95)	2000 (120)e
G9	7	234 (45)	7,74 (0,75)	1400 (150)d
G10	7	177 (42)a	6,68 (0,30)b	750 (90)c
G11	7	171 (40)a	6,44 (0,23)b	600 (75)c

N. número de determinações

a. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 ($P < 0.05$).

b. significativamente diferente dos grupos G7, G8 e G9 ($P < 0.05$).

c. significativamente diferente dos grupos G7, G8, e G9 ($p < 0.05$).

d. significativamente diferente dos grupos G7 e G8 ($p < 0.05$).

e. significativamente diferente de G7 ($p < 0.05$).

As concentrações de RNA e proteína dos grupos G5 e G6 da mistura arroz-feijão + celulose apresentaram os menores valores quando comparados aos outros grupos experimentais e essa tendência foi mantida neste mesmo grupo porém quando a fibra da dieta foi a pectina.

Estes resultados comprovam que a mistura arroz-feijão acrescida da fibra tanto nas concentrações 7,5 e 15% não promovem um crescimento normal semelhante aos animais do grupo controle. Possivelmente outros fatores podem estar interferindo no aproveitamento dos nutrientes neste tecido. Estes resultados estão de acordo com os dados apresentados por Martines e cols (29). Estes autores também observaram em ratos, uma correlação positiva nos valores da concentração de proteína obtida no tecido ósseo e a concentração plasmática

de somatomedina C. Os menores valores foram obtidos nos ratos alimentados com proteína de origem vegetal com teores de 13%, quando comparados com o grupo controle, caseína. Possivelmente, fatores antinutricionais presentes nos legumes utilizadas, foram os responsáveis pelo menor aproveitamento da proteína de origem vegetal e consequentemente, do menor crescimento do tecido ósseo. Yahya e cols (15,30) também observaram níveis reduzidos dos conteúdos de proteína, atividade do RNA e das concentrações de RNA na cartilagem da epífise da tibia, em ratos submetidos a dietas hipoproteicas acentuadas por 3 semanas. Segundo estes autores a análise da correlação parcial das diferentes variáveis estudadas sugere a somatomedina C óssea regula especificamente os mecanismos de síntese protéica e de proteoglicano da cartilagem. No músculo, entretanto, a síntese protéica seria regulada principalmente pela ação da insulina.

Devemos salientar, que ao contrário da insulina, a somatomedina C é transportada no sangue unida a proteínas transportadoras ou Binding proteins (IGF-BPs). A função específica dos BPs ainda não está esclarecida, no entanto, já se sabe que uma de suas funções é regular a ação da somatomedina nas células alvos (14,31). A literatura nos relata que ratos alimentados com dietas hipoproteicas, apresentam uma inibição da incorporação de sulfato no proteoglicano e de leucina marcada na proteína devido a ação dos inibidores da somatomedina C no tecido ósseo. Além disso, em condições de deficiência protéica, aumentam a concentração do IGF-B1-1. O IGF-BP-1, pode competir com a somatomedina C ao nível dos receptores na superfície das células inibindo a ação deste hormônio e consequentemente, o crescimento (31). Podemos especular que o aumento da fibra na dieta, especialmente a pectina pode alterar as concentrações dos Binding proteins ou aumentar os inibidores da somatomedina presente no plasma, alterando consequentemente a ligação hormônio-receptor da célula alvo e diminuindo o crescimento ósseo, do músculo e finalmente o crescimento corporal total. No entanto, isto é somente uma hipótese e necessita ser provada.

Pelos resultados apresentados neste estudo podemos sugerir que o aumento do teor da fibra na dieta, especialmente a fibra solúvel pectina, teve um efeito negativo em relação ao crescimento. O mecanismo de ação desta relação entre fibra e crescimento do tecido muscular e ósseo permanece indefinido. Mas estudos são necessários para dirimir as dúvidas apresentadas entre a trinômio, fibra na dieta, somatomedina C e crescimento corporal durante as fases do desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPESP e CNPq pelas bolsas de estudos concedidas e pelo apoio financeiro e a Sra. Mônica Dealis Perussi pelo excelente trabalho secretarial.

REFERENCIAS

1. Waterlow JC, Garlick PJ, Millward DJ. Protein turnover in mammalian tissues and the whole body. Amsterdam. : Biomed. Press, Elsevier/North Holland, 1978.
2. Lajolo FM, Cozzi TMC, Menezes EW. Carboidratos e fibras. In: Carrazza F.R.; Maarcondes E. Nutrição clínica em pediatria. São Paulo : Sarvier, 1991; p.61-84.
3. Burkitt DP. Some diseases characteristic of modern Western civilization. *Br Med J* 1973; 1:274-276.
4. Eastwood MA. The physiological effect of dietary fiber: an update. *Ann Rev Nutr* 1992; 12:19-35.
5. Gibson RS. Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:1223S-1232S.
6. Larsen FM, Wilson MN, Moughan PJ. Dietary fiber viscosity and amino acid digestibility, proteolytic digestive enzyme activity and digestive organ weights in growing rats. *J Nutr* 1994;124:833-841.
7. Méndez MH, Derivi SC, Fernández ML, De Oliveira AM. Insoluble dietary fiber of grain food legumes and protein digestibility. *Arch Latinoamer Nutr* 1993; 43:66-72.
8. Sanders T, Sheela R. Vegetarian diets and children. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(suppl):1176S-1181S.
9. Tirapegui J, Baldi M, Ribeiro SML. Effect of protein deficiency on plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) level and protein and proteoglycan synthesis rates in skeletal muscle and bone. *Nutr Res* 1996;16:869-879.
10. Millward DJ. Protein turnover in cardiac and skeletal muscle during a normal growth and hipertrophy. In: Degradative processes in heart, and skeletal muscle. K. Wildenthal, ed. Amsterdam, 1980; p.161-199.
11. Tirapegui J, Fukushima SE, Grimaldi G. Consideraciones sobre crecimiento, somatomedina y nutrición. *Arch Latinoamer Nutr* 1993; 43:94-104.
12. Burgess EJ. Insulin-like growth factor-I: a valid nutritional indicator during parenteral feeding of patients suffering an acute phase response. *Ann Clin Biochem* 1992;29:137-144.
13. De Angelis RC, Elías LG, Bressani R. Mezclas de arroz y frijol II. Valor nutricional de las proteínas de las mezclas. *Arch. Latinoamer Nutr* 1982;32:47-63.
14. Asp NG, Johansson CG, Hallmer H, Siljeström M. Rapid enzymatic assay of insoluble and soluble dietary fiber. *J. Agric Food Chem* 1983; 31:476-482.
15. Yahya ZAH, Bates PC, Millward DJ. Response to protein deficiency of plasma and tissue insulin-like growth factor-I levels and proteoglycan synthesis rate in rat skeletal muscle and bone. *Endocrinol J* 1990;127:497-503.
16. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diet. *J Nutr* 1993;123:1939-1951.
17. De Angelis RC, Takahashi N, Amaral LA, Terra IC. Imbalanced protein and appetite. *Arq Gastroenterol.* 1978; 15:194-198.
18. Young VR, Marchini JS, Cortiella J. Assessment of protein nutritional status. *J Nutr* 1990; 120:1496-1502.
19. Prewitt TE, D'Ercole AJ, Switzer BR, Vav Wik JJ. Relationship of serum immunoreactive somatomedin C dietary protein and energy in growing rats. *J Nutr* 1982;112:144-150.
20. Soliman AT, Hassan AI, Aref MK, Hintz RL, Rosenfeld RG, Rogol AD. Serum insulin-like growth factor-I e II concentrations and growth hormone and insulin responses to arginine infusion in children with protein-energy malnutrition before and after nutrition rehabilitation. *Pediatr Res* 1986; 20:1122-1130.
21. Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrine Rev* 1994;15:80-101.
22. Yahya ZAH, Tirapegui J, Bates PC, Millward DJ. Influence of dietary protein, energy and corticosterone on protein turnover, proteoglycan sulphation and growth of long bone and skeletal muscle in the rat. *Clin Sci* 1994; 87: 607-618.
23. Miura Y, Kato H, Noguchi T. Effect of dietary proteins on insulin-like growth factor-I (IGF-I) messenger ribonucleic acid content in rat liver. *Br J Nutr* 1992; 62:257-265.
24. Nunes CS, Malmlof K. Effects of guar gum and cellulose on glucose absorption hormonal release and hepatic metabolism in the pig. *Br J Nutr* 1992; 63:693-700.
25. Goldstein S, Unterman TG, Phillips LS. Nutrition and somatomedin. XV. Growth plate, growth factor and biological active somatomedins in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Ann Nutr Metabol* 1987; 31:367-377.
26. Tirapegui J. Efeito da somatomedina C no crescimento do músculo e do osso. Estudo em ratos submetidos a graus variáveis de energia e proteína da dieta. São Paulo, 1995. (Tese de Livre-Docência, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - Brasil).
27. Tirapegui J, Yahya ZAH, Bates PC, Millward DJ. Effect of corticosterone and energy restriction on IGF-I levels, cartilage matrix synthesis on bone growth in the rat. *Proc Nutr Soc* 1987;46:94A.
28. Millward DJ. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. *Aquaculture* 1989;79:1-28.
29. Martínez JA, Marcos R, Macarulla MT, Larralde J. Effect of pea intake on bone protein synthesis and immunoreactive IGF. *Proc Nutr Soc* 1993; 52:139A.
30. Yahya ZAH, Bates PC, Tirapegui J, Morel D, Buchanan C, Milleard DJ. IGF-I concentration in protein deficiency rat plasma and tissue in relation to proteoglycan synthesis rate. *Biochem Soc Trans* 1988;16:624-625.
31. Sara VR, Hall K. Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol Rev* 1990;70: 591-613.

Recibido: 10-10-1996

Aceptado: 13-10-1997