

**DNA Y PROTEINAS EN EL HIGADO DE RATAS
ALIMENTADAS CON MAIZ: IMPORTANCIA DE EXPRESAR
LA CONCENTRACION DE PROTEINAS HEPATICAS EN
FUNCION DEL DNA**

*Percy Noriega Ponce,¹ María Bernal Osorio¹ y
Fredy Zegarra Aragón²*

**Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad Nacional de
San Agustín, Arequipa, Perú**

RESUMEN

Se estudiaron las variaciones en el contenido de DNA y proteínas en el hígado de dos grupos de ratas: el primero, en el que fueron alimentadas con maíz común (dieta I) y el segundo grupo, que consumió una dieta a base de almidón de maíz (maicena), "chuño" (papa deshidratada), azúcar y grasa (dieta II). Los resultados obtenidos fueron comparados con los de un tercer grupo de ratas control, alimentadas con una dieta balanceada y adecuada en proteínas. Las dietas fueron administradas *ad libitum* a partir del destete, por un período de 90 días.

Se observó un aumento en el contenido de DNA por g de hígado, en los animales alimentados con las dietas I y II. La concentración de proteínas hepáticas se expresa en tres formas: como mg de proteína por g de hígado,

Manuscrito modificado recibido: 23-7-81.

- 1 Profesor Asociado de Bioquímica, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad Nacional de San Agustín, Casilla 1365, Arequipa, Perú.
- 2 Ayudante de Bioquímica del Departamento de Ciencias Fisiológicas de la citada Universidad.

como mg de proteína por mg de DNA, y como mg de proteína en el peso total del hígado. Los animales alimentados con la dieta II, acusaron una disminución de las proteínas hepáticas con las tres formas de expresión de los resultados. En cambio, en el grupo de ratas alimentadas con maíz (dieta I), la expresión de los resultados como mg de proteína por g de hígado fracasó en revelar disminución de las proteínas hepáticas, pero sí destacó un descenso de las proteínas con las otras dos formas de expresión de los resultados, encontrándose que es más confiable la expresión como mg de proteína por mg de DNA.

Se destaca, por lo tanto, la importancia de expresar los resultados de las proteínas hepáticas en función del DNA, y se demuestra la utilidad de esta forma para revelar su disminución en el grupo de ratas alimentadas con maíz.

INTRODUCCION

Desde hace tiempo se sabe que la ingestión de dietas de bajo contenido en proteínas produce un descenso de las proteínas hepáticas (1-5). Esto se ha encontrado no sólo cuando se ingiere dietas exentas de proteínas, sino también con dietas bajas en proteínas de diferentes fuentes alimenticias. En muchos casos, sin embargo, para demostrar el descenso de las proteínas hepáticas, éstas deben expresarse como cantidad de proteínas en el hígado total, puesto que cuando se les expresa como proteínas por g de hígado, se requiere un período de tiempo relativamente largo de ingestión de la dieta o bien emplear dietas con restricción proteínica sumamente grande (4, 6).

Williams (5), basándose en que el contenido de DNA de un tejido u órgano debe permanecer relativamente constante, comprobó lo señalado por Campbell y Kosterlitz (7), o sea que es mucho mejor expresar el contenido de proteínas del hígado en relación al DNA hepático. Con ello, la disminución de las proteínas hepáticas al administrar dietas pobres en proteínas se hace demostrativa y, a la vez, constituye un índice aproximado de la cantidad de proteínas por célula.

A pesar de lo señalado, pensamos que no se ha dado la debida importancia a los hallazgos en cuestión, y en la mayoría de trabajos se continúa expresando la concentración de proteínas hepáticas por g de hígado o en base al peso de hígado total.

El maíz es una fuente alimenticia muy utilizada en Latinoamérica y, por ende, gran parte de la población peruana también lo usa como constituyente de su dieta diaria. Por consiguiente, tiene

mucha importancia en nuestro medio conocer sus efectos en la composición y metabolismo corporal, cuando se ingiere habitualmente; de ahí nuestro interés en conocer dichos efectos. En el presente estudio se examinan así los efectos de la ingestión de maíz sobre el contenido de proteínas y DNA en el hígado de ratas. Se corrobora lo señalado anteriormente, esto es, la importancia de expresar el contenido de proteínas en función del DNA hepático para determinar el descenso de las proteínas producida por el maíz en este órgano.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron dos grupos de ratas albinas de ambos sexos de la raza Wistar, de 30 días de nacidas, con un peso promedio alrededor de 46 g. Estas fueron destetadas y alojadas en jaulas metálicas, sujetándose a una de las siguientes dietas. Dieta I: constituida de maíz común peruano de la variedad conocida como cabanita, administrado en forma de granos, y Dieta II: a base de almidón de maíz (maicena), 500 g; "chufío" (papa deshidratada), 80 g; azúcar, 125 g y grasa (manteca vegetal) 75 g. Con los constituyentes de esta dieta se hizo una masa acuosa, la cual, después de ponerla al homo para que adquiriera mayor consistencia, se suministró a las ratas.

A un tercer grupo de ratas, que sirvió como grupo control, se le dio una preparación comercial balanceada (proporcionada por la Sociedad Industrial del Sur, Arequipa, Perú), la cual contenía 160/o de proteína.

El contenido proteínico de las dietas I y II era de 8 y 30/o, respectivamente, calculado en base a la determinación del N de dichas dietas por el método de Kjeldahl.

Todas las dietas fueron administradas *ad libitum* y el consumo de alimento y peso corporal se controlaron a intervalos regulares durante el tiempo de administración de las dietas.

Para la preparación del homogenizado de hígado, las ratas fueron sacrificadas por decapitación dejando que perdieran sangre por algunos segundos. Luego se retiró y pesó el hígado de cada rata, tomándose 0.5 g del mismo para su homogenización, la cual fue realizada de manera estandarizada sobre hielo, con un homogenizador tipo Potter, durante un minuto. Para la homogenización se utilizó agua bidestilada helada, siendo el volumen total del homogenizado de 10 ml.

Inmediatamente después de ser destetadas se sacrificó un total de 10 ratas y las determinaciones hechas en ellas fueron consideradas como valores a tiempo cero (basal). Luego, cinco ratas de cada uno de los tres grupos señalados fueron sacrificadas en cada uno de los siguientes tiempos: 9, 15, 30, 60 y 90 días después de iniciadas las dietas respectivas, para las consiguientes determinaciones.

Las proteínas hepáticas en las ratas fueron determinadas utilizando el método de Lowry (8), modificado por Miller (9), usando un ml de una dilución de 1/2000 del homogenizado de hígado. Se empleó albúmina cristalizada de bovino "Sigma" como estándar.

Para la determinación de DNA se siguió el método de Giles y Myers (10), previo tratamiento de 5 ml del homogenizado original del hígado con el procedimiento de Fleck y Begg (11); para la obtención del DNA solubilizado en ácido perclórico 1 N, se utilizó DNA sal de sodio tipo I, "Sigma" obtenida de timo, como estándar. El color formado mediante la reacción del DNA con difenilamina se midió a 595 y 700 nm.

RESULTADOS

Las ratas alimentadas con la dieta control citada mostraron un buen crecimiento a través de todo el período experimental, hecho que se dedujo de su adecuado aumento de peso corporal (Tabla 1). Por el contrario, las ratas alimentadas con maíz (dieta I), mostraron una menor ganancia del peso corporal, lo que revela una disminución en su crecimiento; durante los primeros 30 días casi no hubo ganancia de peso, pero sí después de los 30 días, aunque no a la tasa observada en los controles. La falta de ganancia de peso corporal fue todavía más acentuada en las ratas sometidas a la dieta que contenía maicena, "chuño", azúcar y grasa (dieta II), en las que el peso se mantuvo estacionario durante el transcurso del experimento y con tendencia a disminuir (Tabla 1).

Las variaciones en el peso corporal mencionadas arriba, en los animales alimentados con las dietas I y II, se acompañaron de alteraciones en el mismo sentido en el peso del hígado, puesto que, como se puede apreciar en la misma Tabla 1, parece haber una estrecha correlación entre el peso corporal y el peso del hígado. Así, las ratas alimentadas con la dieta I, que mostraron un aumento moderado en el peso corporal, también tuvieron un aumento moderado en el peso del hígado, en comparación con las ratas

TABLA 1

**PESO CORPORAL Y PESO DEL HIGADO EN RELACION AL TIEMPO
TRANSCURRIDO DE CONSUMO DE LA DIETA, EN RATAS CONTROL
Y EN LAS ALIMENTADAS CON DIETAS BAJAS EN PROTEINAS**

Dieta	Días después de la dieta	Peso corporal g	Peso del hígado g
Control	0	43 ± 3*	1.57 ± 0.14
	8	53 ± 6	1.86 ± 0.25
	15	58 ± 3	2.16 ± 0.09
	30	87 ± 7	3.33 ± 0.26
	60	131 ± 9	4.32 ± 0.29
	90	173 ± 21	5.15 ± 0.41
Dieta I	8	47 ± 3	1.49 ± 0.17
	15	47 ± 1	1.55 ± 0.05
	30	48 ± 3	1.64 ± 0.10
	60	65 ± 4	2.48 ± 0.16
	90	78 ± 5	2.71 ± 0.12
Dieta II	8	32 ± 3	1.15 ± 0.07
	15	30 ± 2	1.05 ± 0.04
	30	30 ± 3	1.02 ± 0.10
	60	29 ± 2	1.02 ± 0.09
	90	28 ± 2	1.00 ± 0.06

* Media ± error estándar.

control. En cambio, las ratas alimentadas con la dieta II, que mostraron un peso corporal estacionario durante los 90 días de consumo de la dieta, tuvieron prácticamente el mismo peso del hígado durante ese tiempo.

Además de las alteraciones en el peso corporal y peso del hígado, las ratas que recibieron la dieta II también mostraron alteraciones dermatológicas, tales como piel lustrosa, reseca y descamada, y disminución y caída del pelo. En ningún momento se observaron signos de edema entre las alteraciones ocasionadas por estos

dos tipos de dieta.

El DNA del hígado, calculado en mg/g de hígado, permaneció sin ninguna variación en las ratas control durante todo el tiempo de consumo de la dieta, como se muestra en la Figura 1. En cambio, en las alimentadas con maíz (dieta I), se encuentran concentraciones mayores que en los controles, siendo dicho aumento bastante notorio a partir de los 30 días de consumo de la dieta, con una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.01$). Los animales alimentados con la dieta II mostraron un ostensible aumento de la concentración de DNA hepático a partir del 8o día de consumo de la dieta, muy por encima de los valores control ($P < 0.001$), aumentando más conforme transcurría el tiempo de consumo de la dieta (Figura 1).

En la misma Figura también se muestra que cuando las proteínas hepáticas se calculan en mg por g de hígado, éstas prácticamente permanecen en el mismo nivel en las ratas control. En las ratas alimentadas con maíz (dieta I), no se observa disminución en la concentración de proteínas, mientras que en las alimentadas con la dieta II hay cierta tendencia a la disminución (diferencia estadísticamente significativa a un valor de $P < 0.05$ al 8o día de dieta), pero que no se acentúa durante todo el resto del período experimental.

Como se aprecia en la Figura 1, en los animales alimentados con la dieta II existen tendencias opuestas en cuanto al contenido de proteínas y DNA. Mientras que las proteínas tienden a disminuir, el DNA aumenta marcadamente. Es diferente lo que sucede en los animales alimentados con maíz, ya que en ellos el DNA aumenta, aunque en menor grado que en las ratas alimentadas con la dieta II, pero los niveles de proteína no difieren en mucho de los valores encontrados en las ratas control.

Queda claramente demostrado, entonces, que en los animales alimentados con maíz (dieta I), no hay disminución de las proteínas hepáticas si éstas se expresan como concentración en mg de proteína por g de hígado y, en cambio, sí se demuestra disminución al expresar esa concentración de proteínas hepáticas en mg por mg de DNA o mg de proteínas en el peso total del hígado. En este caso, las ratas alimentadas con maíz presentan una disminución de las proteínas hepáticas, la cual es estadísticamente significativa ($P < 0.001$), a partir de los 30 días de la ingestión de la dieta, cuando los resultados se expresan en función del DNA, y a partir de los 15 días si se calculan en función del peso total del hígado (véase Tabla 2).

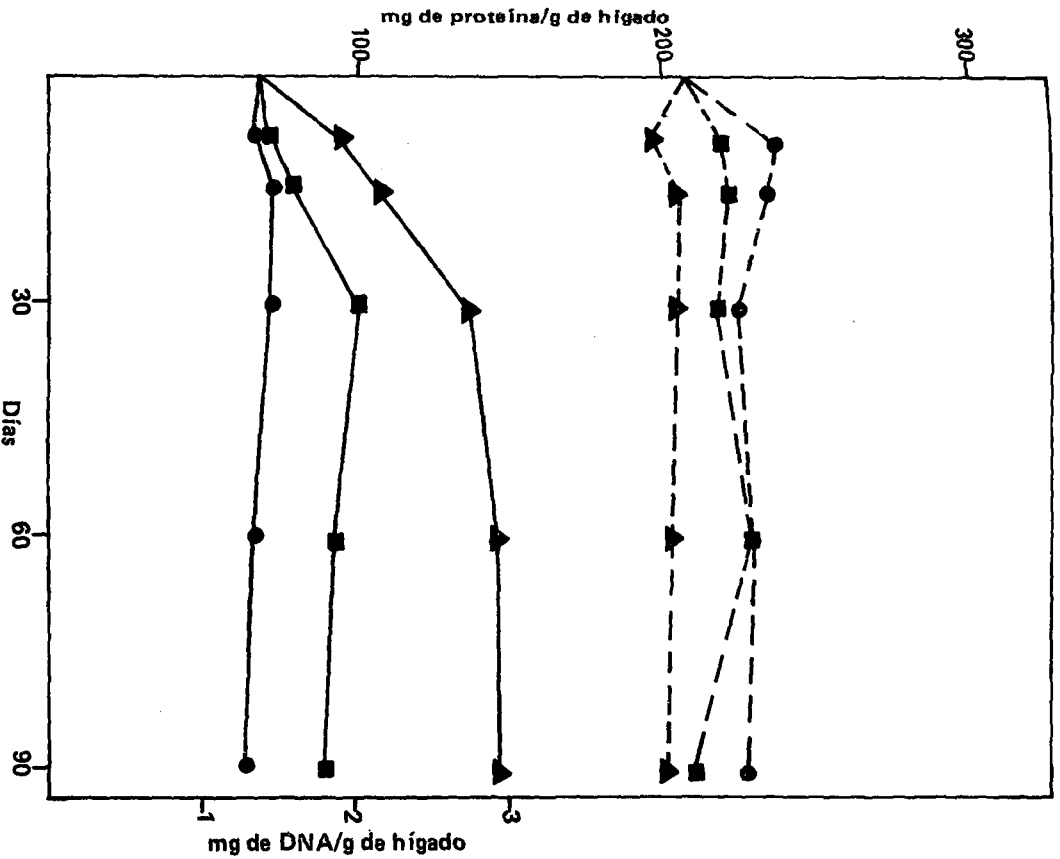


FIGURA 1

Efecto de las dietas sobre los niveles de proteínas y DNA en el hígado de ratas. Los niveles se expresan en mg por g de peso húmedo. (La línea continua representa los niveles de DNA, la línea discontinua los niveles de proteínas).

● = Control. ■ = Dieta I. ▲ = Dieta II.

TABLA 2

**PROTEINAS HEPATICAS EXPRESADAS EN FUNCION DEL DNA Y
DEL PESO HEPATICO TOTAL EN RATAS CONTROL Y EN LAS
ALIMENTADAS CON DIETAS BAJAS EN PROTEINAS**

Dieta	Días en la dieta	Proteínas hepáticas (prot/mg de DNA)	Proteínas hepáticas (mg de prot/peso hepático total)
Control	0	155.5 ± 6.3*	325 ± 33
	8	178.1 ± 10.2	430 ± 38
	15	158.5 ± 7.6	503 ± 20
	30	158.8 ± 18.3	748 ± 84
	60	170.4 ± 4.8	982 ± 58
	90	170.4 ± 3.8	1,172 ± 106
Dieta I	8	160.9 ± 6.1	326 ± 38
	15	147.3 ± 16.2	344 ± 18
	30	110.8 ± 11.7	361 ± 40
	60	123.4 ± 5.2	565 ± 41
	90	116.3 ± 4.3	571 ± 24
Dieta II	8	103.2 ± 8.8	226 ± 14
	15	93.6 ± 4.6	217 ± 12
	30	75.1 ± 4.2	209 ± 20
	60	69.6 ± 2.8	212 ± 30
	90	68.4 ± 4.3	204 ± 17

* Media ± error estándar.

Las ratas alimentadas con la dieta II muestran disminución de las proteínas hepáticas, estadísticamente significativa ($P < 0.001$), a partir de los 30 días de ingestión de la dieta, si los resultados se expresan como mg de proteína por g de hígado, como ya se ha indicado, y a partir de los 8 días de ingesta de la dieta si los resultados se expresan como mg de proteína por mg de DNA o como mg de proteína/peso hepático total (véase Tabla 2).

DISCUSION

Es bien conocido el hecho de que la deficiencia de proteínas en la dieta induce una disminución del crecimiento, tanto en animales como en seres humanos. Los hallazgos aquí señalados indican cierta alteración en el crecimiento de las ratas alimentadas, tanto con la dieta I como con la dieta II, siendo más afectado en los animales alimentados con la segunda, como lo revela su falta de ganancia de peso. Este resultado es muy similar al encontrado por Campos y Madi (12, 13), usando dietas bastante semejantes a la dieta II, pero que no contenían "chuño".

La ganancia de peso moderada que se observó en los animales alimentados con la dieta I, a base de maíz, y la ausencia de ganancia de peso en los animales que ingirieron la dieta II puede explicarse por la mayor cantidad de proteína (80/o) que contiene la dieta I, comparada con la dieta II (30/o). En ambas dietas la deficiencia proteínica se tradujo en deficiencia de los aminoácidos esenciales lisina y triptofano, lo que condujo a retardo en el crecimiento y a pérdida de peso (14-16).

Las dietas de bajo contenido proteínico administradas *ad libitum* usualmente producen un descenso en la ingestión de alimentos (3, 17, 18), hecho que también se notó en este trabajo con los dos tipos de dieta, de manera que éste es otro factor que incide en la baja de peso observada con dichas dietas. Debe aclararse, sin embargo, que está bien demostrado que las dietas bajas en proteína administradas *ad libitum* producen cambios ultraestructurales y bioquímicos diferentes a los encontrados en la inanición (17, 19).

La falta de ganancia de peso inicial durante los primeros 30 días que se observó en los animales alimentados con maíz (dieta I), también fue apreciada en nuestros laboratorios por Zegarra (20), en ratones alimentados con maíz. Es posible que esta falta de ganancia de peso inicial pueda deberse a una disminución del apetito notada en dichos animales durante ese período. Ello se explica por el proceso de adaptación del animal a la nueva dieta que se administrara, con la consiguiente reanudación de ganancia de peso del animal, aunque no en la misma tasa que en los controles, debido a la baja calidad y cantidad de proteínas del maíz.

Los resultados obtenidos por nosotros en lo referente a la concentración de DNA en el hígado, expresados en mg por g de hígado, indican un aparente aumento del DNA durante los primeros 30 días de alimentación con las dietas experimentales, aumento que fue mucho mayor en los animales alimentados con la dieta

II. Resultados similares han sido encontrados por Mendes y Waterlow (21), por Svaboda, Grady y Higginson (17), y por Enwonwu y Sreebny (3), en ratas alimentadas con dietas bajas en proteína. Ya que se ha comprobado que en el ayuno o en la deficiencia proteínica no hay muerte celular sino reducción en el tamaño de las células hepáticas (3, 17, 22-24), fenómeno que se debe a la pérdida de algunos componentes citoplasmáticos, entre ellos proteínas, el aumento de DNA por g de hígado encontrado en el presente estudio es una confirmación adicional de la disminución en el tamaño celular que ocurre cuando se ingieren dietas pobres en proteína. Este hallazgo indica, además, que existe un aumento en el número de células por g de hígado en los animales alimentados con los dos tipos de dieta.

Después de los 30 días, el aparente aumento de DNA por g de hígado se hace menor, o incluso se estabiliza con los dos tipos de dieta. Esto puede indicar que la reducción en el tamaño celular ha llegado al máximo o que hay un aparente equilibrio entre los factores que pueden causar aumento o disminución del tamaño de las células hepáticas, considerando que el DNA por célula se mantiene constante en el animal adulto o que aumenta muy poco en la rata en crecimiento (7, 21, 22, 25).

Dado que las dietas pobres en proteínas producen un descenso de las proteínas hepáticas (1, 5) y considerando que la deficiencia de aminoácidos esenciales también produce el mismo efecto (14, 16), es de esperar que las dietas I y II produzcan una baja de las proteínas hepáticas. Es probable que a estos dos factores se deba principalmente el descenso de proteínas en el hígado observado con dichas dietas. Otros factores como vitaminas y sales minerales también pueden jugar cierto papel, pero indudablemente muy secundario. Esto fue comprobado por nosotros (resultados no mostrados), puesto que el agregado de una mezcla de sales minerales y vitaminas hidro y liposolubles a las dietas empleadas en el presente estudio no alteró los resultados obtenidos.

La disminución en las proteínas hepáticas fue observada ostensiblemente en los animales que ingirieron la dieta II, al usar cualquiera de las tres formas de expresión de los resultados. Sin embargo, si los resultados se expresan como mg de proteínas por g de hígado, se podría concluir que la dieta a base de maíz (dieta I), a pesar de ser pobre en proteínas y deficiente en lisina y triptofano, no produce alteración en las proteínas hepáticas. Un hallazgo semejante fue descrito por Bressani, Elías y Gómez-Brenes (26), en ratas que consumieron maíz corriente por 28 días, y por Zega-

rra (20), en ratones alimentados con maíz durante períodos de 12 y 40 días. Sin embargo, cuando se examinan los resultados expresados como mg de proteína por mg de DNA, o como mg de proteína en el peso total del hígado, se aprecia claramente que la dieta de maíz induce una disminución de las proteínas hepáticas.

Como ya hemos visto, el aumento del contenido de DNA por g de hígado producido en las ratas alimentadas con maíz, indica un mayor número de células por g de hígado, por lo que la expresión de la concentración de proteínas por g de hígado evidentemente no es la más adecuada. Por otro lado, si bien encontramos que la expresión de la concentración de proteínas en el peso total del hígado revela una disminución de las proteínas hepáticas en las ratas alimentadas con maíz, un poco más precozmente que cuando se expresa la concentración de proteínas en función del DNA, dicha expresión está determinada por el peso total del hígado, el que a su vez está influenciado por varios factores, lo que hace dudar de la confiabilidad de esta forma de expresar los resultados. Si como hemos indicado más arriba, el DNA por célula se mantiene constante en el animal adulto o aumenta muy poco en la rata en crecimiento, lo que hemos confirmado por la falta de variación del contenido de DNA por g de hígado en nuestros animales control, es posible concluir que la expresión de la concentración de las proteínas hepáticas como mg de proteína por mg de DNA es la más adecuada y, en ciertos casos, —como en el presente trabajo— es sumamente útil para revelar disminución de las proteínas hepáticas. Debemos indicar, además, que así como la expresión de la actividad de una enzima en unidades por mg de DNA es una medida de la actividad de dicha enzima por célula (27, 28), igualmente puede ser aplicable el hecho de que la expresión de la concentración de proteínas en función del DNA sea una indicación aproximada de la cantidad de proteínas por célula.

SUMMARY

DNA AND PROTEINS IN THE LIVER OF RATS FED ON CORN. THE IMPORTANCE OF EXPRESSING LIVER PROTEIN CONCENTRATIONS AS A FUNCTION OF DNA

Variations in liver DNA and protein content were studied in rats fed common corn (diet I) and in another group of rats fed a diet made of corn starch ("maicena"), "chuño" (dried potato), sugar and fat (diet II). The

results were compared with those from a control group fed a balanced diet with adequate protein. Diets were administered after weaning, for a period of 90 days. Animals on diets I and II showed an increase in the DNA concentrations per g of liver. Liver protein concentration was expressed in three forms: as mg of protein per g of liver, mg of protein per mg of DNA and mg of protein in the total liver weight. Animals raised on diet II had a decrease in liver protein, which was evident regardless of the way of expressing the results. On the other hand, in rats raised on corn (diet I), the results expressed as mg of protein per g of liver did not show a decrease in liver proteins, while the other two ways of expressing the results demonstrated a decrease in liver protein. It seems that the most trustworthy way to express liver protein concentration is as mg of protein per mg of DNA. The importance of expressing the results of liver protein concentrations as a function of DNA is emphasized and its usefulness demonstrated and discussed.

BIBLIOGRAFIA

1. Addis, T., L. J. Poo & W. Lew. The rate of protein formation in the organs and tissues of the body. *J. Biol. Chem.*, **116**: 343-352, 1936.
2. Allison, J. B. & R. W. Wannemacher. The concept and significance of labile and over-all protein reserves of the body. *Am. J. Clin. Nutr.*, **16**: 445-452, 1965.
3. Enwonwu, C. O. & L. M. Sreebny. Experimental protein-calorie malnutrition in rats: Biochemical and ultrastructural studies. *Exp. Mol. Pathol.*, **12**: 332-353, 1970.
4. Kosterlitz, H. W. The effect of changes in dietary protein on the composition and structure of liver cell. *J. Physiol.*, **106**: 194-210, 1947.
5. Williams, J. N. Jr. Response of the liver to prolonged protein depletion. I. Liver weight nitrogen and deoxyribonucleic acid. *J. Nutr.*, **75**: 199-209, 1961.
6. Warter, J., P. Metais & M. Keckhut. Transaminases, aldolase et deshydrogénases du sérum du foie et du coeur au cours du jeuns protidique chez le rat. *Compt Rend. Soc. Bio.*, **155**: 108-111, 1961.
7. Campbell, R. M. & H. W. Kosterlitz. The effect of dietary protein on the turnover of phospholipids, ribonucleic acid and desoxyribonucleic acid in the liver. *J. Biol. Chem.*, **175**: 989-990, 1948.
8. Lowry, O. H., J. J. Rosebrough, A. L. Farr & R. J. Randall. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275, 1971.

9. Miller, G.L. Protein determination for large numbers of samples. *Anal. Chem.*, **31**: 964, 1959.
10. Giles, K. W. & A. Myers. An improved method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*, **206**: 93, 1965.
11. Fleck, H. & D. Begg. The estimation of ribonucleic acid using ultra-violet absorption measurements. *Biochem. Biophys. Acta.*, **108**: 333-339, 1965.
12. Campos, S. D. & K. Madi. Estudos sobre desnutrição pre e pós-natal em ratos albinos. Parcial recuperação poderal e bioquímica. *Rev. Bras. Pesq. Med. e Biol.*, **8**: 301-306, 1975.
13. Madi, K. & S. D. Campos. Desnutrição experimental: resultados anátomo-patológicos e bioquímicos da administração de dietas hipoproteicas a ratos albinos jovens. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **73**: 153-181, 1978.
14. Sidransky, H. Chemical pathology of nutritional deficiency induced by certain plant proteins. *J. Nutr.*, **71**: 387-395, 1960.
15. Sidransky, H. Nutritional disturbances of protein metabolism in the liver. *Am. J. Pathol.*, **84**: 649-667, 1976.
16. Harper, A.E., P. Leung, A. Yoshida & Q.R. Rogers. Some new thoughts on amino acid imbalance. *Fed. Proc.*, **23**: 1087-1092, 1964.
17. Svobada, D., H. Grady & J. Higginson. The effects of chronic protein deficiency in rats. II. Biochemical and ultrastructural changes. *Lab. Invest.*, **15**: 731-749, 1966.
18. Peng, Y. S., L. L. Meliza, M. G. Vavich & A. R. Kenmerer. Changes in food intake and nitrogen metabolism of rats while adapting to a low or high protein diet. *J. Nutr.*, **104**: 1008-1017, 1974.
19. Campana, O. A., C. R. Burini, Y. A. Outa & L. V. Camargo. Carencia proteica experimental em ratos adultos. *Rev. Bras. Pesq. Med. e Biol.*, **8**: 221-226, 1975.
20. Zegarra, A. H. F. Determinación de proteínas hepáticas, su aplicación en el estudio de los efectos de la dieta de maíz. Correlación y regresión de los métodos usados. Tesis de Bachiller. Programa de Biomédicas, Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa, Perú, 1977.
21. Mendes, C. B. & J. C. Waterlow. The effect of a low-protein diet and of refeeding on the composition of liver and muscle in the weaning rat. *Brit. J. Nutr.*, **12**: 74-88, 1958.
22. Thomson, R. Y., F. C. Heagy, W. C. Hutchinson & J. M. Davidson. DNA content of the rat cell nucleus and its use in expressing the results of tissue analysis with particular reference to the composition of liver tissue. *Biochem. J.*, **53**: 460-474, 1953.
23. Herdson, P., P. Garvin & R. Jennings. Fine structural changes produced in rat liver by partial starvation. *Am. J. Pathol.*, **45**: 157-181, 1964.
24. Young, V. R. & N. S. Scrimshaw. The physiology of starvation.

- Scientific Am.**, **225**: 14-21, 1971.
25. Enesco, M. & C. P. Leblond. Increase in cell number as a factor in the growth of the organs and tissues of the young male rat. **J. Embryol. Exp. Morpho.**, **10**: 530-563, 1962.
 26. Bressani, R., L. Elías & R. Gómez-Brenes. Protein quality of opaque-2 corn evaluation in rats. **J. Nutr.**, **97**: 173-180, 1969.
 27. Knox, W. E., V. H. Auerbach & E. C. Lin. Enzymatic and metabolic adaptation in animals. **Physiol. Revs.**, **36**: 164-254, 1956.
 28. Waterlow, J. C. Protein nutrition and enzyme changes in man. **Fed. Proc.**, **18**: 1143-1155, 1959.