
Propriedades glicostáticas em eritrócitos de ratos recuperados de desnutrição proteica

Glicostatic properties in rats erythrocyte of malnutrition protein of recovered

Bruno Ferreira Gonçalves e Silva¹, Alexandre Reis Taveira de Souza², Caio Biasi¹, Paulo Anselmo Nunes Felipe¹, Carlos Alberto da Silva²

¹Curso de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, Campinas-SP, Brasil; ²Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paulista, Campinas-SP, Brasil.

Resumo

Objetivo – Avaliar *in vivo* e *in vitro* a participação dos eritrócitos na regulação da glicemia, nas condições de desnutrição proteica e após recuperação nutricional. **Métodos** – Foi utilizado o micrométodo para determinação do glicogênio nos eritrócitos, além de metodologia de uso laboratório na avaliação da concentração de proteína totais e albumina, da glicemia e do conteúdo de glicogênio hepático, ainda foram avaliados parâmetros hematológicos representados pelo hematócrito e concentração de hemoglobina. Os dados foram comparados estatisticamente através de ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados** – A desnutrição comprometeu o ganho de massa dos animais, promoveu redução na concentração plasmática de proteína totais e albumina, além de promover redução dos parâmetros hematológicos induzindo anemia, e ainda promoveu redução na eficiência das funções glicostáticas eritrocitárias *in vivo* e *in vitro*. Após a recuperação nutricional, somente os parâmetros hematológicos foram recuperados, o peso e as propriedades glicostáticas dos eritrócitos não retornaram aos valores observados no grupo controle. **Conclusão** – As alterações nas propriedades glicostáticas dos eritrócitos geradas pela desnutrição não retornam a normalidade após a recuperação nutricional, uma possível explicação pode estar ligada a importância desta função nas fases embriológicas, e podem tornar-se secundária após a maturação dos principais sistemas reguladores da glicemia, acompanhando a hipótese do fenótipo poupador que privilegia sistemas já consolidados.

Descritores: Eritrócitos; Fenótipo; Glicemia; Desnutrição

Abstract

Objective – To evaluate *in vivo* and *in vitro* the participation of erythrocytes in the regulation of blood glucose in the protein malnutrition conditions and after nutritional recovery. **Methods** – We used the micromethod for determination of glycogen in erythrocytes, and laboratory use methodology in assessing the total protein concentration and albumin, glucose were evaluated hematological parameters represented as hematocrit and concentration of hemoglobin. The liver glycogen content was also evaluated. Data were compared with ANOVA and Tukey test ($p < 0.05$). **Results** – Malnutrition compromises mass gain of animals, promoted reduction in plasma concentration of total protein and albumin, and promote reduction of hematological parameters and induced anemia, and promoted reduction in the efficiency of glicostatic functions erythrocyte *in vivo* and *in vitro*. After nutritional recovery, only the hematological parameters were recovered, the weight and glicostatic properties of erythrocytes did not return to the values observed in the control group. **Conclusion** – Changes in glicostatic properties of erythrocytes generated by malnutrition, do not return to normal after nutritional recovery, a possible explanation may be linked to the importance of this function in the embryonic stages, and can become secondary after the maturation of the main regulators of blood glucose systems, following the hypothesis of the thrifty phenotype that should favor systems already consolidated.

Descriptors: Erythrocytes; Phenotype; Glucose; Malnutrition

Introdução

O controle glicêmico é controlado de forma multifatorial envolvendo diversos aspectos neurais e endócrinos. Neste aspecto, após a absorção da glicose ocorre a deposição desta sob a forma de glicogênio no fígado, que é um dos principais órgãos envolvidos na formação das reservas de glicose, assim, as reservas de glicogênio são prontamente mobilizadas de acordo com a necessidade¹. Na década de 80, foi sugerido que os eritrócitos têm a capacidade de absorver glicose e incorporá-la nos reservatórios de glicogênio na condição em que a glicemia se encontra elevada, e podem liberar a hexose concomitante a redução da glicemia^{2,4}.

Na análise das reservas glicogênicas dos eritrócitos, foi constatado que a taxa de incorporação de glicose foi de $0,04 \pm 0,01 \mu\text{mol. g Hb}^{-1} \cdot \text{h}$, em pH 7.6³. Neste contexto, tem sido descrito que a quantidade de glicose captada pelos eritrócitos supera em muito as suas necessidades

metabólicas⁵. Sob normoglicemia (5mM), os eritrócitos utilizam 1 a 2 $\mu\text{moles de glicose.ml/células.h}$ e a concentração citosólica de glicogênio equivale a doze mil vezes o requerido pelo seu metabolismo⁵⁻⁷. Como as reservas de glicogênio superam as necessidades metabólicas foi sugerido que contribuam de maneira importante para o controle glicêmico localmente durante a passagem pelo capilar⁶⁻⁷.

Estudos constataram, em ratos, uma diferença artério-venosa no conteúdo eritrocitário de glicogênio, e sugeriram distribuição de glicose aos tecidos, participando da regulação fina da glicemia localmente e promoveram que existe uma relação direta entre a captação de glicose pelos eritrócitos e a concentração de glicose no meio a que estão expostos, desta forma, o fígado, por ser a estação de captação da hexose^{2,8}.

Dentre os diferentes tipos de desnutrição, o tipo proteico merece destaque, uma vez que, os aminoácidos são de extrema importância na homeostasia de muitas

estruturas tais como, a formação de enzimas, anticorpos, hormônios, transporte de oxigênio, assim, a falta destes compostos promove consequências em todo o funcionamento do organismo⁹⁻¹⁰.

Cientistas tem relatado que reabilitação nutricional proteica pode desempenhar um importante papel na reversão dos efeitos causados pela desnutrição, porém, na literatura não há consenso se após uma reabilitação nutricional adequada ainda prevalece algumas consequências, tais como alterações estruturais celulares ou teciduais¹¹⁻¹².

O objetivo deste trabalho foi estudar “*in vivo*” e “*in vitro*” a capacidade dos eritrócitos de incorporar glicose ou mobilizá-la de seu depósito de glicogênio na condição controle, na desnutrição e na recuperação após desnutrição proteica.

Métodos

Foram utilizados ratos machos, albinos, Wistar com idade de 21 dias adquiridos na empresa ANILAB (Paulínia, SP), tratados com dieta específica sob condições ideais de bioterismo (água e dieta “*ad libitum*”, ciclo fotoperiódico de 12h claro/escuro, 23°C ± 2°C). Estudo aprovado pela CEUA/UNIMEP Protocolo Adendo 09/2014. Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais: Controle (tratado com dieta normoproteica, AIN 93M-14%, 90 dias), Desnutridos (tratado com dieta hipoproteica; AN-6%) durante 45 dias e Recuperados de Desnutrição (tratados com dieta hipoproteica (45 dias) e sequencialmente tratado com dieta normoproteica mais 45 dias). As dietas foram adquiridas da PragSoluções Ltda (Jaú, SP) manipuladas segundo normas da *American Nutrition* que determina as concentrações ideais referentes a cada condição experimental. Para avaliação da concentração de glicogênio dos eritrócitos, os animais foram anestesiados (pentobarbital sódico 40 mg/Kg, IP) e amostras de sangue foram coletadas da artéria (AF) e veia femoral (VF), veia porta-hepática (VP) e da veia cava inferior na sua porção supra-hepática (SH) sendo avaliado o conteúdo de glicogênio dos eritrócitos¹³. Na avaliação *in vitro* amostras de sangue foram coletadas na veia renal, centrifugadas sob refrigeração (3000rpm/15min) e os eritrócitos lavados com solução salina 0,9% de onde foi avaliada a concentração de hemoglobina (KIT de aplicação laboratorial) e a concentração de glicogênio.

Nas avaliações de carga (*in vitro*), os eritrócitos foram incubados em concentrações crescentes de glicose (37°C, 15min) e na avaliação de descarga, alíquotas de eritrócitos foram inicialmente incubados em solução contendo 240 mg/dL⁻¹ de glicose e sequencialmente reincubados em menores concentrações. Na avaliação da concentração de proteínas totais e albumina foi utilizado kit de aplicação laboratorial.

A seguir, amostras do fígado foram coletadas para avaliação do conteúdo de glicogênio¹⁴. A glicemia e os parâmetros hematológicos foram determinados por métodos de aplicação laboratorial. A análise estatística foi avaliada utilizando ANOVA seguido pelo teste de Tukey, (P<0,05). As relações entre o conteúdo eritrocitário de glicogênio e as variações da glicemia foram avaliadas através da correlação.

Tabela 1. Composição das dietas (g/Kg), atendendo a normativa da American Nutrition Association

Dieta AN 93 M – 14%		Dieta AN – 6% proteína (desnutrição)	
Ingredientes	p/1Kg	Ingredientes	p/1Kg
Amido de milho	465.700	Amido de milho	508.000
Caseína	140.000	Caseína	66.000
Amido dextrinizado	155.000	Amido dextrinizado	166.500
Sacarose	100.000	Sacarose	121.000
Óleo de soja	40.000	Óleo de soja	40.000
Fibra	50.000	Fibra	50.000
L-cistina	1.800	L-cistina	1.000
Cloreto colina	2.500	Cloreto colina	2.500
Mix mineral G	35.000	Mix mineral G	35.000
Mix vitamínico	10.000	Mix vitamínico	10.000
Total	1000.0	Total	1000.0

Resultados

A curva de ganho de massa mostrou que o grupo controle apresentou aumento no decorrer das semanas, enquanto, o grupo submetido a desnutrição proteica, não apresentou diferença na massa durante as 6 semanas apresentando menor massa, se comparado ao grupo controle. No grupo renutrido a partir da 7ª – 12ª semana, o ganho de massa foi retomado, porém, não atingiu os valores observados no grupo controle (Gráfico 1).

Avaliou-se também as concentrações plasmáticas de proteína total e albumina sendo verificado que os animais desnutridos apresentaram concentrações 47,5% e 37,5% menores, respectivamente, reiterando a implantação do quadro de desnutrição. Cabe ressaltar que, na recuperação nutricional, estes parâmetros retomaram valores similares ao controle (Tabela 2).

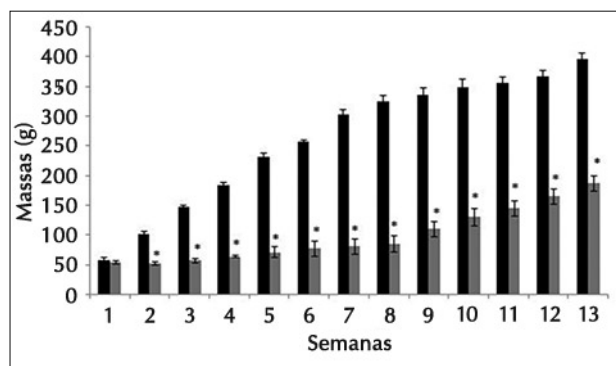


Gráfico 1. Massa (g) dos grupos controle (tratado com dieta normoproteica por 12 semanas, barras pretas); grupo desnutrido (tratado com dieta hipoproteica durante 6 semanas, barras cinza; 2ª – 7ª semana) e Renutrição (Período da 8ª até a 12ª semana onde foi oferecida dieta normoproteica. A primeira semana indica a massa dos animais quando os animais chegaram ao biotério com 21 dias. *P<0,05 comparado ao controle, n=8

Tabela 2. Concentração plasmática de Proteína Total (PT) e Albumina (A) (mg/100mg), nos diferentes grupos experimentais. Os valores correspondem a média \pm dp, n=8. * $p < 0,05$ comparado ao controle, # $p < 0,05$ comparado ao desnutrido

	PT (mg/100mg)	A (mg/100mg)
Controle	12,0 \pm 1,6	0,32 \pm 0,01
Desnutrido	6,3 \pm 2,1*	0,20 \pm 0,02*
Recuperado	9,3 \pm 1,4 [‡]	0,27 \pm 0,03 [‡]

Tabela 3. Concentração de glicogênio (μ g.gHb⁻¹) nos diferentes setores do leito vascular nos diferentes grupos experimentais. Os valores representam as médias \pm dp, n=8. * $P < 0,05$ em relação a artéria femural; # $p < 0,05$ em relação a supra hepática. AF = artéria femural, VF = veia femural, VP = veia porta, SH = supra-hepática (veia cava inferior na sua porção supra-hepática)

Setores	Controle	Desnutrido	Recuperado
AF	39,23 \pm 0,5	3,05 \pm 0,2	18,24 \pm 1,3
VF	26,15 \pm 1,1*	2,70 \pm 0,1*	9,66 \pm 1,0*
VP	23,05 \pm 1,3 [‡]	2,22 \pm 0,02 [‡]	8,04 \pm 1,5 [‡]
SH	40,06 \pm 1,1	3,36 \pm 0,1	30,61 \pm 2,4

Na avaliação *in vivo* da participação dos eritrócitos como unidade de armazenamento e transporte de glicose, quantificamos primeiramente as reservas eritrocitárias de glicogênio (REG) de sangue coletado em quatro setores do leito vascular (artéria (AF) e veia femural (VF), veias porta (VP) e veia cava inferior na sua porção supra-hepática (SH) de ratos do grupo controle. Os valores estão apresentados na Tabela 3 com correspondência a glicemia nos mesmos setores descritos na Tabela 4, onde pode-se observar diferenças nas REG entre as femurais (artéria e veia), correspondendo a liberação/utilização de glicose por tecidos periféricos. Observa-se também diferenças na glicemia nos diferentes compartimentos.

A seguir foram avaliadas as diferenças entre a VP e SH e foi verificado que as REG que na VP não difere da femural, aumentou após a passagem pelo fígado, indicando ter havido carga com boa correlação com a glicemia ($r=0,784$). As REG variaram de acordo com a região de coleta registrando-se diferença de 33% entre as femurais e de 91% entre SH e VP. A diferença na glicemia entre as femurais, foi de 27% enquanto entre as VP e SH foi observado concentrações 80% maiores na SH.

Quando as mesmas avaliações foram realizadas com eritrócitos de ratos desnutridos foi observado baixas REG onde a diferença entre as femurais atingiu 11% enquanto entre VP e SH a diferença foi de 50%, indicando comprometimento nas propriedades glicostáticas eritrocitárias (PGE). No que se refere a glicemia, foi observado diferença de 18% entre as femurais e 53% entre SH e VP, diferindo do comportamento observado no grupo controle.

Por fim, o mesmo perfil de análise foi aplicado aos

Tabela 4. Concentração de glicose (mg.dl⁻¹) nos diferentes setores do leito vascular. Os valores representam as médias \pm dp, n=8. * $P < 0,05$ em relação a artéria femural; # $p < 0,05$ em relação a supra hepática. AF = artéria femural, VF = veia femural, VP = veia porta, SH = supra-hepática (veia cava inferior na sua porção supra-hepática)

Setores	Controle	Desnutrido	Recuperado
AF	98 \pm 1,0	70 \pm 4,2	82 \pm 6,0
VF	71 \pm 1,4*	57 \pm 1,4	68 \pm 1,4*
VP	68 \pm 4,1 [‡]	62 \pm 2,0	71 \pm 3,0 [‡]
SH	115 \pm 5,0	95 \pm 9,0 [‡]	89 \pm 1,7

Tabela 5. Perfil hematológico dos diferentes grupos experimentais. Os valores representam as médias \pm dp, n=8. * $P < 0,05$ em relação ao controle

Grupos	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	Eritrometria (milhões/mm ³)
Controle	12,82 \pm 2,3	43 \pm 2	7,18 \pm 0,5
Desnutrido	5,38 \pm 1,2*	32 \pm 2,1*	3,93 \pm 0,3*
Recuperado	11,27 \pm 0,8	47,3 \pm 1,9	6,15 \pm 0,3

eritrócitos de animais recuperados de desnutrição sendo observado que houve melhora nas dinâmicas de mobilização das REG, havendo diferença entre as femurais sendo 47% menores nas veias, enquanto entre VP e SH a diferença foi de 80%, indicando que concomitante a recuperação nutricional, houve restabelecimento parcial das PGE. Cabe ressaltar que os valores não atingem aqueles observados no grupo controle. No que se refere as diferenças na glicemia, os compartimentos não diferiram do controle, indicando que houve alteração nas propriedades dos eritrócitos.

A seguir foi realizado um estudo *in vitro* dos efeitos das variações na concentração de glicose (carga e descarga) sobre as REG. Na avaliação da carga, os eritrócitos foram incubados na ausência de glicose e sequencialmente re-incubados em concentração crescente de glicose, sendo observado elevação nas REG concomitante a elevação da glicose no meio, com média 45% maior ao ser comparando com a condição de incubação antecedente. Neste experimento de carga, observa-se a forte correlação entre a REG e a glicemia ($r=0,932$) (Gráfico 2). Na análise da descarga das REG, foi observado redução nas REG com média 47% menor, respectivamente se comparado a condição anterior. Este experimento de descarga também mostrou forte correlação entre as REG e a glicemia ($r=0,852$). Os experimentos de carga e descarga propõe uma inter-relação entre a glicemia e as REG.

Por fim, foi avaliado a concentração hepática de glicogênio, por ser o maior reservatório de glicose e locus da perfusão dos eritrócitos. Nesta análise, foi verificado que o fígado do animal desnutrido apresentou concentrações 64% menores se comparado ao controle (4,20 \pm 0,8mg/100mg Controle X 1,50 \pm 0,5mg/100mg Desnutrido), por sua vez, na recuperação nutricional as reservas hepáticas foram aumentadas em 133% se

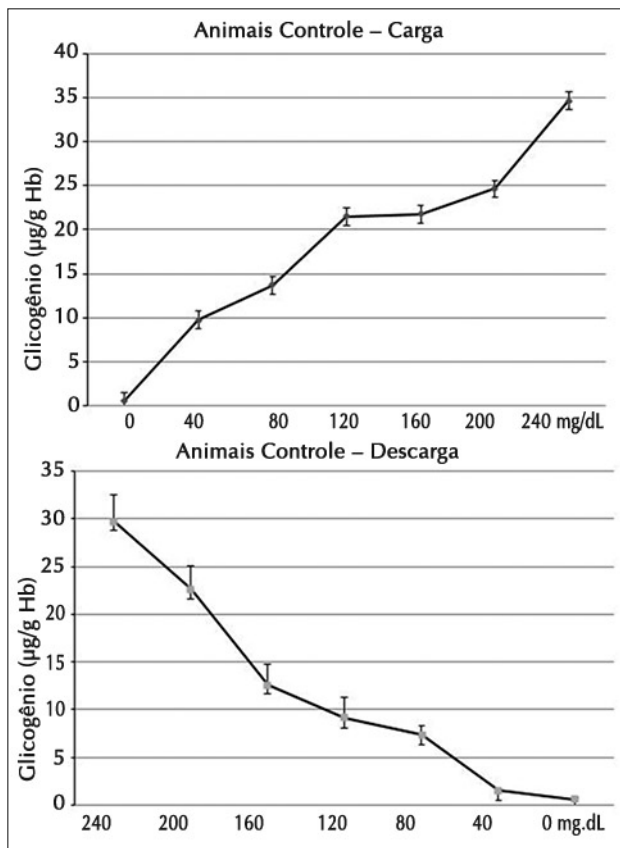


Gráfico 2. Comportamento *in vitro* das reservas glicogênicas de eritrócitos coletados de animais controle, quando incubados na presença de concentrações crescentes de glicose (carga) e incubados em concentrações decrescentes de glicose (descarga). Os valores correspondem a média \pm dp, n=8

comparado ao desnutrido, atingindo valores similares aos observados no grupo controle.

Por fim, foi avaliado o perfil hematológico, por ter relação com as funções eritrocitárias sendo observado que o grupo desnutrido representou redução de 58%, 25% e 45% respectivamente na concentração de hemoglobina, no hematócrito e na eritrometria, indicando anemia. Vale ressaltar que a renutrição foi eficiente em restabelecer os parâmetros hematológicos até índices de normalidade.

Discussão

A manutenção da normoglicemia é um processo multifatorial e dependente da integridade dos sistemas nervoso e endócrino, que são sistemas importantes no controle da mobilização ou armazenamento das reservas hepáticas de glicogênio¹⁵. Estudos tem demonstrado nos eritrócitos, a presença das enzimas amiloglicosidase, glicogênio sintetase e fosforilase, similares a aquelas descritas nos hepatócitos permitindo a formação de um reservatório de glicogênio^{16,3}.

Na avaliação das reservas eritrocitárias de glicogênio (REG), foi verificado uma significativa diferença artério-venosa entre a REG coletados nas femurais (artéria e veia), sendo significativamente maior no ramo arterial sugerindo que os eritrócitos estariam envolvidos na dis-

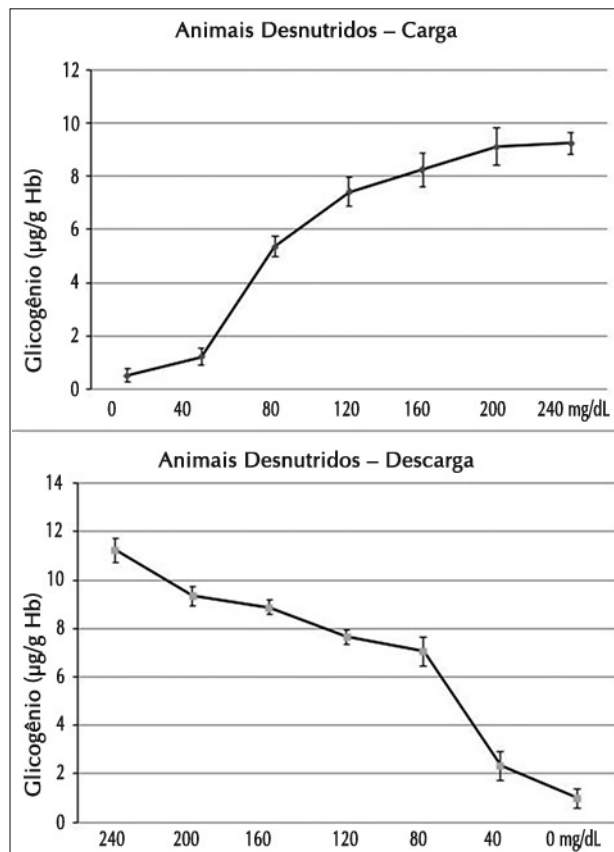


Gráfico 3. Comportamento *in vitro* das reservas glicogênicas de eritrócitos coletados de animais desnutridos, incubados na presença de concentrações crescentes de glicose (carga) e incubados em concentrações decrescentes de glicose (descarga). Os valores correspondem a média \pm dp, n=8

tribuição de glicose aos tecidos durante o trânsito pelos capilares. Simultaneamente observa-se uma diferença glicêmica artério-venosa periférica nas femurais, sendo que no ramo arterial as concentrações são maiores do que no ramo venoso, indicativo da distribuição desta glicose para utilização tecidual periférica.

Após os eritrócitos passarem pelos capilares do parênquima hepático verificamos aumento na REG, sugerindo haver captado glicose no interior do fígado. Paralelamente também ocorre uma diferença quanto à glicemia, onde se observa maiores concentrações na SH acompanhando a sugestão expressa na literatura^{2,17}.

Na avaliação a dinâmica eritrocitária de mobilização das REG *in vitro*, foi observado que na presença de concentrações crescentes de glicose, houve aumento proporcional nas REG, com correlação elevada, indicativo de uma dependência direta entre a concentração de glicose e o acúmulo de glicogênio nos eritrócitos¹⁸. Na avaliação da descarga observamos que houve redução das REG concomitante a incubação em concentrações decrescente da glicose no meio de incubação havendo forte correlação entre as REG e a concentração glicêmica, mostrando que os eritrócitos depletam suas REG de acordo com o decréscimo da glicemia.

Na avaliação do crescimento dos ratos foi observado que na desnutrição (seis semanas) não houve ganho significativo na massa, acompanhado de me-

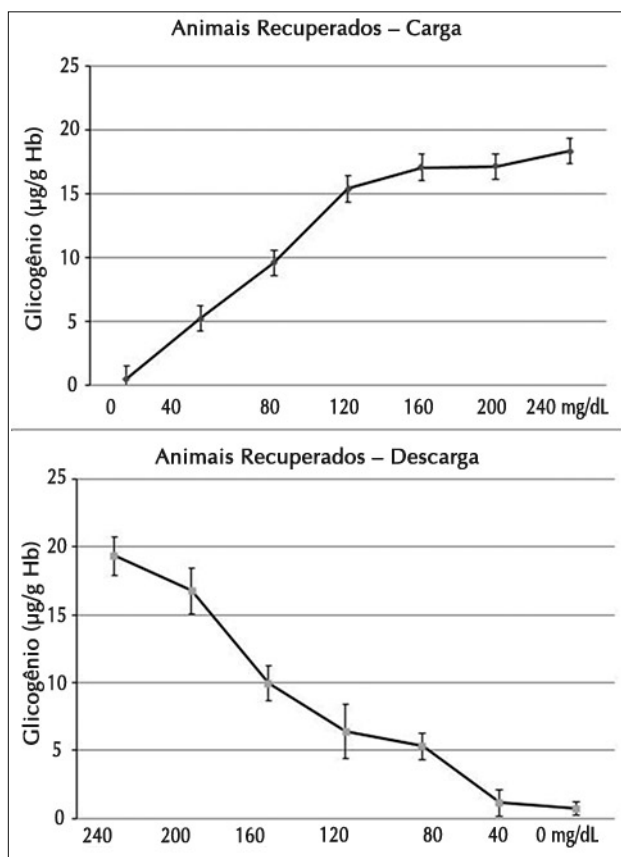


Gráfico 4. Comportamento *in vitro* das reservas glicogênicas de eritrócitos coletados de animais recuperados de desnutrição, incubados na presença de concentrações crescentes de glicose (carga, figura acima) e incubados em concentrações decrescentes de glicose (figura de baixo). Os valores correspondem a média de $\pm dp$, $n=8$

nores concentrações de proteínas totais e albumina, sugerindo alterações morfológicas e funcionais ocasionadas pela deficiência proteica na dieta, uma vez que, no grupo alimentado com a dieta normoproteica, o crescimento acompanhou índices descritos na literatura¹⁹. A menor massa corporal é consequência do baixo suprimento de aminoácidos para formação de hormônios ligados ao desenvolvimento ponderal e no crescimento^{8,20-21}.

Na literatura não há consenso indicando que a recuperação nutricional permite o retorno das funções orgânicas²¹⁻²³. Este estudo, acompanha e reitera que a partir da reabilitação nutricional (dieta normoproteica), há recuperação no ganho de peso, na concentração plasmática de proteínas totais, albumina, na eritrometria, hematócrito e concentração de hemoglobina, mas ao final da renutrição, os ratos ainda apresentaram massa menor do que o grupo controle. Esta observação acompanha dados de Sharma e cols²⁴⁻²⁵ que relataram alterações morfofuncionais geradas na desnutrição são de difícil recuperação e a reversão ocorre lentamente.

A seguir, o estudo foi direcionado a avaliação *in vivo* e *in vitro* das REG de animais desnutridos sendo observado redução na capacidade de mobilizar as REG em detrimento da mudança da glicemia indicando altera-

ção nas PGE. Frente a este resultado, é sugestiva a proposta de que concomitante a desnutrição há comprometimento nas estruturas e funções eritrocitárias, dentre elas, as funções glicostáticas, condição que já foram descritas em outras condições patológicas como descrito em eritrócitos de diabéticos²⁶.

Após a renutrição foi verificado tanto *in vivo* quanto *in vitro* que a recuperação das funções glicostáticas foi somente parcial, indicando que esta função não acompanha o perfil de recuperação observado nos parâmetros hematológicos, como demonstrado^{27-28,30}. Uma possível explicação para a não recuperação das funções glicostáticas após renutrição, pode ter relação com a "teoria do fenótipo poupador", a qual considera que existe adaptação do organismo frente à desnutrição privilegiando somente algumas estruturas e/ou órgãos, como descrito em um estudo que avaliou o peso cerebral e constatou melhoras após a renutrição²⁹⁻³⁰.

Conclusão

As funções glicostáticas eritrocitárias são comprometidas pela desnutrição e não são totalmente recuperadas com a renutrição proteica. Mesmo frente a importância dos eritrócitos na regulação fina da glicemia atuando localmente à nível capilar, é sugestivo que esta função seja secundária e que possa ser contemplada somente após a recuperação dos órgãos de maior importância no controle glicêmico.

Referências

1. Raw I. Mecanismo de ação da insulina. Rev Med (São Paulo). 1948; 32:199-210.
2. Guarner V, Alvarez-Buylla R. Erythrocyte and glucose homeostasis in rats. Diabetes. 1989;38:410-5.
3. Adeva-Andany MM, González-Lucán M, Donapetry-García C, Fernández-Fernández C, Ameneiros-Rodríguez E. Glycogen metabolism in humans. BBA Clin. 2016;27(5):85-100.
4. Moses SW, Bashan N, Gutman A. Glycogen metabolism in the normal red blood cell. Blood. 1972;40 (6):836-43.
5. Harvey JW, Kaneko JJ. Glucose metabolism of mammalian erythrocytes. J Cell Physiol. 1976;89:219-24.
6. Roach PJ. Glycogen and its metabolism. Curr Mol Med. 2012; 2(2):101-20.
7. Jacquez JA. Red blood cell as glucose carrier: significance for placental and cerebral glucose transfer. Am J Physiol. 1984;246: 289-98.
8. Douglas CR. Tratado de fisiologia aplicada as ciências da saúde. 5.ª ed. São Paulo: Robe; 2002.
9. Neiva CM, Guerino MR, Mello MAR. Análise dos efeitos da desnutrição protéico-calórica sobre as respostas ao exercício agudo (single section) parâmetros metabólicos. Motriz. 1999; 1(1):32-43.
10. Almeida SS, Garcia RA, Oliveira LM. Effects of early protein malnutrition and repeated test upon locomotor and exploratory behaviors in the elevated plus maze. Phys Behav. 1993;54(4): 749-52.
11. Tirapegui J. Nutrição: fundamentos e aspectos atuais. São Paulo: Atheneu, 2002.

12. Gigante DP, Buchweitz M, Helbig E, Almeida AS, Araújo CL, Neumann NA. Ensaio randomizado sobre o impacto da multimistura no estado nutricional de crianças atendidas em escolas de educação infantil. *J Pediatr*. 2007;83(4):363-9.
13. Farquarson EJ, Jamieson C, Mc Phee GB, Logan RW. A new sensitive microassay for the measurement of erythrocyte glycogen. *Clin Chim Acta*. 1990;187:89-94.
14. LOS Russeau JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol*. 1970;28(2):234-6.
15. Yamaguchi N. Sympathoadrenal system in neuroendocrine control of glucose: mechanism involved the liver, pancreas and adrenal gland. *Can J Physiol Pharmacol*. 1992;70:167-206.
16. Moses SW, Bashan N, Gutman A. Properties of glycogen synthetase in erythrocytes. *Eur J Biochem*. 1972;30:205-10.
17. Ghadially FN. Ultrastructural pathology of the cell and matrix. Estados Unidos: CRC Press; 1990.
18. Guarner V, Alvarez-Buylla R. Compensation by fetal erythrocyte of plasma glucose changes in rats. *Diabetes*. 1990;39:1191-7.
19. Azadbakht M, Hosseinimehr SJ, Shokrzadeh M, Habibi E, Ahmadi A. Diospyros lotus L. fruit extract protects G6PD-deficient erythrocytes from hemolytic injury *in vitro* and *in vivo*: prevention of favism disorder. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2011;15(11):1270-81.
20. Silva KC. Efeitos da reposição nutricional sobre o crescimento somático e ósseo de ratos desnutridos precocemente (dissertação de mestrado). Recife: Universidade Federal; 2009.
21. Latorraca MQ, Reis MAB, Carneiro EM, Mello MA, Velloso LA, Saad MJA. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and the early steps of insulin action in rats *J Nutr*. 1998;128(10):1643-9.
22. Colombo JP, Cervantes H, Kokorovic M, Pfister U, Perritaz R. Effect of different protein diets on the distribution of amino acids in plasma, liver and brain in rats. *Ann Nutr Metab*. 1992;36:23-33.
23. Oliveira EC, Noujeimi FA, Pedrosa ML, Silva ME. Influência da recuperação nutricional sobre parâmetros bioquímicos e nutricionais de ratas submetidas ao exercício. *Coleção Pesquisa Educação Física*. 2007;6(2):359-66.
24. Sharma SK, Behari M, Maheshwari MC, Selvamurthy W. Seizure susceptibility & intrarectal sodium valproate induced recovery in developing undernourished rats. *Indian J Med Res*. 1990a;92:120-7.
25. Sharma SK, Selvamurthy W, Maheshwari MC, Singh TP. Kainic acid induced epileptogenesis in developing normal & undernourished rat – a computerised EEG analysis. *Indian J Med Res*. 1990;92:456-66.
26. Yoa RG, Rapin JR, Wiensperger NF, Matinand A, Belleville I. Demonstration of defective glucose uptake and storage in erythrocyte from non insulin dependent diabetic patients and effects of metformin. *Clin Exp Pharm Physiol*. 1993;20:563-7.
27. Harris JR. Erythroid cells. *Blood cell biochem*. New York, Plenum Press, 1990.
28. Guzmán-Silva MA, Wanderley ARI, Macêdo VMI, Boaventura GT. Recovery from malnutrition in rats with or without the addition of dietary food supplements, vitamins and minerals during the growth period. *Rev Nutr*. 2004;17(1):59-69
29. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992;35(7):595-601.
30. Souza AS, Pacheco LC, Castro PS, Hokoc JN, Rocha MS, Carmo MGT. Brain fatty acid profiles and spatial learning in malnourished rats: effects of nutritional intervention. *Nutr Neurosci*. 2008;11:119-27.

Endereço de correspondência:

Bruno Ferreira Gonçalves e Silva
Rua Salomão Mussi, 381 – Barão Geraldo
Campinas-SP, CEP 13084-773
Brasil

Email: brufgsilva@outlook.com

Recebido em 26 de julho de 2016
Aceito em 16 de setembro de 2016