

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLÓGIA CARDIOVASCULAR
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – NUPEB

RESPOSTA PRESSORA À MICROINJEÇÃO DE L-GLUTAMATO NO BULBO
ROSTROVENTROLATERAL DE RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO
PROTÉICA

AUTOR: Fabiana Aparecida Rodrigues
ORIENTADOR: Prof. Dr. Luciano Gonçalves Fernandes
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior

R696r Rodrigues, Fabiana Aparecida.

Resposta pressora à microinjeção de L-Glutamato no bulbo rostroventrolateral de ratos submetidos à desnutrição protéica [manuscrito] / Fabiana Aparecida Rodrigues. – 2008.

xiv, 52 f.: il., tabs., grafs.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Gonçalves Fernandes.

Co-orientador: Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto.
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Bioquímica estrutural e fisiológica.

1. Desnutrição - Teses. 2. Pressão arterial - Teses. 3. Barorreflexo - Teses.
I. Universidade Federal de Ouro Preto. II. Título.

Catalogação: sisbin@sisbin.ufop.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLÓGIA CARDIOVASCULAR
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – NUPEB

**RESPOSTA PRESSORA À MICROINJEÇÃO DE L-GLUTAMATO NO BULBO
ROSTROVENTROLATERAL DE RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO
PROTÉICA**

AUTOR: Fabiana Aparecida Rodrigues
ORIENTADOR: Prof. Dr. Luciano Gonçalves Fernandes
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre, em Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica Estrutural e Fisiológica.

Ouro Preto, 2008

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, com o auxílio do CNPq, FAPEMIG e UFOP.

Se eu pudesse...

*Se eu pudesse deixar algum presente a você,
deixaria aceso o sentimento de amar
a vida dos seres humanos.
A consciência de aprender tudo
o que foi ensinado pelo tempo a fora.
Lembraria os erros que foram cometidos
para que não mais se repetissem.
A capacidade de escolher novos rumos.
Deixaria para você, se pudesse,
o respeito àquilo que é indispensável:
Além do pão, o trabalho.
Além do trabalho, a ação.
E, quando tudo mais faltasse,
um segredo:
O de buscar no interior de si mesmo
a resposta e a força para
encontrar a saída.*

(Mahatma Gandhi)

Dedicatória

*Aos meus pais, José e Maria que sempre me
incentivaram e me apoiaram.*

*Aos meus maravilhosos irmãos Flavinho e
José pela amizade, carinho e incentivo. Amo vocês!*

Agradecimentos

A Deus e a intercessão de Maria por mais essa conquista em minha vida.

Aos meus pais, José e Maria, pelo apoio, incentivo, amizade, amor incondicional ao longo desses anos. Orgulho-me muito de vocês!

Aos meus amáveis e adoráveis irmãos, Flavinho e José pela amizade, carinho e incentivo.

Ao Luciano pela curta, mas importante presença na realização desse trabalho. Agradeço o apoio, paciência e amor.

A amiga e irmã Arlete pelo aprendizado, amizade e conselhos. Não alcançaria essa conquista sem a sua ajuda.

Ao Professor Dr. Luciano Gonçalves Fernandes pela competência, ensinamentos e paciência ao longo dos anos.

Ao prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior pela amizade, carinho e pela oportunidade oferecida ao permitir que eu fizesse parte de sua equipe.

A todos os companheiros do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular pela companhia, apoio, aprendizado e as boas conversas.

As instituições de apoio a pesquisa que proporcionaram a realização desse trabalho, especialmente a Universidade Federal de Ouro Preto.

Ao Laboratório de Patologia, especialmente aos Professores Cláudia Carneiro, Wanderson, e a Técnica Maria pela colaboração nas análises histológicas.

Ao Departamento de Fisiologia da UNESP, pela acolhida e aprendizado.

As amigas e irmãs que sempre estiveram presentes com palavras amigas e motivadoras: Vanessa, Priscilla e Mayra.

Aos colegas de Mestrado que se tornaram grandes amigos: Joelma, Carlito, Matheus e Roberta.

Ao grande amigo Joamyr pelo carinho, incentivo e por sempre ter me ajudado nas horas difíceis na execução desse trabalho.

Aos professores e colegas do NUBEB pela companhia e auxílio.

Ao Sr. Miltinho pelo apoio nos cuidados do Biotério, pela amizade e pelo exemplo de persistência.

A Cida por todo apoio prestado, pela alegria, amizade e conselhos.

Sumário

Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas	ix
Resumo	x
Abstract.....	xii
1- INTRODUÇÃO.....	1
1.1 – Desnutrição	1
1.2 – Desnutrição e Alterações Fisiológicas.....	2
1.3 – O Sistema Nervoso Central e a Regulação Cardiovascular.....	4
2- OBJETIVOS.....	7
2.1 – Objetivo Geral.....	7
2.2 – Objetivo Específico.....	7
3 – MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 – Modelo Animal	8
3.2 – Metodologia da Desnutrição	8
3.3 – Composição Química das Dietas	9
3.4 – Canulação da Artéria Femoral	9
3.5 – Registro da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	10
3.6 – Implante de cânulas-guia dirigida para o RVLM	11
3.7 – Microinjeções de L-glutamato no RVLM	12
3.8 – Protocolo Experimental	13
3.9 – Histologia:.....	13
3.10 – Análise Estatística.....	14
4 – RESULTADOS	15
4.1 – Efeito da Desnutrição sobre o Peso Corporal dos Ratos	15
4.2 – Efeito da Desnutrição sobre a FC e PAM Basais	17
4.3 – Efeito de Diferentes Concentrações de L-glutamato Microinjetados no RVLM sobre a Pressão Arterial	19
4.4 – Índice Bradicárdico após Microinjeção de Diferentes Doses de L-glutamato no RVLM.....	21

4.5 – Análise da Linha de Base da Pressão Arterial Média.....	25
4.6 – Análise do Pico da Resposta Pressora Promovido por Microinjeção de Diferentes Concentrações de L-glutamato no RVLM	27
4.7 - Sítio de Microinjeção de Diferentes Concentrações de L-glutamato no RVLM	29
5 - DISCUSSÃO.....	31
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
7 – APÊNDICE.....	43
8 – PRODUÇÃO CIENTÍFICA	53
8.1 – Resumos em Congressos	53

Lista de Figuras

Figura 1- Representação esquemática das vias neurais e neurotransmissores envolvidos na resposta barorreflexa.	6
Figura 2 - Cronograma da metodologia de desnutrição protéica.	9
Figura 3 - Efeito da dieta sobre o peso corporal (g) de ratos controle e desnutridos 35 dias após o desmame.....	16
Figura 4 – Efeito da dieta sobre a frequência cardíaca (FC) e sobre a pressão arterial média (PAM) de ratos controle e desnutridos 35 dias após o desmame.	18
Figura 5 – Curva dose-resposta obtida através da microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato no RVLM de ratos controle e desnutridos	20
Figura 6 - Efeito de diferentes concentrações de L-glutamato microinjetadas no RVLM de ratos controle e desnutridos sobre o índice bradicárdico.	22
Figura 7 - Efeito de baixas concentrações de L-glutamato (1fM, 10 fM, 100 fM) microinjetadas no RVLM de ratos controle e desnutridos sobre o índice bradicárdico.	23
Figura 8 - Efeito das concentrações (10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) de L-glutamato microinjetadas no RVLM de ratos controle e desnutridos sobre o índice bradicárdico.	24
Figura 9 - Valores da linha de base da pressão arterial média obtidos antes das microinjeções de diferentes concentrações de L-glutamato no RVLM de ratos controle e desnutridos	26
Figura 10 - Valores máximos da pressão arterial média obtidos após microinjeções de diferentes concentrações de L-glutamato no RVLM de ratos controle e desnutridos	28
Figura 11 - Fotomicrografia de um corte coronal do cérebro de ratos mostrando a localização da microinjeção de L-glutamato no RVLM.....	30

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição química das dietas (g/100g de ração).	9
Tabela 2 - Peso corporal (g) de ratos que receberam dieta controle (15% de proteína) e dieta hipoprotéica (6% de proteína) 35 dias após o desmame.	43
Tabela 3 - Frequência cardíaca basal (bpm) de ratos controles e desnutridos.	44
Tabela 4 - Pressão arterial média basal (mmHg) de ratos controles e desnutridos.	45
Tabela 5 – Resposta pressora obtida após microinjeção de 50 nL de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) e Salina no RVLM de ratos controles.	46
Tabela 6 - Resposta pressora obtida após microinjeção de 50 nL de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) e salina no RVLM de ratos desnutridos.	47
Tabela 7 – Índice bradicárdico obtido após microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos controles.	48
Tabela 8 – Índice bradicárdico obtido após microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos desnutridos.	49
Tabela 9 – Pressão arterial média obtida antes (PAM MIN) e após (PAM MAX) à microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos controles.	50
Tabela 10 - Pressão arterial média obtida antes (PAM MIN) e após (PAM MAX) à microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos desnutridos.	51

Resumo

A desnutrição energético-protéica caracteriza-se pela existência de um desequilíbrio celular entre o fornecimento de nutrientes e a demanda corporal para assegurar o crescimento e funções orgânicas específicas. Dados anteriores do nosso laboratório sugerem um comprometimento dos reflexos neurais de controle da pressão arterial de ratos acordados submetidos à desnutrição protéica. Considerando que o Bulbo Rostroventrolateral (RVLM) desempenha um importante papel na regulação cardiovascular por conter neurônios retículo-espinhais pré-motores simpáticos e que o L-glutamato parece ser o principal neurotransmissor excitatório dessa área decidimos então, estudar o perfil da resposta pressora secundária à microinjeção de L-glutamato no RVLM de ratos não-anestesiados submetidos à desnutrição protéica.

Foram utilizados 34 ratos Fisher divididos em dois grupos de acordo com a dieta recebida: 15% de proteína durante 35 dias para o grupo controle (n = 15) ou 6% de proteína para o grupo desnutrido (n = 19). Foram implantadas cânulas-guia em direção ao RVLM desses animais quatro dias antes dos experimentos. No dia anterior aos experimentos foi inserido um cateter na artéria femoral para registro dos parâmetros cardiovasculares. Os resultados encontrados mostraram que os animais desnutridos apresentaram níveis de frequência cardíaca basal significativamente maiores quando comparados aos animais controle ($412,18 \pm 16,03$ bpm vs. $370,74 \pm 9,59$ bpm, respectivamente). Além disso, os animais desnutridos apresentaram alterações na curva de resposta pressora associada à microinjeções de diferentes doses de L-glutamato no RVLM (1 fM: $8,35 \pm 0,95$ (n = 2) vs. $6,3 \pm 1,4$ mmHg (n = 2); 10 fM: $16,025 \pm 2,19$ (n = 4) vs. $6,13 \pm 3,03$ mmHg (n = 3); 100 fM : $20,66 \pm 4,12$ (n = 3) vs. $7,57 \pm 1,64$ mmHg (n = 4); 1 pM: $14,23 \pm 3,07$ (n = 3) vs. $16,23 \pm 4,43$ mmHg (n = 3); 10 pM: $12,32 \pm 4,9$ (n = 4) vs. $8,45 \pm 2,05$ (n = 4) mmHg; 100 pM: $21,02 \pm 5,39$ (n = 5) vs. $8,7 \pm 2,23$ mmHg (n = 3); 1 nmol: $18,6 \pm 0,72$ mmHg (n = 5) vs $30,6 \pm 1,25$ mmHg (n = 3); 10 nM: $23,92 \pm 3,11$ (n = 4) vs. $32,24 \pm 5,35$ mmHg (n = 5); 100 nM: $24,8 \pm 4,68$ (n = 4) vs. $36,43 \pm 7,15$ mmHg (n = 3), respectivamente). Essas diferenças não podem ser explicadas por alterações na linha de base da pressão arterial média ou no pico de respostas pressoras obtidas após a microinjeção de L-glutamato no RVLM. A avaliação

do índice bradicárdico revelou que, após microinjeções de baixas concentrações de L-glutamato ($1 \times 10^{-15} \text{M}$ a $1 \times 10^{-13} \text{M}$) no RVLM, os animais desnutridos apresentaram redução da função baroceptora, ao passo que, após microinjeções de doses maiores de L-glutamato ($1 \times 10^{-12} \text{M}$ a $1 \times 10^{-9} \text{M}$), o índice bradicárdico dos animais desnutridos não se mostrou alterado. Portanto, os resultados do presente estudo mostram que o protocolo de desnutrição protéica pós-desmame foi capaz de promover disfunções na neurotransmissão glutamatérgica do barorreflexo no RVLM.

Abstract

Malnourishment is characterized by an imbalance between nutrient intake and body needs to ensure growing, maintenance and specific organic functions. Previous studies from our laboratory showed that protein malnutrition in rats promoted an increase in basal mean arterial pressure and heart rate, as well changes in cardiovascular reflexes. Considering that Rostral Ventrolateral Medulla (RVLM) appear to be involved in cardiovascular regulation, since it contains sympathetic pre-motor neurons, and that L-glutamate seems to be the main neurotransmitter in this nucleus, we aimed to evaluate the pressure response to L-glutamate microinjection into the RVLM of awake rats submitted to protein restriction.

Male Fischer rats used in the present study were divided into 2 groups according to the diet offered: control group (n = 15) that received 15% of protein and the low protein group (n = 19) that in turn received 6% of protein in diet for 35 days after weaning. Four days before experimental procedures, guide cannulas were implemented in direction to the RVLM for microinjections. Twenty-four hours before the experiments the femoral artery were cannulated for cardiovascular recordings. The results indicate that the baseline heart rate (HR) was increased in malnourished animals when compared to control animals (412.18 ± 16.03 bpm vs. 370.74 ± 9.59 bpm, respectively). Moreover, we observed that malnourished animals presented different concentration-related pressor response curve, subsequent to L-glutamate microinjections into the RVLM of awake malnourished animals in comparison to control rats: (1 fM: 8.35 ± 0.95 (n = 2) vs. 6.3 ± 1.4 mmHg (n = 2); 10 fM: 16.025 ± 2.19 (n = 4) vs. 6.13 ± 3.03 mmHg (n = 3); 100 fM : 20.66 ± 4.12 (n = 3) vs. 7.57 ± 1.64 mmHg (n = 4); 1 pM: 14.23 ± 3.07 (n = 3) vs. 16.23 ± 4.43 mmHg (n = 3); 10 pM: 12.32 ± 4.9 (n = 4) vs. 8.45 ± 2.05 (n = 4) mmHg; 100 pM: 21.02 ± 5.39 (n = 5) vs. 8.7 ± 2.23 mmHg (n = 3); 1 nmol: 18.6 ± 0.72 mmHg (n = 5) vs 30.6 ± 1.25 mmHg (n = 3); 10 nM: 23.92 ± 3.11 (n = 4) vs. 32.24 ± 5.35 mmHg (n = 5); 100 nM: 24.8 ± 4.68 (n = 4) vs. 36.43 ± 7.15 mmHg (n = 3), respectively). These differences cannot be explained by alterations in the baseline mean arterial pressure or by the peak of pressure response induced by microinjection of L-glutamate in the RVLM.

The evaluation of the bradycardic index demonstrated that malnourished animals exhibit reduced baroreflex gain at lower concentrations of L-glutamate (10 fM and 100 fM) while microinjections of higher concentrations of L-glutamate did not change the bradycardic index in malnourished rats (10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM). Therefore, the results presented in this study indicate that the after weaning protein restriction protocol was able to promote cardiovascular autonomic dysfunction in rats by affecting glutamatergic neurotransmission of the baroreflex at the RVLM level.

1- INTRODUÇÃO

1.1 – Desnutrição

A desnutrição energético-protéica caracteriza-se pela existência de um desequilíbrio celular entre o fornecimento de nutrientes e a demanda corporal para assegurar o crescimento e funções específicas. Ocorre mais facilmente em crianças em fase de amamentação, e menores de cinco anos (Sawaya e cols., 2003).

A deficiência específica de macro e micronutrientes, o desmame precoce, a higiene alimentar precária e a ocorrência excessiva de infecções são causas bastante comuns da desnutrição infantil (Monteiro, 1995).

Estima-se que no mundo em desenvolvimento, 174 milhões de crianças menores de cinco anos têm desnutrição indicada pelo baixo peso para a idade e 230 milhões, pela baixa estatura para a idade. Reconhece-se que 6,6 milhões das 12,2 milhões de mortes entre crianças menores de cinco anos (55% das mortes infantis em países em desenvolvimento) estão associadas à desnutrição. Ainda de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a alimentação inadequada de recém nascidos e crianças é responsável por um terço dos casos de desnutrição (*World Health Organization*, 2007).

No Brasil 10,5% das crianças abaixo de 5 anos são desnutridas. A maior prevalência ocorre na região Nordeste (18%) e a menor na região Sul (5%) (BENFAM - Sociedade Civil Bem-Estar Familiar no Brasil, 1997).

Existem várias formas para se induzir a desnutrição experimental. A utilização de ratos como modelo biológico em estudos de carências nutricionais apresenta bons resultados que refletem em sua grande maioria, aos encontrados em relação ao metabolismo de humanos desnutridos. A utilização animal permite um controle do tempo e dos níveis desejados da carência nutricional que se pretende estudar (Giacomelli & Marçal-Natali, 1999). A desnutrição pode ser imposta através do aumento no número de filhotes por ninhada durante o período de aleitamento, levando à competição pelo leite materno e diminuição da disponibilidade de nutrientes para cada animal individualmente (Chase & MC Khann, 1967; Bell e Slotkin, 1988). Outro método utilizado refere-se à diminuição do conteúdo protéico oferecido à fêmea no

período da amamentação dos filhotes (Pedrosa & Moraes-Santos, 1987). A desnutrição pode ainda ser induzida durante a gestação, com redução do teor de proteínas oferecido às fêmeas gestantes (Tonkiss e cols., 1998). E ainda, a diminuição do conteúdo protéico da dieta após o desmame (Agarwal e cols., 1981; Benabe e cols., 1993). Este último modelo é o que tem sido adotado pelo nosso laboratório e conseqüentemente no presente estudo.

1.2 – Desnutrição e as Alterações Fisiológicas

As doenças cardiovasculares e condições associadas a elas, como hipertensão e diabetes tipo II, podem se originar das perturbações do desenvolvimento durante a vida fetal e a infância (Phillips e cols., 1994; Barker e cols., 1993). Essas doenças seriam conseqüências de um quadro de “programação nutricional”, onde um estímulo ou insulto alimentar em período crítico ou sensível do desenvolvimento resulta em alterações fisiológicas e metabólicas a longo prazo. Existem períodos críticos durante os quais a maturação deve ocorrer e a falha nesse processo de maturação pode ser irreversível (Barker & Clark, 1997; Plagemann e cols., 2000).

Dados epidemiológicos sugerem uma associação entre desnutrição na infância e risco de obesidade e de doenças crônico-degenerativas na vida adulta (Sawaya e cols., 2003). De fato, diversos estudos mostram que alterações no ambiente intra-uterino estão diretamente relacionadas ao baixo peso ao nascer (Barker e cols., 1990), a doenças metabólicas como o Diabetes tipo II (Phillips e cols., 1994), doenças renais (Hoy e cols., 1999), doenças coronarianas (Barker e cols., 1993) e ao desenvolvimento de hipertensão na fase adulta (Barker e cols., 1990, Sawaya e cols., 1995; Sawaya e cols., 2003; Sawaya & Roberts, 2003; Sawaya e cols., 2005).

Desnutrição protéica intra-uterina em ratos resulta em alterações na hemodinâmica renal causando redução na atividade de renina plasmática, diminuição na produção de prostaglandinas (Fernandes-Repollet e cols., 1987), aumento na resistência vascular intra-renal, diminuição do fluxo renal plasmático e da taxa de filtração glomerular (Ichikawa e cols., 1980). Ainda, a quantidade de receptores do tipo AT₁ está aumentada tanto no córtex quanto na medula renal dos animais desnutridos (Benabe e

cols., 1993). Além disso, ocorre um aumento da expressão de renina renal e de mRNA para enzima conversora de angiotensina (ECA) em animais submetidos à dieta hipoprotéica, o que pode ser responsável pelas alterações na hemodinâmica renal desses animais (Martinez-Maldonado e cols., 1993). Outros trabalhos evidenciaram redução no número total de néfrons (do Carmo Pinho e cols., 2003), significativa redução do peso renal (tanto absoluto quanto relativo) e prejuízo na glomerulogênese (Lucas e cols., 1997). Estas alterações podem causar profundas alterações nos mecanismos renais de controle da pressão arterial.

A desnutrição também altera o funcionamento do sistema nervoso central: Estudos de Morgane e cols. (2002) mostraram que a desnutrição constitui o principal fator não-genético que afeta o desenvolvimento do cérebro, podendo causar déficits permanentes na aprendizagem e no comportamento. Além disso, a diminuição do teor protéico da dieta, ao longo prazo, induz à diminuição no número de neurônios e à redução do número de sinapses no hipocampo, prejudicando substancialmente comportamentos hipocampo-dependentes (Lukoyanov & Andrade, 2000). A desnutrição protéica pós-desmame promove alterações no sistema nervoso simpático e/ou parassimpático em ratos (Leon-quinto e cols., 1998), bem como alteração no mecanismo de regulação da liberação central de noradrenalina, resultando em aumento da concentração desse neurotransmissor no córtex cerebral desses animais (Belmar e cols., 1996). Evidenciou-se ainda danos na ramificação neuronal, na formação de sinapses (Pedrosa & Moraes-Santos, 1987), além de redução na formação da mielina e de seus constituintes (colesterol, galactolipídeos e fosfolipídeos) em cérebros de ratos desnutridos (Egwim e cols., 1986).

A principal região do sistema nervoso que é afetada pela desnutrição é o hipotálamo, pois está envolvido na regulação central da ingestão de alimentos, peso corporal, metabolismo e atividade autônoma cardiovascular (Bernardis, 1985; Bray e cols., 1990). A região hipotalâmica ventromedial, ao ser estimulada inibe a ingestão de alimento, o ganho de peso e a secreção pancreática de insulina, enquanto a área hipotalâmica lateral quando ativada estimula a ingestão de alimentos, o ganho de peso e a liberação de insulina (Inoue & Bray, 1977). Plagemann e colaboradores (2000) investigaram os efeitos de uma dieta hipoprotéica durante a gestação e a lactação sobre a organização hipotalâmica em filhotes desmamados (20 dias de vida), e verificaram

que a desnutrição promove diminuição do peso corporal, hipoglicemia, hipoinsulinemia, aumento no volume e densidade dos neurônios da região hipotalâmica ventromedial, porém observou-se redução na densidade de neurônios imunoreativos para Galanina e Neuropeptídeo Y no núcleo arqueado. Sugere-se que essas alterações hipotalâmicas podem contribuir para o desenvolvimento da hipertensão na vida adulta, pois o hipotálamo está envolvido na regulação da atividade autonômica cardiovascular.

Em nosso modelo de desnutrição experimental, diversas alterações nos mecanismos neurais de controle do sistema cardiovascular têm sido descritas: estudos de nosso laboratório, de Tropia e colaboradores (2001) demonstraram alterações do barorreflexo, do reflexo Bezold-Jarisch e aumento do tônus simpático vasomotor em animais submetidos à desnutrição protéica. Além disso, Oliveira e colaboradores (2004) observaram aumento dos níveis basais de frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PAM). Em estudo recente, Loss e colaboradores (2007) demonstraram alterações no período de latência da resposta barorreflexa, essas alterações na modulação da atividade autonômica eferente seriam responsáveis pela manutenção dos altos valores de FC e PAM basais. Penitente e colaboradores (2007) demonstraram alterações no quimiorreflexo. Gomide observou uma hiperatividade do eixo renina-angiotensina em animais desnutridos (Gomide, 2007). Martins (2007) demonstrou aumento da atividade eferente simpática e redução da atividade eferente parassimpática nos animais submetidos à dieta hipoprotéica, através da análise da variabilidade da FC no domínio da frequência, sugerindo que a restrição protéica é capaz de promover uma disfunção autonômica cardíaca em ratos. Estudos em andamento do nosso laboratório têm demonstrado que os animais desnutridos apresentam uma diminuição da força de contração ventricular esquerda, sugerindo uma disfunção contrátil nesse modelo experimental (Alves e cols., 2007).

1.3 – O Sistema Nervoso Central e a Regulação Cardiovascular

O Núcleo do Trato Solitário (NTS) é o local da primeira sinapse das aferências cardiovasculares no sistema nervoso central e tem um importante papel na modulação

da atividade eferente para o sistema cardiovascular. As vias do barorreflexo, do quimiorreflexo e do reflexo cardiopulmonar são os principais sistemas aferentes cardiovasculares envolvidos na regulação autonômica da pressão arterial (Dampney, 1994; Machado e cols., 1997). As diferentes informações enviadas para periferia são processadas no NTS com o objetivo de produzir resposta autonômica apropriada de acordo com os ajustes necessários para a normalização da pressão arterial (Machado e cols., 1997).

A ativação das aferências cardiovasculares libera aminoácidos excitatórios no NTS, o qual estimula diferentes neurônios pós-sinápticos que projetam para outras áreas do sistema nervoso central envolvidas na gênese e no controle da atividade autonômica. O L-glutamato parece ser o principal neurotransmissor excitatório envolvido com as vias neurais do barorreflexo (Talman e cols., 1980). Ele pode agir em receptores ionotrópicos (NMDA, não-NMDA) ou em receptores metabotrópicos.

As projeções do NTS para o Núcleo Ambíguo quando ativadas, produzem a excitação de neurônios pré-ganglionares parassimpáticos localizados nessa área promovendo um aumento do tônus vagal para o coração (Machado e cols., 1997). As vias simpato-inibitórias envolvem uma projeção excitatória do NTS para a região caudoventrolateral do bulbo (CVLM) e uma projeção inibitória do CVLM para o Bulbo Rostroventrolateral (RVLM), o qual é o sítio de neurônios que geram o tônus simpático vasomotor (Guyenet & Koshiya, 1992). (Figura 1).

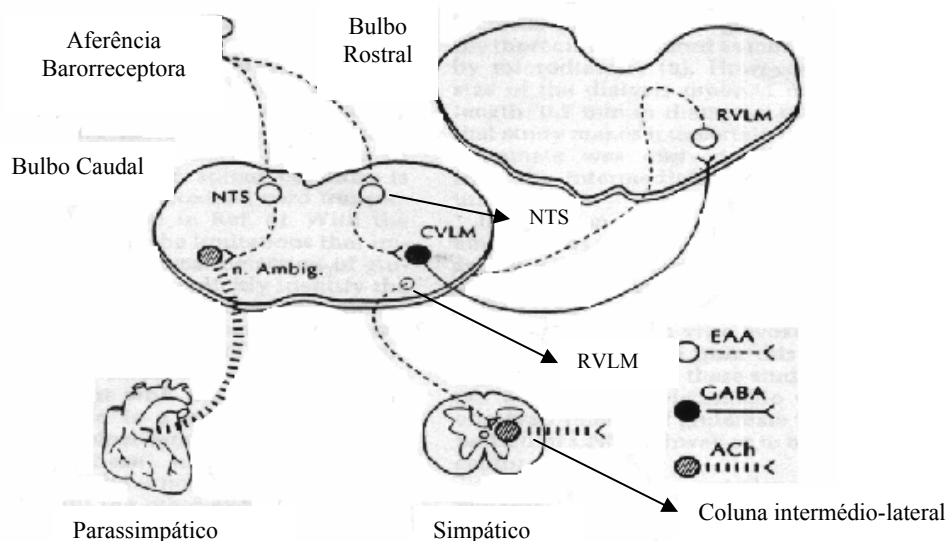


Figura 1- Representação esquemática das vias neurais e neurotransmissores envolvidos na resposta barorreflexa. A aferência barorreflexa projeta-se para o NTS. A regulação barorreceptora da atividade do nervo simpático envolve uma projeção excitatória para o CVLM que envia projeções inibitórias para o RVLM. A via de controle parassimpático envolve uma projeção excitatória do NTS para neurônios preganglionares vagais localizados no Núcleo Ambíguo. (EAA = aminoácido excitatório; GABA = Ácido γ -aminobutírico; Ach = acetilcolina. Modificado de Sved & Gordon, 1994)

O Bulbo Rostroventrolateral (RVLM) tem um importante papel na regulação da pressão arterial. Essa região possui uma população de neurônios retículo-espinhais que se projetam para os neurônios pré-ganglionares simpáticos da coluna intermédio-lateral (CIL) da medula espinhal e geram atividade excitatória tônica vasomotora (Dampney, 1994). A excitação de neurônios do RVLM através de microinjeção de aminoácido excitatório produz aumento na pressão arterial média através do aumento da atividade eferente simpática vasomotora (Maeda e cols., 1991).

O modelo de desnutrição protéica pós-desmame utilizado em nosso laboratório apresentou alterações no sistema cardiovascular (Tropia e cols., 2001; Oliveira e cols., 2004; Loss e cols., 2007; Martins, 2007; Alves, 2008) e aumento na atividade eferente simpática (Tropia e cols., 2001; Martins, 2007). Considerando que o RVLM possui neurônios geradores do tônus simpático vasomotor e que o L-glutamato parece ser o principal neurotransmissor excitatório dessa área decidimos então, estudar o perfil da curva de resposta pressora secundária à microinjeção de diferentes concentrações L-glutamato no RVLM de ratos acordados submetidos à desnutrição protéica.

2- OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

Avaliar a resposta pressora à microinjeção de L-glutamato no RVLM de ratos acordados submetidos à desnutrição protéica.

2.2 – Objetivo Específico

- Determinar as respostas pressoras promovidas por diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM a 100nM) microinjetados no RVLM.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Modelo Animal

Neste trabalho foram utilizados ratos Fischer, machos, fornecidos pelo Laboratório de Nutrição Experimental, Escola de Nutrição, UFOP-MG. Todos os procedimentos foram cuidadosamente realizados seguindo as normas recomendadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

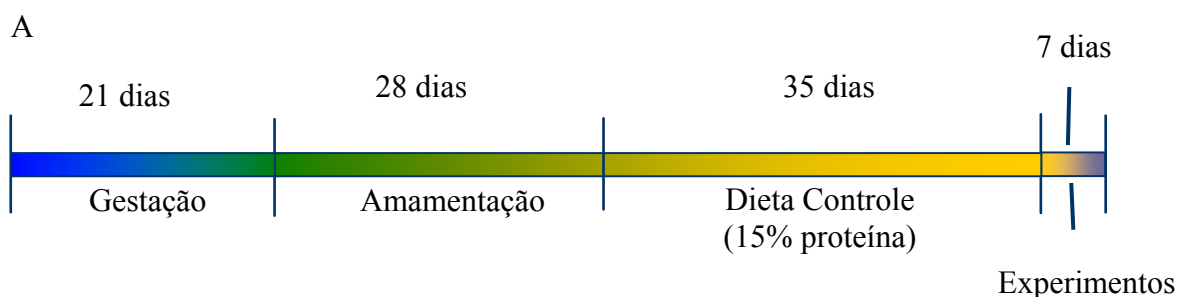
No acasalamento, duas fêmeas e um macho foram colocados em gaiolas plásticas de 47 x 33 x 15 cm. Após dez dias de acasalamento, os machos foram retirados e as fêmeas colocadas em gaiolas individuais. Durante o período de gestação os animais receberam ração comercial Socil ® e água filtrada *ad libitum*. Após o nascimento, as ninhadas foram manipuladas aleatoriamente de maneira a manter oito filhotes por fêmea. As fêmeas continuaram recebendo ração comercial e água e os filhotes foram amamentados durante 28 dias.

3.2 – Metodologia da Desnutrição

Após o desmame os machos da ninhada foram divididos em dois grupos:

- Controle: receberam dieta comercial contendo 15% de proteína (dieta controle) por 35 dias
- Desnutrido: receberam dieta semi-purificada com 6% de proteína (dieta de desnutrição) durante 35 dias.

Após o período de 35 dias recebendo dieta específica, os animais foram utilizados nos experimentos em, no máximo, 7 dias. Estes animais foram mantidos em ambiente com ciclo claro/escuro de 12 horas e mantidos à temperatura média de 22°C. Os cronogramas da metodologia de desnutrição estão representados na Figura 2 (A e B).



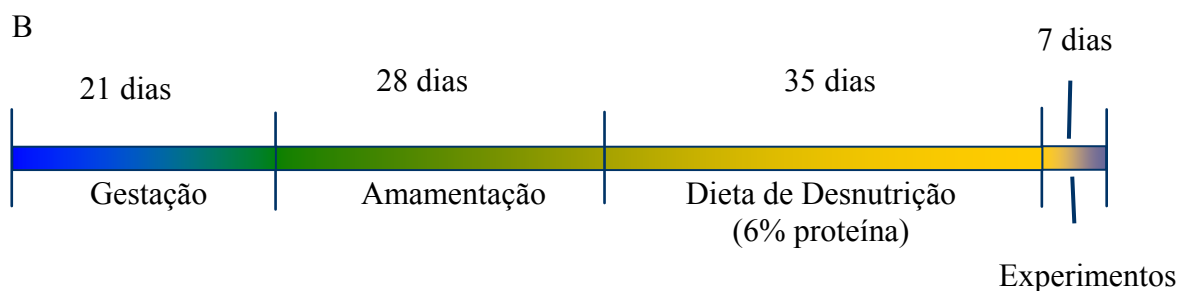


Figura 2 Cronograma da metodologia de desnutrição protéica. Após o nascimento os animais foram amamentados por um período de 28 dias. Em seguida, os animais foram divididos em dois grupos: controle (que recebiam dieta com 15% de proteína) e desnutrido (dieta com 6% de proteína) por um período de 35 dias. Após esse período os animais eram utilizados para experimentação.

3.3 – Composição Química das Dietas

As dietas utilizadas nos modelos experimentais diferiram apenas quanto ao teor protéico. A dieta do grupo controle foi ração comercial Socil® que apresentava 15% de proteína. A dieta para induzir a desnutrição apresentava 6% de proteína e foi preparada com elementos semi-purificados. A composição química das dietas está representada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição química das dietas (g/100g de ração).

	Controle	Desnutrido
Proteína (caseína)	15	6
Amido de Milho	70	79
Óleo de Soja	8	8
Sais Minerais ¹	5	5
Vitaminas ²	1	1
Fibra (Celulose)	1	1
Teor Calórico	422 Kcal	422 Kcal

¹Mistura de minerais (g/Kg de mistura): NaCl – 139,3 / KI – 0,79 / MgSO₄.7H₂O – 57,3 / CaCO₃ – 381,4 / MnSO₄.H₂O – 4,01 / FeSO₄.7H₂O – 27,0 / ZnSO₄.7H₂O – 0,548 / CuSO₄.5H₂O – 0,477 / CoCl₂.6H₂O – 0,023 / KH₂PO₄ – 389,0.

²**Mistura de vitaminas (g/Kg de mistura):** Acetato de retinol – 2.000.000IU / Colecalciferol – 200.000IU / Ácido p-aminobenzóico – 10,00 / I-Inositol – 10,00 / Niacina – 4,00 / Pantotenato de cálcio – 4,00 / Riboflavina – 0,80/ Tiamina HCl – 0,50 / Piridoxina HCl – 0,50 / Ácido fólico – 0,20 / Biotina – 0,04 / Vitamina B12 – 0,003 / Sacarose – q.s.p. 1000. / Colina – 200,0 / α -Tocoferol – 10.000IU.

3.4 – Canulação da Artéria Femoral:

No dia anterior aos experimentos, realizou-se a canulação da artéria femoral. A cânula utilizada foi confeccionada com tubos de polietileno PE-10 (Clay Adams, Parsipanny, NJ, EUA) com comprimento de 2,5 a 3,5 cm, soldado com outro tubo de polietileno PE-50 (Clay Adams, Parsipanny, NJ, EUA) com comprimento de 12 a 16 cm. Previamente à canulação, a cânula de polietileno foi preenchida com solução fisiológica e em seguida uma das suas extremidades livres foi obstruída com um pino metálico. Após ser realizada anestesia com Ketamina [0,1 mL/100 gramas de peso, via intra-muscular (i.m.), (Vetbrands, São Paulo, Brasil)] e Xilazina [0,02 mL/100 gramas de peso, via i.m., (Agener União, São Paulo, Brasil)], a cânula foi dirigida à aorta abdominal através da artéria femoral. Após implantação, a cânula foi introduzida no tecido subcutâneo do animal e exteriorizada no dorso e fixada por meio de fios de sutura.

Após a cirurgia os animais foram acondicionados em gaiolas individuais mantidas na sala de experimentos sob condições de temperatura, luminosidade e níveis de ruído controlados durante 24 horas para recuperação. Todos os experimentos foram realizados em ratos acordados e em livre movimentação.

A cânula posicionada na artéria foi utilizada para registro da pressão arterial pulsátil com derivações eletrônicas para registro da pressão arterial média e da frequência cardíaca.

3.5 – Registro da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

Antes de iniciar o registro, foi administrada salina heparinizada (1:40) na cânula implantada na artéria femoral com o intuito de impedir a formação de coágulos durante o experimento. A cânula arterial foi, então, conectada a um transdutor de pressão MLT0699 (ADInstruments, Austrália) ligado a um amplificador ETH-400 (CB

Sciences, Inc.). Este amplificador foi conectado a um conversor analógico digital PowerLab/400 (ADInstruments, Austrália). A transferência de dados entre o conversor e o computador foi feita por intermédio de uma placa SCISI onde o software *Chart for Windows*[®] gerava os registros de Pressão Arterial Pulsátil (PAP) a partir dos dados enviados pelo conversor analógico digital numa frequência de amostragem de 200 Hz. Os registros de pressão arterial média (PAM) e de frequência cardíaca (FC) foram derivados “on line” da PAP.

Depois de instrumentados os animais passaram por um período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares de 15 a 30 minutos, a partir daí foram iniciados os experimentos.

3.6 – Implante de cânulas-guia dirigida para o RVLM

Com o auxílio de um aparelho estereotáxico (Stoelting Co., Illinois, EUA), foram implantadas cânulas-guia em direção ao RVLM, por meio das quais realizaram-se as microinjeções. As cânulas-guia eram confeccionadas a partir de agulhas hipodérmicas (25 x 0,7 mm), tinham o comprimento de 15 mm e foram fixadas no suporte da torre do estereotáxico. Após ser anestesiado com Ketamina [0,1 mL/100 gramas de peso, via i.m., (Vetbrands, São Paulo, Brasil)] e Xilazina [0,02 mL/100 gramas de peso, via i.m., (Agener União, São Paulo, Brasil)], a região superior da cabeça do animal era tricotomizada e o mesmo era acomodado no aparelho estereotáxico e, por meio de duas barras auriculares, a cabeça do animal foi fixada. Em seguida, a região superior da cabeça foi anestesiada com lidocaína com vasoconstritor (Lidostesim 2%, São Paulo, Brasil), a fim de, minimizar o sangramento no local da incisão. A região superior do crânio foi exposta e tratada com solução salina 0,9% e água oxigenada para a limpeza completa da área. A torre do estereotáxico foi posicionada em angulação zero e a cabeça do animal ajustada até que os pontos Bregma e Lambda estivessem localizados no mesmo plano horizontal. Em seguida, foi realizada as leituras dos parâmetros ântero-posterior (AP), lateral (L) e dorso-ventral (DV), tomando-se como referência o Lambda. Com auxílio das informações de um atlas estereotáxico (Paxinos e Watson, 1986), determinamos os pontos de introdução de

cânulas guia e nestes foram realizadas trepanações na calota craniana utilizando-se de broca odontológica esférica acoplada a um motor de baixa rotação. Através dos orifícios produzidos pelas trepanações, foram introduzidas as cânulas-guia, atentando-se para que a extremidade inferior da cânula estivesse localizada 1 mm acima do limite dorsal da área a ser estudada. Os parâmetros utilizados para atingir o RVLM foram: -3,9 AP; $\pm 1,8$ L; -8,0 DV mm em relação ao Lambda para os animais do grupo controle e -2,9 AP; $\pm 1,7$ L; -7,0 DV mm para os animais do grupo desnutrido. Na seqüência, a cânula foi fixada utilizando-se de resina acrílica (Acrílico auto-polimerizante JET, São Paulo, Brasil) que, por sua vez, foi fixada no crânio por um pequeno parafuso de aço inoxidável. Em seguida à completa fixação das cânulas guia, retirou-se a torre do estereotático. Para evitar a obstrução das cânulas-guia, foi introduzido um mandril de aço inoxidável (do mesmo comprimento da cânula-guia) no interior de cada cânula, sendo então, o animal retirado do estereotático e acomodado novamente em caixas individuais. Como medida profilática, administramos após a cirurgia, 0,2 mL de Pentabiótico veterinário [160.000 U.I. /rato, via i.m., (Fort-Dodge, Campinas, SP, Brasil)].

3.7 – Microinjeções de L-Glutamato no RVLM

O L-glutamato foi diluído em solução salina 0,9% a fim de, obter uma solução com concentração de 100nM/50 nL. A partir dessa solução foram feitas várias diluições de forma a alcançar as seguintes concentrações: 10 nM, 1 nM, 100 pM, 10 pM, 1 pM, 100 fM, 10 fM, 1 fM. As microinjeções no RVLM foram feitas utilizando-se de uma seringa Hamilton de 1 μ L conectada a uma cânula injetora (30G curta, Unoject, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) por meio de um tubo de polietileno PE-10. A cânula-injetora utilizada foi de 2,0 a 2,5 mm mais longa que a cânula-guia com o intuito de que as microinjeções fossem realizadas exatamente no sítio pretendido. O volume microinjetado foi sempre de 50 nL.

3.8 – Protocolo Experimental

Durante os registros cardiovasculares, foram feitas microinjeções de diferentes concentrações de L-glutamato no RVLM com a finalidade de obter uma curva concentração-resposta.

Os animais eram mantidos por um período de estabilização dos parâmetros cardiovasculares de 15 a 30 minutos, a partir daí foram iniciados os experimentos. Cada animal recebeu apenas 3 concentrações diferentes de L-glutamato, a fim de reduzir os danos teciduais promovidos por múltiplas microinjeções. Conforme citado acima, diferentes tamanhos de cânula-injetora eram utilizadas na tentativa de alcançar a região RVLM. O intervalo de cada microinjeção era de 5 minutos e o volume microinjetado era sempre de 50 nL. Foi realizado o controle de volume com a microinjeção do veículo (salina 0,9%) no mesmo volume utilizado para as microinjeções de L-glutamato no RVLM de ratos controles e desnutridos.

O índice bradicárdico foi avaliado através da razão entre as variações máximas de frequência cardíaca (ΔFC) e de pressão arterial média (ΔPAM) observadas após a microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato no RVLM de ratos controles e desnutridos.

3.9 – Histologia:

Ao término do protocolo experimental foram realizadas microinjeções do corante Azul de Evans (em concentração de 2%) no mesmo sítio de microinjeção de L-glutamato, com o objetivo de determinar se a microinjeção ocorreu realmente no RVLM. Posteriormente, os animais foram anestesiados com Ketamina [0,1 mL/100 gramas de peso, via i.m., (Vetbrands, São Paulo, Brasil)] e Xilazina [0,02 mL/100 gramas de peso, via i.m., (Agener União, São Paulo, Brasil)] e então submetidos a uma toracotomia a fim de expor o coração do animal. Através de punção cardíaca, o animal foi perfundido com solução salina (em concentração de 0,9 %) seguida de solução de formalina 10%. Após um tempo de perfusão satisfatório retirou-se o cérebro do animal, o qual foi fixado em solução de formol tamponado 10% por um período de 48 horas. Em seguida a região do bulbo foi colocada em um aparelho Criostato (Leica CM 1850,

Alemanha) sendo então congelada a uma temperatura média de -24°C. O material foi seccionado transversalmente em fatias de 40 µm de espessura. Os cortes histológicos receberam coloração de Vermelho Neutro com posterior visualização em microscópio óptico. Através da coloração histológica e da microscopia óptica verificamos se o sítio de microinjeção pretendido foi realmente atingido. Apenas os animais cujos cortes histológicos analisados pela microscopia óptica apresentaram o correto sítio de microinjeção foram considerados na análise de resultados.

3.10 – Análise Estatística

Os resultados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média. Os dados obtidos foram submetidos ao teste-t de *Student*. O nível de significância foi fixado em 5%.

4 – RESULTADOS

4.1 – Efeito da Desnutrição sobre o Peso Corporal dos Ratos

O protocolo empregado para indução da desnutrição em ratos foi a redução do teor protéico da dieta oferecida aos animais logo após o desmame. No nosso experimento essa redução foi de 60%, ou seja, os animais do grupo controle receberam uma dieta contendo 15% de proteína enquanto que os animais do grupo desnutrido receberam uma dieta contendo apenas 6% de proteína. A figura 3 e tabela 2 (apêndice) demonstram o efeito da dieta sobre o peso corporal médio dos dois grupos de animais estudados. Observa-se que a dieta hipoprotéica oferecida aos animais do grupo desnutrido durante 35 dias foi eficiente em reduzir o peso corporal desses animais em relação aos animais do grupo controle ($78,0 \pm 3,6$ g vs. $256,3 \pm 7,72$ g).

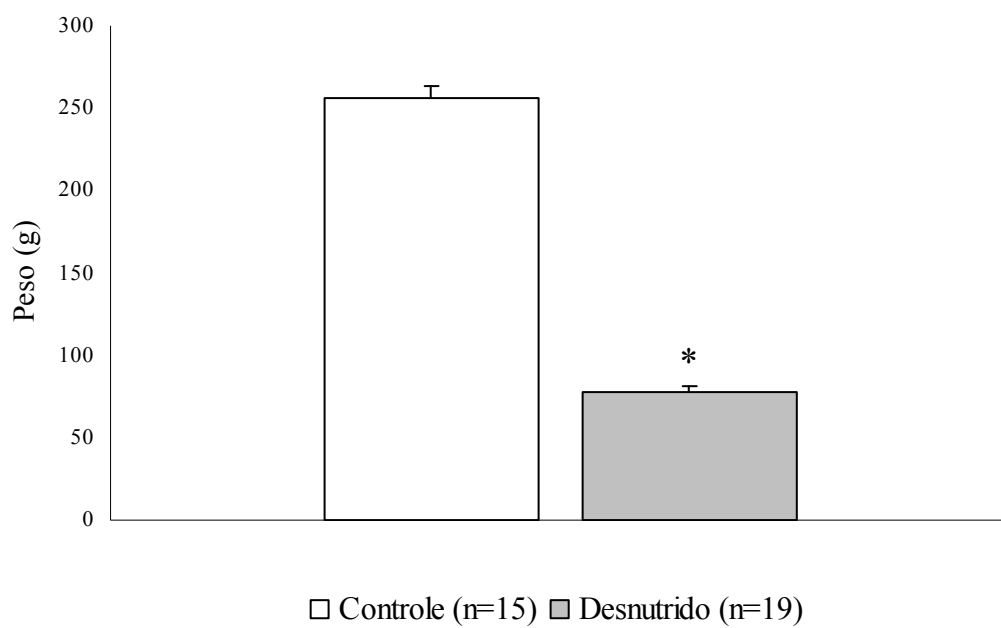


Figura 3 - Efeito da dieta sobre o peso corporal (g) de ratos controle (barra branca) e desnutrido (barra cinza) 35 dias após o desmame (* = Diferente do controle; $p < 0,05$).

4.2 – Efeito da Desnutrição sobre a FC e PAM Basais

As análises da pressão arterial média e da frequência cardíaca foi feita empregando-se um intervalo de tempo médio de 10 minutos. Os níveis basais de frequência cardíaca (FC) do grupo desnutrido ($412,18 \pm 16,03$ bpm) foram significativamente diferentes dos animais do grupo controle ($370,74 \pm 9,59$ bpm). A pressão arterial média (PAM) não apresentou diferença significativa entre o grupo desnutrido e o grupo controle ($109,24 \pm 4,74$ vs. $108,58 \pm 2,87$ mmHg), respectivamente. Estes resultados podem ser visualizados na figura 4 e nas tabelas 3 e 4 (apêndice).

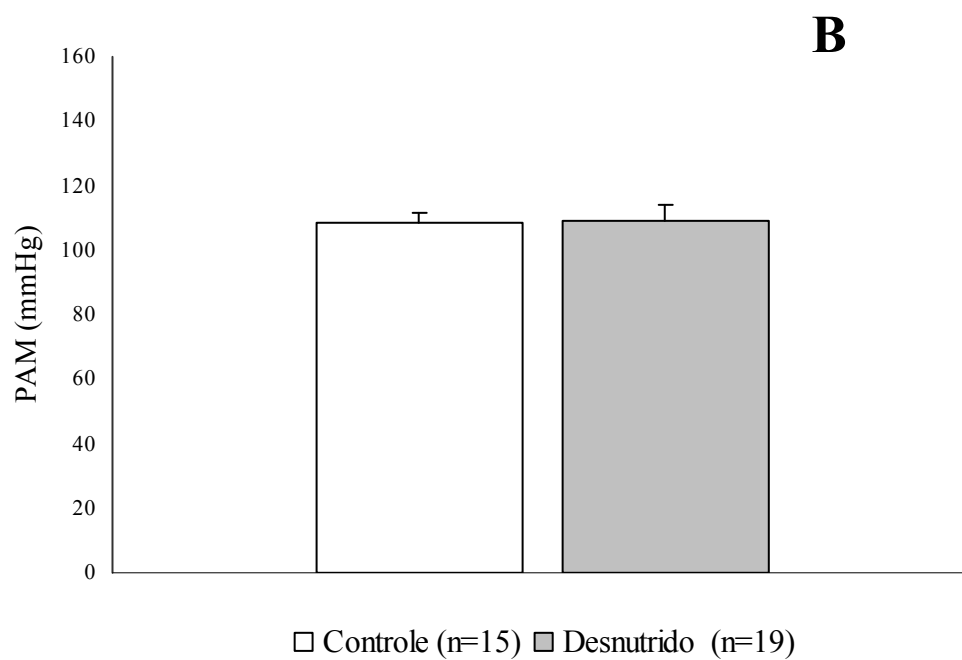
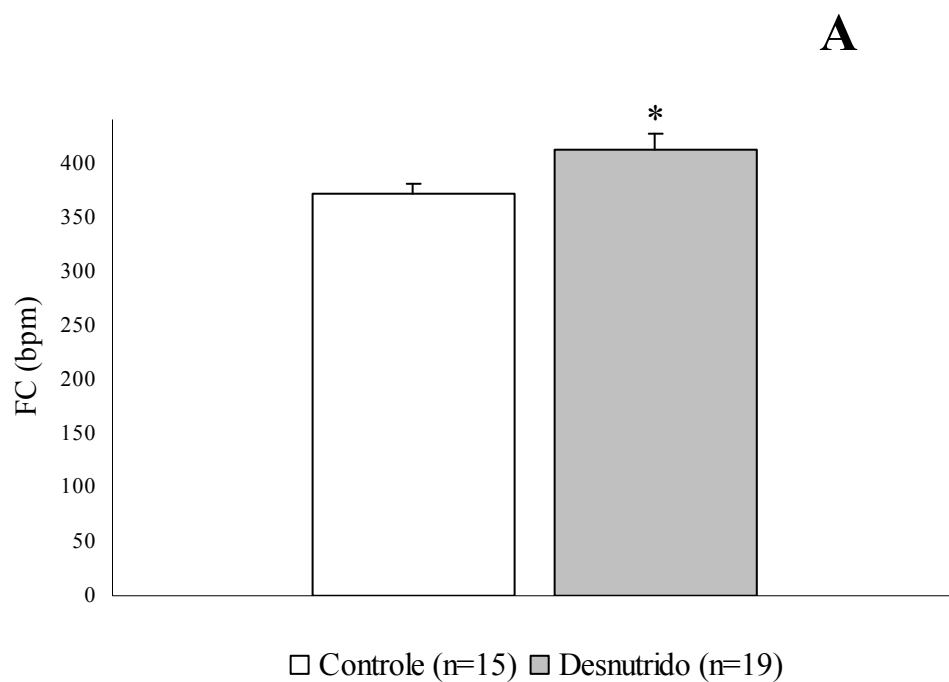


Figura 4 – Níveis basais de frequência cardíaca (FC (bpm) – Painel A) e pressão arterial média (PAM (mmHg) – Painel B) de ratos controle (barra branca) e desnutridos (barra cinza) 35 dias após o desmame. (* = Diferente do controle; $p < 0,05$).

4.3 – Efeito de Diferentes Concentrações de L-glutamato Microinjetados no RVLM sobre a Pressão Arterial

Para determinarmos os efeitos do L-glutamato sobre a resposta pressora dos diferentes grupos estudados foram utilizadas nove concentrações diferentes desse aminoácido excitatório (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM).

A figura 5 ilustra os resultados obtidos após a microinjeção das diferentes doses de L-glutamato no RVLM de animais desnutridos e controles, onde observamos as seguintes respostas: 1 fM: $8,35 \pm 0,95$ (n = 2) vs. $6,3 \pm 1,4$ mmHg (n = 2); 10 fM: $16,025 \pm 2,19$ (n = 4) vs. $6,13 \pm 3,03$ mmHg (n = 3); 100 fM: $20,66 \pm 4,12$ (n = 3) vs. $7,57 \pm 1,64$ mmHg (n = 4); 1 pM: $14,23 \pm 3,07$ (n = 3) vs. $16,23 \pm 4,43$ mmHg (n = 3); 10 pM: $12,32 \pm 4,9$ (n = 4) vs. $8,45 \pm 2,05$ mmHg (n = 4); 100 pM: $21,02 \pm 5,39$ (n = 5) vs. $8,7 \pm 2,23$ mmHg (n = 3); 1 nM: $18,6 \pm 0,72$; (n = 5) vs. $30,6 \pm 1,25$ mmHg (n = 3); 10 nM: $23,92 \pm 3,11$ (n = 4) vs. $32,24 \pm 5,3$ mmHg (n = 5); 100 nM: $24,8 \pm 4,68$ (n = 4) vs. $36,43 \pm 7,15$ mmHg (n = 3), respectivamente. A resposta pressora obtida com as concentrações de 10 fM e 100 fM foram significativamente mais elevadas nos animais do grupo desnutrido em relação aos animais do grupo controle. A concentração de 1 nM produziu uma resposta inversa, ou seja, a resposta pressora dos animais do grupo controle foi significativamente maior em relação a resposta do grupo desnutrido. Os dados referentes aos experimentos aqui descritos podem ser observados nas tabelas 5 e 6 (apêndice). O efeito do volume sobre a resposta pressora foi avaliado em um determinado grupo de ratos controles e desnutridos através da microinjeção de 50 nL de salina 0,9% e observou-se que tal volume não produziu nenhuma resposta pressora.

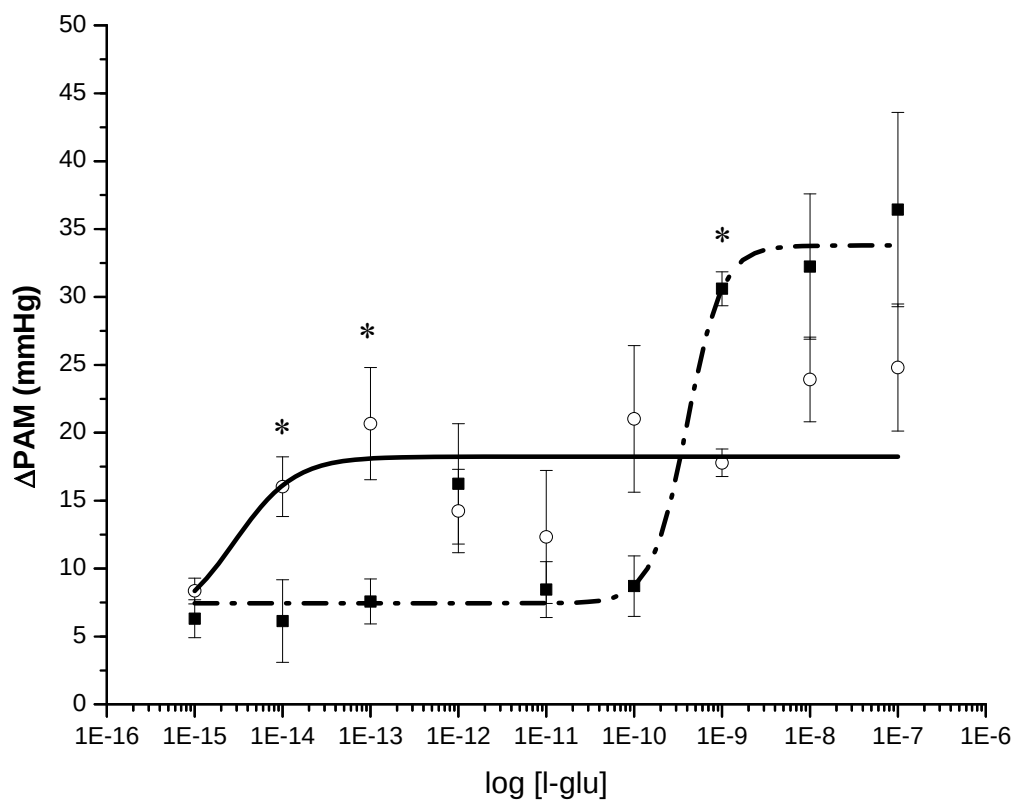


Figura 5 – Curva concentração-resposta (mmHg) obtida através da microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100nM) no RVLM de ratos controle (linha pontilhada, n=15) e desnutridos (linha sólida, n=19). (* = Diferente do controle; $p < 0,05$).

4.4 – Índice Bradicárdico à Microinjeção de Diferentes Concentrações de L-glutamato no RVLM

Analizamos o índice bradicárdico nos dois grupos de animais estudados em todas as concentrações empregadas no nosso estudo. Os valores encontrados nos animais desnutridos em comparação aos animais controle foram: 1 fM: $2,52 \pm 0,42$ (n = 2) vs. $8,05 \pm 1$ bpm/mmHg (n = 2); 10 fM: $2,23 \pm 0,06$ (n = 4) vs. $5,37 \pm 2,24$ bpm/mmHg (n = 3); 100 fM: $2,32 \pm 0,69$ (n = 3) vs. $3,91 \pm 0,94$ bpm/mmHg (n = 4); 1 pM: $8,08 \pm 1,79$ (n = 3) vs. $6,23 \pm 2,32$ bpm/mmHg (n = 3), 10 pM: $5,18 \pm 1,04$ (n = 4) vs. $2,97 \pm 0,63$ bpm/mmHg (n = 4); 100 pM: $4,17 \pm 1,06$ (n = 5) vs. $2,65 \pm 0,86$ bpm/mmHg (n = 3); 1 nM: $2,93 \pm 0,87$ (n = 5) vs. $2,61 \pm 1,47$ bpm/mmHg (n = 3); 10 nM: $2,18 \pm 0,72$ (n = 4) vs. $2,60 \pm 0,69$ bpm/mmHg (n = 5); 100 nM: $1,13 \pm 0,30$ (n = 4) vs. $3,05 \pm 0,55$ bpm/mmHg (n = 3), respectivamente. Observamos que a modulação do índice bradicárdico dos animais do grupo desnutrido foi diferente (figura 6). As concentrações de 1 fM, 10 fM e 100 fM promoveram respostas pressoras associadas a um menor índice bradicárdico nos animais desnutridos em relação aos controles (figura 7). Entretanto, as concentrações mais elevadas de L-glutamato (1 pM, 10 pM, 100 pM) promoveram respostas pressoras associadas a um aumentado índice bradicárdico nos ratos desnutridos em relação aos controles (figura 8). Os dados referentes aos protocolos descritos aqui podem ser observados nas tabelas 7 e 8 do apêndice.

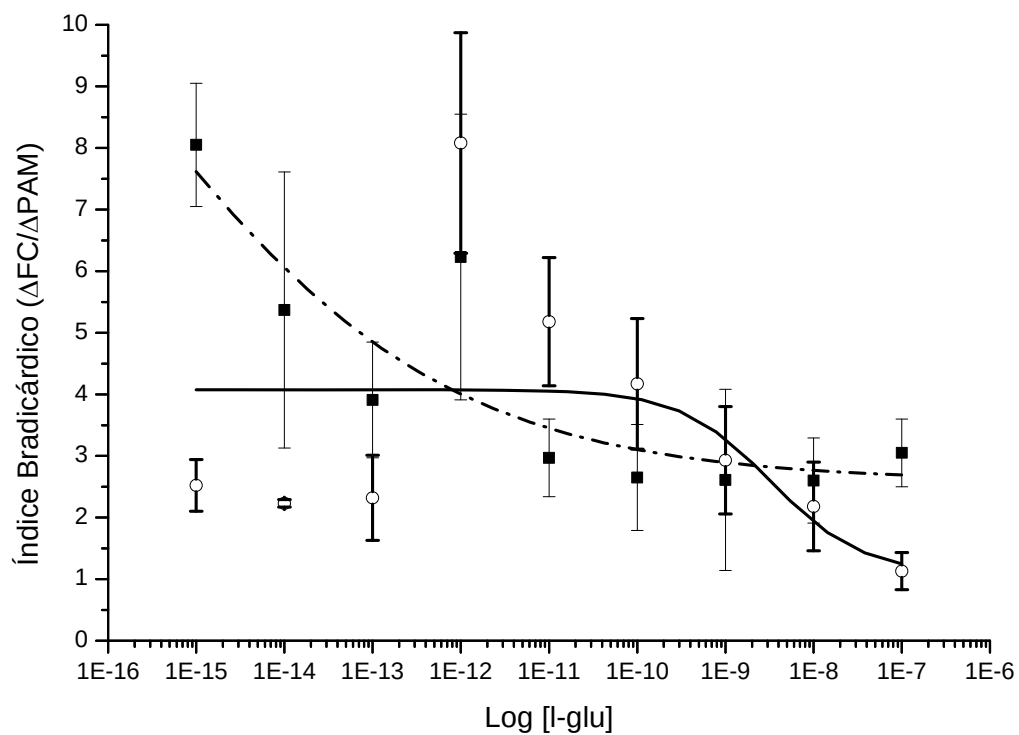


Figura 6 – Índice bradicárdico ($\Delta FC/\Delta PAM$, em bpm/mmHg) associado às respostas pressoras promovidas pela microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos controle (linha pontilhada, n=15) e desnutridos (linha sólida, n=19).

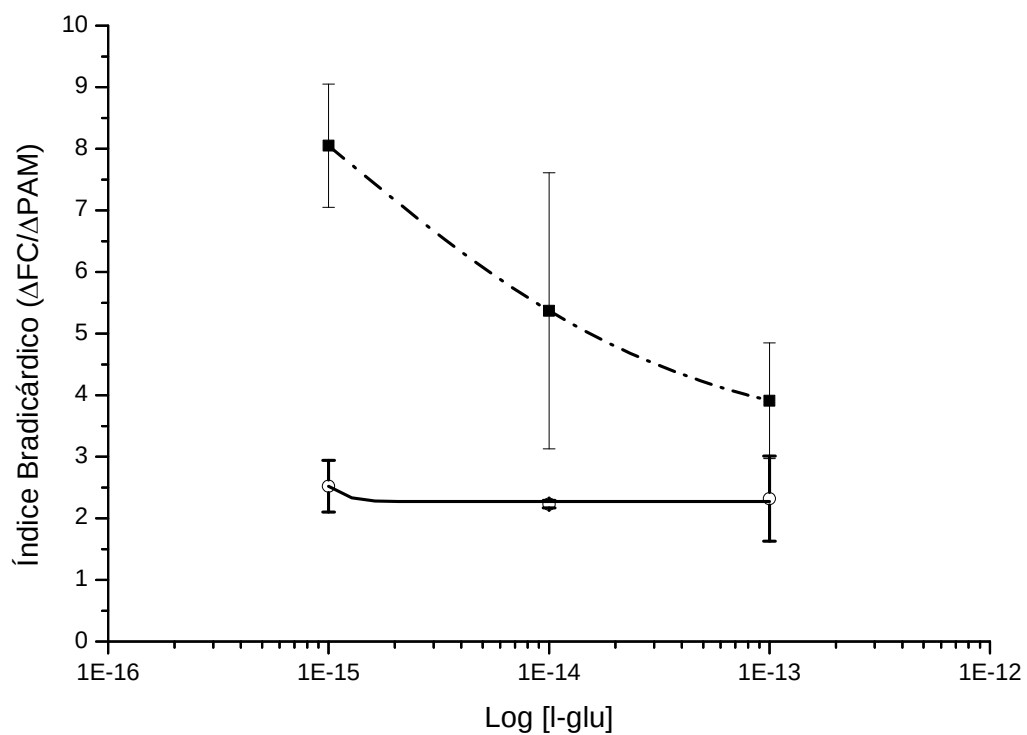


Figura 7 – Índice bradicárdico ($\Delta FC/\Delta PAM$, em bpm/mmHg) associado às respostas pressoras promovidas pelas microinjeções de baixas concentrações de L-glutamato (1fM, 10 fM, 100 fM) no RVLM de ratos controle (linha pontilhada, n=15) e desnutridos (linha sólida, n=19).

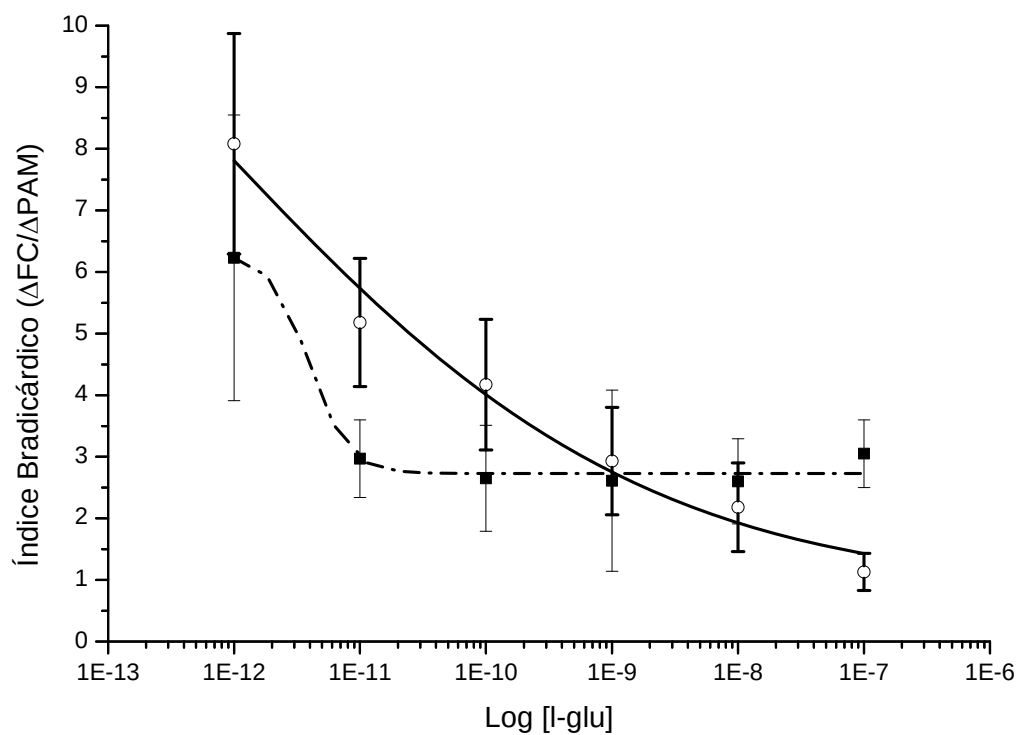


Figura 8 – Índice bradicárdico ($\Delta FC/\Delta PAM$, em bpm/mmHg) associado às respostas pressoras secundárias a microinjeções de altas concentrações de L-glutamato (1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos controle (linha pontilhada, n=15) e desnutridos (linha sólida, n=19).

4.5 – Análise da Linha de Base da Pressão Arterial Média

Com a finalidade de avaliar as diferenças observadas nas respostas pressoras à microinjeção de L-glutamato entre os grupos controle e desnutrido, aferimos os níveis de pressão arterial basal imediatamente antes da microinjeção de L-glutamato no RVLM. Os valores encontrados nos animais desnutridos e controles foram: 1 fM: $100,6 \pm 11,1$ (n = 2) vs. $135,15 \pm 20,15$ mmHg (n = 2); 10 fM: $110,78 \pm 7,25$ (n = 4) vs. $98,83 \pm 9,44$ mmHg (n = 3); 100 fM: $116,83 \pm 6,95$ (n = 3) vs. $102,18 \pm 6,22$ mmHg (n = 4); 1 pM: $117,33 \pm 6,65$ (n = 3) vs. $122,27 \pm 11,67$ mmHg (n = 3); 10 pM: $107,95 \pm 4,77$ (n = 4) vs. $97,75 \pm 4,30$ mmHg (n = 4); 100 pM: $115,58 \pm 5,48$ (n = 5) vs. $113,7 \pm 4,92$ mmHg (n = 3); 1 nM: $115,3 \pm 10,81$ (n = 5) vs. $104,40 \pm 4,36$ mmHg (n = 3); 10 nM: $94,43 \pm 4,97$ (n = 4) vs. $99,58 \pm 4,65$ mmHg (n = 5); 100 nM: $98,38 \pm 2,81$ (n = 4) vs. $121,27 \pm 5,88$ mmHg (n = 3). Observamos diferenças significativa entre os grupos analisados apenas, imediatamente antes da microinjeção da concentração de 100 nmol. Estes resultados podem ser observados na figura 9 e nas tabelas 9 e 10 (apêndice).

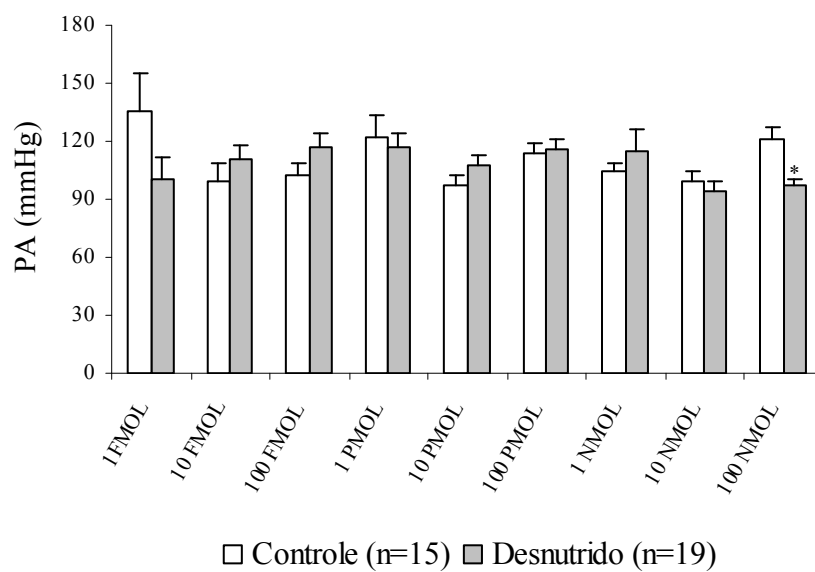


Figura 9 - Valores da linha de base da pressão arterial (PA – mmHg) imediatamente antes das microinjeções de diferentes concentrações de L-glutamato no RVLM de ratos controle (barra branca) e desnutridos (barra cinza).(* = Diferente do controle; $p < 0,05$).

4.6 – Análise do Pico da Resposta Pressora Promovido por Microinjeção de Diferentes Concentrações de L-glutamato no RVLM

O pico da resposta pressora após a microinjeção de L-glutamato no RVLM também foi analisada no nosso estudo. Os valores obtidos nos animais do grupo desnutrido em relação aos do grupo controle foram: 1fM: $111,15 \pm 11,75$ (n = 2) vs. $141,45 \pm 22,25$ mmHg (n = 2); 10 fM: $125,53 \pm 9,10$ (n = 4) vs. $105,27 \pm 8,11$ mmHg (n = 3); 100 fM: $135,57 \pm 11,21$ (n = 3) vs. $111,65 \pm 9,21$ mmHg (n = 4); 1 pM: $125,3 \pm 9,17$ (n = 3) vs. $138,43 \pm 15,58$ mmHg (n = 3); 10 pM: $121,55 \pm 9,14$ (n = 4) vs. $113,73 \pm 7,02$ mmHg (n = 4); 100 pM: $140,24 \pm 7,76$ (n = 5) vs. $121,93 \pm 6,22$ mmHg (n = 3); 1 nM: $133,64 \pm 10,58$ (n = 5) vs. $135,33 \pm 3,99$ mmHg (n = 3); 10 nM: $124,3 \pm 5,27$ (n = 4) vs. $133,28 \pm 8,3$ mmHg (n = 5); 100 nM: $125,15 \pm 5,8$ (n = 4) vs. $163,23 \pm 11,56$ mmHg (n = 3). Não houve diferença significativa entre os grupos analisados. A figura 10 e as tabelas 9 e 10 (apêndice) ilustram esses resultados.

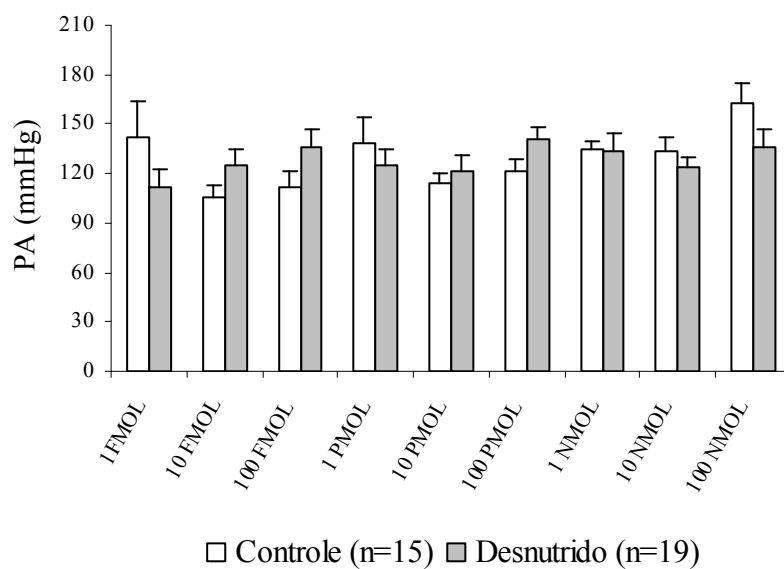


Figura 10 – Pico de resposta pressora (PA máx – mmHg) após microinjeções de diferentes concentrações de L-glutamato no RVLM de ratos controle (barra branca) e desnutridos (barra cinza).

4.7 - Sítio de Microinjeção de Diferentes Doses de L-glutamato no RVLM

Ao término do protocolo experimental foram realizadas microinjeções do corante Azul de Evans (em concentração de 2%) no mesmo sítio de microinjeção de L-glutamato. Somente os animais cujas microinjeções foram feitas no RVLM foram considerados positivos. A figura 11 apresenta fotomicrografias de cortes coronais do bulbo de um animal representativo do grupo controle (painel A) e do grupo desnutrido (painel B), mostrando os sítios de microinjeções de L-glutamato no RVLM.

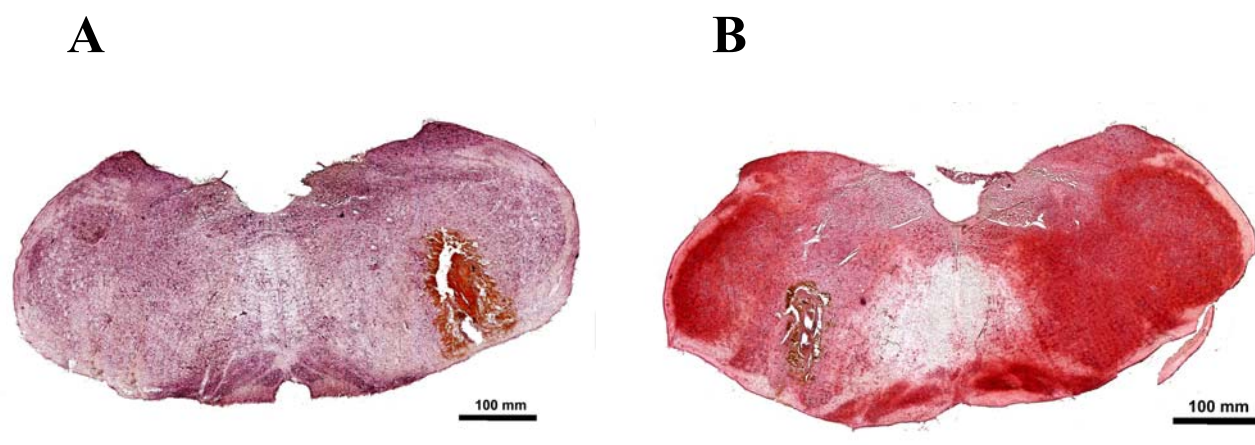


Figura 11 - Fotomicrografia do bulbo de um animal representativo do grupo controle (A) e do grupo desnutrido(B). Aumento de 5x.

5 - DISCUSSÃO

A desnutrição é a mais importante doença nutricional nos países em desenvolvimento em virtude de sua alta prevalência e sua relação com as taxas de mortalidade infantil (*World Health Organization*, 2007). Caracteriza-se pela existência de um desequilíbrio celular entre o fornecimento de nutrientes e a demanda corporal para assegurar o crescimento e funções específicas (Sawaya e cols., 2003).

A experimentação animal tem sido muito utilizada no intuito de elucidar os mecanismos fisiopatológicos da desnutrição (Giacomelli & Marçal-Natali, 1999). O protocolo de desnutrição empregado no presente estudo foi realizado através da redução protéica na dieta oferecida aos animais logo após o desmame. Outros estudos feitos em nosso laboratório também têm utilizado essa metodologia (Martins, 2007; Loss e cols., 2007; Oliveira e cols., 2004; Tropia e cols., 2001) e esse protocolo assemelha-se aos métodos utilizados em outros trabalhos da literatura (Agarwal e cols., 1981; Ferreira e cols., 2003; Lukoyanov & Andrade, 2000). Todos os nossos experimentos foram realizados em ratos acordados e em livre movimentação para evitarmos possíveis interferências de anestésicos (Bachelard e cols., 1990; Machado & Bonagamba, 1992; Sakima e cols., 2000).

No presente estudo, a desnutrição protéica pós-desmame oferecida aos animais por um período de 35 dias, resultou em uma significativa redução no peso corporal e aumento na frequência cardíaca basal. Os níveis da pressão arterial média basal foram semelhantes em ambos os grupos analisados. A resposta pressora à microinjeção de L-glutamato no RVLM de ratos desnutridos apresentou-se aumentada quando baixas concentrações foram utilizadas (10 fM e 100 fM) e diminuída após microinjeção de 1 nM. As demais concentrações (1 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 10 nM, 100 nM) não promoveram respostas diferentes entre os grupos experimentais. A avaliação do índice bradicárdico dos ratos desnutridos também mostrou-se diferente quando comparados com os controles, estando diminuído após microinjeções de baixas concentrações (1 fM, 10 fM, 100 fM) e aumentado após microinjeções de concentrações mais elevadas (1 pM, 10 pM, 100 pM).

Em nosso estudo, a dieta hipoprotéica oferecida aos animais por um período de 35 dias, foi eficiente em induzir a desnutrição, pois observamos uma redução de 68% no peso corporal dos animais que consumiram essa dieta (figura 3). Essa diminuição do peso corporal é utilizada como um indicador básico da condição de desnutrição (Lucas, 1998). Outros trabalhos utilizando o rato como modelo experimental também têm relatado o déficit no peso corporal promovido pela desnutrição (Zucoloto e cols., 1975; Kim e cols., 1994; Oliveira e cols., 2004). Em humanos, a desnutrição nas fases iniciais da vida leva a um crescimento deficiente, ou seja, as crianças são mais baixas e pesam menos que deveriam para a sua idade. Em animais também observa-se um prejuízo no desenvolvimento, com depleção de massa muscular e diminuição do peso (Winick & Noble, 1966). Portanto, os nossos resultados estão de acordo com outros trabalhos na literatura mostrando que a dieta oferecida foi eficiente em promover a desnutrição (Winick & Noble, 1966; Zucoloto e cols., 1975; Kim e cols., 1994; Oliveira e cols., 2004; Martins, 2007)

As doenças cardiovasculares podem originar de perturbações do desenvolvimento durante a vida fetal e a infância (Barker e cols., 1993). Em nosso estudo, a frequência cardíaca basal dos ratos desnutridos foi significativamente maior que dos ratos controles (figura 4, painel A). Trópia e colaboradores (2001), empregando o mesmo protocolo de desnutrição, não encontrou diferença significativa entre os valores basais da frequência cardíaca. No entanto, ao administrar um bloqueador α_1 -adrenérgico observou um aumento da atividade simpática vasomotora. Martins (2007) demonstrou um aumento no tônus simpático e diminuição da participação parassimpática nos ratos desnutridos quando comparados aos controles. Neste estudo, a análise da variabilidade da FC no domínio da frequência demonstrou um predomínio do tônus simpático sobre o parassimpático, pois a relação LF/HF dos animais desnutridos se mostrou aumentada em relação ao controle. Outros trabalhos da literatura também demonstraram que a desnutrição protéica promove aumento da atividade simpática e diminuição da atividade parassimpática (Young e cols., 1985; Leon-quinto e cols., 1998). Esse desbalanço autonômico pode ser responsável por essa elevação da frequência cardíaca encontrada no presente estudo.

O Bulbo Rostroventrolateral (RVLM) é o sítio onde se localizam os neurônios retículo-espinhais geradores do tônus simpático vasomotor (Guyenet & Koshiya, 1992).

O aminoácido excitatório, L-glutamato parece ser o principal neurotransmissor do RVLM (Talman e cols., 1980) e sua aplicação nessa região estimula os neurônios bulbo-espinhais, resultando em aumento da pressão arterial média (Bachelard, e cols., 1990; Martins-Pinge e cols., 2007). Desta forma, o RVLM constitui importante área do sistema nervoso central no controle da função cardiovascular. Vários trabalhos têm mostrado que a desnutrição pode promover alterações no sistema nervoso central (Egwim e cols., 1986; Pedrosa & Moraes-Santos, 1987; Morgane e cols., 2002; Lukoyanov & Andrade, 2000; Plagemann e cols., 2000). Com base nos impactos da desnutrição sobre a função de diversas regiões do SNC, decidimos verificar se a desnutrição afetaria a neurotransmissão glutamatérgica do RVLM.

A análise da linha de base da pressão arterial média (figura 9) referente ao valor da pressão arterial imediatamente anterior à microinjeção de L-glutamato no RVLM, não apresentou qualquer diferença significativa entre os grupos estudados. Avaliamos também o pico de resposta pressora (figura 10) obtida após à microinjeção de L-glutamato. Esses valores também não apresentaram diferença significativa entre os grupos estudados, com exceção da concentração de 100 nM. A análise desses dados demonstram que a diferença da resposta pressora obtida após microinjeção de L-glutamato no RVLM não podem ser explicadas pela diferença na linha de base da pressão arterial média ou pelo pico de resposta pressora observado após a microinjeção de L-glutamato.

O barorreceptor arterial representa um mecanismo homeostático cardiovascular que mantém a pressão arterial média dentro dos níveis normais através de alterações no débito cardíaco de acordo com as demandas teciduais (Machado e cols., 1997; Machado, 2001). A ativação do barorreflexo produz parassimpato-excitação e simpato-inibição para neutralizar alterações produzidas por um aumento da pressão arterial (Machado e cols., 1997; Machado, 2001). Os sistemas simpático e parassimpático contribuem para alterações cardiovasculares subsequentes à ativação do barorreflexo (Loewy, 1990). No presente estudo, o índice bradicárdico foi avaliado dividindo a alteração máxima da frequência cardíaca (ΔFC) pela variação máxima da pressão arterial média (ΔPAM) produzidas pela microinjeção das diferentes concentrações de L-glutamato empregadas (figura 6). As concentrações de 1 fM, 10 fM e 100 fM

produziram respostas menores nos animais submetidos à desnutrição protéica (figura 7), embora as concentrações de 10 fM e 100 fM de L-glutamato tenham produzido resposta pressora significativamente mais elevadas nos ratos desnutridos comparados aos controles (figura 5). As concentrações de (1 pM, 10 pM, 100 pM) promoveram um aumento no índice bradicárdico nos animais desnutridos em relação aos controles (figura 8). Os dados encontrados no nosso estudo sugerem alterações na neurotransmissão glutamatérgica do barorreflexo no RVLM. Loss e colaboradores (2007) demonstraram que os animais desnutridos apresentam o índice de ganho do barorreflexo afetado em resposta a ativação e desativação do barorreflexo arterial (Loss e cols., 2007), corroborando os dados do presente estudo.

As respostas pressoras obtidas após microinjeções de diferentes concentrações de L-glutamato podem ser visualizados na figura 5. A concentração de 1 fM não foi capaz de promover aumento da pressão arterial média em ambos os grupos. Esta observação provavelmente deve-se ao fato de que as alterações promovidas na atividade simpática após a microinjeção dessa concentração no RVLM, foram prontamente compensadas pela atividade barorreceptora, não sendo portanto detectadas durante o registro. Vale ressaltar que embora a concentração de 1 fM seja a menor utilizada neste estudo, provavelmente é uma concentração muito maior que a liberada fisiologicamente nas sinapses glutamatérgicas do RVLM. As concentrações de 10 fM e 100 fM promoveram respostas pressoras maiores nos ratos desnutridos em relação aos controles. Porém, a resposta pressora obtida após microinjeção de 1 nM de L-glutamato foi significativamente maior nos ratos controles. As demais concentrações não resultaram em resposta pressora diferente entre os grupos analisados. Embora não tenhamos encontrado outros trabalhos na literatura sobre análise da relação concentração-resposta em modelos de desnutrição pós desmame, podemos considerar outros estudos que analisaram os efeitos pressores do L-glutamato microinjetado no RVLM de ratos. Tsuchihashi e colaboradores (1994) observaram que as respostas cardiovasculares após microinjeção de agonistas de L-glutamato eram aumentadas em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), o que segundo os autores, poderiam contribuir para a gênese e manutenção da pressão arterial em níveis elevados. Resultados opostos foram encontrados em ratos Dahl sensíveis ao sal: nesses animais a microinjeção de L-glutamato não promoveu resposta pressora aumentada sugerindo

que, a hipertensão arterial induzida pelo sódio, não está associada com a responsividade elevada ao L-glutamato no RVLM desses animais (Tsuchihashi e cols., 1997). Entretanto, esses estudos foram realizados em animais anestesiados, condição que pode alterar as respostas cardiovasculares. Diversos estudos apontam para a possibilidade da participação do óxido nítrico, pois quando produzido no RVLM pode influenciar os elementos neurais que regulam as funções cardiovasculares (Patel & Hirooka, 2001). Martins-Pinge e colaboradores (1999) mostraram que a resposta pressora promovida pela microinjeção de L-glutamato no RVLM foi significativamente reduzida após microinjeção de inibidor da enzima guanilato-ciclase, indicando que a neurotransmissão glutamatérgica pode ser influenciada pelo óxido nítrico. Outro estudo demonstra ainda que o óxido nítrico no RVLM pode participar na modulação das ações do L-glutamato através das diferentes enzimas que o sintetizam, óxido nítrico sintase neuronal e óxido nítrico sintase induzível (Martins-Pinge e cols, 2007).

Sabe-se que as vias simpato-inibitórias envolvem uma projeção excitatória do NTS para a região caudoventrolateral do bulbo (CVLM) e uma projeção inibitória do CVLM para o RVLM (Guyenet & Koshiya, 1992). Podemos também sugerir alterações na projeção inibitória do CVLM para o RVLM nos ratos desnutridos. Estudo feito em animais SHR observou que a resposta depressora promovida pela microinjeção de ácido gama amino-buitírico (GABA) era reduzida nos ratos SHR quando comparada a ratos Wistar-Kyoto, sugerindo uma elevação da resposta pressora envolvendo o RVLM (Kubo e cols., 1986). Além disso, Agarwal e colaboradores (1981) demonstraram que os níveis de neurotransmissores GABA eram diminuídos em ratos desnutridos, o que também pode colaborar para a diminuição do efeito inibitório do CVLM sobre o RVLM. Todos os estudos acima descritos mostram que os distúrbios na atividade do RVLM parecem ser determinantes para alterações da homeostase cardiovascular.

Torna-se necessário também, considerar o impacto da deficiência nutricional na quantidade de neurotransmissores no sistema nervoso central. Os neurotransmissores serotoninérgicos, dopaminérgicos, noradrenérgicos e seus metabólitos são alterados em diversas regiões do cérebro em diferentes fases pós-demame, em ratos submetidos à desnutrição intra-uterina (Chen e cols., 1997 e 1992). Estudos avaliando o efeito da deficiência de tiamina no cérebro de ratos demonstraram que a deficiência dessa vitamina promove diminuição de cerca de 18% na concentração de L-glutamato no cérebro de

ratos desnutridos (Page e cols., 1989). Ainda, com relação à neurotransmissão GABAérgica, Almeida e colaboradores (1996) demonstraram uma reatividade diminuída dos receptores centrais benzodizepina-GABA. Portanto, parece evidente que a desnutrição altera os níveis de neurotransmissores no SNC, bem como sua liberação, recaptação, expressão e sensibilidade dos receptores.

Desta forma, o presente estudo sugere que a desnutrição protéica pós-desmame afeta a neurotransmissão glutamatérgica nas vias do barorreflexo ao nível do RVLM. Os mecanismos responsáveis por tais alterações permanecem por ser elucidados em estudos posteriores.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL K.N., PRASAD C. & TANEJA V. (1981) Protein deprivation and the brain: effect on enzymes and free amino acids related to glutamate metabolism in rats. *Ann.Nutr.Metab* **25**, 228-233.
- ALMEIDA S.S., TONKISS J. & GALLER J.R. (1996) Malnutrition and reactivity to drugs acting in the central nervous system. *Neurosci.Biobehav.Rev* **20**, 389-402.
- ALVES A.M., FERNANDES L. G. & Chianca-Jr. D.A. (2007) Avaliação da DP/DT ventricular esquerda em ratos anestesiados submetidos a dieta hipoprotéica. In: XXII Reunião Anual da FESBE, 2007, Águas de Lindóia. XXII Reunião Anual da FESBE - CD, p. 15.204.
- BACHELARD H., GARDINER S.M. & BENNET T. (1990) Cardiovascular responses elicited by chemical stimulation of the rostral ventrolateral medulla in conscious, unrestrained rats. *J. Auton Nerv Syst.* **31**, 185-190.
- BARKER D.J., BULL A.R., OSMOND C. & SIMMONDS S.J. (1990) Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ* **301**, 259-262.
- BARKER D.J. & CLARK P.M. (1997) Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev.Reprod.* **2**, 105-112.
- BARKER D.J., GLUCKMAN P.D., GODFREY K.M., HARDING J.E., OWENS J.A. & ROBINSON J.S. (1993) Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* **341**, 938-941.
- BELL J.M. & SLOTKIN T.A. (1988) Postnatal nutritional status influences development of cardiac adrenergic receptor binding sites. *Brain Research Bulletin* **21**, 893-896.
- BELMAR J., CARRENO P., HERNANDEZ A. & SOTOMOYANO R. (1996) Malnutrition early in life impairs alpha-2 adrenoreceptor regulation of noradrenaline release in the rat cerebral cortex. *Nutrition Research* **16**, 1727-1734.
- BENABE J.E., WANG S., WILCOX J.N. & MARTINEZ-MALDONADO M. (1993) Modulation of ANG II receptor and its mRNA in normal rat by low-protein feeding. *Am J Physiol* **265**, F660-F669.
- BENFAM - Sociedade Civil Bem-Estar Familiar no Brasil. Pesquisa Nacional sobre Demografia e Saúde 1996. Rio de Janeiro: Civil Society for Familiar Wellness in Brazil. 1997. (GENERIC)
- Ref Type: Generic

- BERNARDIS L.L. (1985) Body weight and fat regulatory centres in the medial hypothalamus of the weaning rat: neurovisceral, neuroendocrine, metabolic and anatomical correlates of ventromedial and dorsomedial hypothalamic syndromes. *J. Obes. Weight Regul.* **4**, 61-86.
- BRAY G.A., FISLER J. & YORK D.A. (1990) Neuroendocrine control of the development of obesity: understanding gained from studies of experimental animal models. *Front. Neuroendocrinol.* **11**, 128-181.
- CHASE H.P., DORSEY J. & MC KHANN G.M. (1967) The effect of malnutrition on the synthesis of a myelin lipid. *Pediatrics, Springfield.* **40**, 551-9.
- CHEN J-C., TONKISS J. GALLER J.R. & VOLICER L (1992) Prenatal protein malnutrition in rats enhances serotonin release from hippocampus. *American Institute of Nutrition* 2138-2142.
- CHEN J-C., TURIKAK G., GALLER J. & VOLICER L. (1997) Postnatal changes of brains monoamine levels in prenatally malnourished and control rats. *Int. J. Devl Neuroscience* **5**, 257-263.
- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (1991) Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. São Paulo: COBEA.
- DAMPNEY R.A.L. (1994) Functional organization of central pathways regulating cardiovascular system. *Physiol. Review*, **74**: 323-364.
- DO CARMO PINHO F.M., NIGRO D., FORTES Z.B., TOSTES R.C., CARVALHO M.H., LUCAS S.R., GOMES G.N., COIMBRA T.M. & GIL F.Z. (2003) Intrauterine undernutrition--renal and vascular origin of hypertension. *Cardiovasc.Res.* **60**, 228-234.
- EGWIM P.O., CHO B.H. & KUMMEROW F.A. (1986) Effects of postnatal protein undernutrition on myelination in rat brain. *Comp Biochem.Physiol A* **83**, 67-70.
- FERNANDES-REPOLLET E., TAPIA E. & MARTINEZ-MALDONADO M. (1987) Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on altered renal hemodynamics induced by low protein diet in the rat. *J. Clin. Invest.* **80**, 1045-1049.
- FERREIRA F., FILIPUTTI E., ARANTES V.C., STOPPIGLIA L.F., ARAUJO E.P., DELGHINGARO-AUGUSTO V., LATORRACA M.Q., TOYAMA M.H., BOSCHERO A.C. & CARNEIRO E.M. (2003) Decreased cholinergic stimulation of insulin secretion by islets from rats fed a low protein diet is associated with reduced protein kinase alpha expression. *J.Nutr.* **133**, 695-699.
- GIACOMELLI F.R.B. & NATALI M.R.M. (1999) A utilização de ratos em modelos experimentais de carências nutricionais. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar* **3**, 239-249.

- Gomide, J. M. C. Participação do sistema renina-angiotensina no controle da pressão arterial de ratos submetidos a uma desnutrição protéica. 2007. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Ouro Preto. (GENERIC)
Ref Type: Thesis/Dissertation
- GUYENET PG & KOSHIYA N. (1992) Respiratory sympathetic integration in the medulla oblongata. In: Central Neural Mechanisms in Cardiovascular Regulation. Edited by: Kunos, G and Ciriello, J. Vol. 2. Birkhäuser, Boston, 226-247.
- HOY W.E., REES M., KILE E., MATHEWS J.D. & WANG Z. (1999) A new dimension to the Barker hypothesis: low birthweight and susceptibility to renal disease. *Kidney Int.* **56**, 1072-1077.
- ICHIKAWA L., PURKERSON M.L., KLAHR S., TROY J., MARTINEZ-MALDONADO M. & BRENNER B.M. (1980) Mechanism of reduced glomerular filtration rate in chronic malnutrition. *J. Clin. Invest.* **65**, 982-988.
- INOUE S. & BRAY G.A. (1977) The effects of subdiaphragmatic vagotomy in rats with ventromedial hypothalamic obesity. *Endocrinology*, **100**, 108-114.
- KIM S.W., YU B.P., SANDERFORD M. & HERLIHY J.T. (1994) Dietary restriction modulates the norepinephrine content and uptake of the heart and cardiac synaptosomes. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* **207**, 43-47.
- KUBO T., NAGURA J. & MISU Y. (1986) Cardiovascular effects of L-glutamate and gamma-aminobutyric acid injected into the rostral ventrolateral medulla in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Arch. Int. Pharmacodyn* **279**, 150-161.
- LEON-QUINTO T., MAGNAN C. & PORTHA B. (1998) Altered activity of the autonomous nervous system as a determinant of the impaired beta-cell secretory response after protein-energy restriction in the rat. *Endocrinology* **139**, 3382-3389.
- LOEWY A.D. (1990) Central autonomic Pathways. In: Loewy, A.D., Spyer, K.M. (Eds.) Central Regulation of Autonomic Functions, Oxford University Press. New York, 88-103.
- LOSS I.O., FERNANDES L.G., MARTINS C.D., CARDOSO L.M., SILVA M.E., DIAS-DA-SILVA V.J., MORAES M.F. & CHIANCA D.A., Jr. (2007) Baroreflex dysfunction in rats submitted to protein restriction. *Life Sci.* **81**, 944-950.
- LUCAS A. (1998) Programming by early nutrition: an experimental approach. *J.Nutr.* **128**, 401S-406S.

- LUCAS S.R., COSTA S., V, MIRAGLIA S.M. & ZALADEK G.F. (1997) Functional and morphometric evaluation of offspring kidney after intrauterine undernutrition. *Pediatr.Nephrol.* **11**, 719-723.
- LUKOYANOV N.V. & ANDRADE J.P. (2000) Behavioral effects of protein deprivation and rehabilitation in adult rats: relevance to morphological alterations in the hippocampal formation. *Behavioural Brain Research* **112**, 85-97.
- MACHADO B.H. (2001) Neurotransmission of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitarii of wake rats. *Annals of the New York Academy of Sciences* **940**, 179-196
- MACHADO B.H. & BONAGAMBA L.G.H. (1992) Microinjection of L-glutamate into the nucleus tractus solitarii increases arterial pressure in conscious rats. *Brain Research* **576**, 131-138.
- MACHADO BH, MAUAD H, CHIANCA JR. DA, HAIBARA & COLOMBARI, E. (1997) Autonomic processing of cardiovascular reflex in the Nucleus Tractus Solitarii. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **30**: 533-543.
- MAEDA M, KRIEGER AJ, NAKAI M & SAPRU HN (1991) Chemical stimulation of the rostral ventrolateral medullary pressor area decreases cerebral blood flow in anesthetized rats. *Brain Res.* **563**, 261-269.
- MARTINEZ-MALDONADO M., BENABE J.E., WILCOX J.N., WANG S. & LUO C. (1993) Renal renin, angiotensinogen, and ANG I-converting-enzyme gene expression: influence of dietary protein. *Am.J.Physiol* **264**, F981-F988.
- Martins, C. D. D. Avaliação do Balanço Autonômico Cardíaco de Ratos Submetidos a uma Dieta Hipoprotéica. 2007. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas - Universidade Federal de Ouro Preto. (GENERIC)
Ref Type: Thesis/Dissertation
- MARTINS-PINGE M.C., ARAÚJO G.C. & LOPES O.U. (1999) Nitric oxide-dependent Guanylyl cyclase participates in the glutamatergic neurotransmission with the rostral ventrolateral medulla of awake rats. *Hypertension* **34**, 748-751.
- MARTINS-PINGE M.C., GARCIA M.R.L., ZOCCAL D.B., CRESTANI C.C. & PINGE-FILHO P. (2007) Differential influence of iNOS and nNOS inhibitors on rostral ventrolateral medullary mediated cardiovascular control in conscious rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* **131**, 65-69.
- MONTEIRO C.A. (1995) A dimensão da pobreza, da fome e da desnutrição no Brasil. *Estudos Avançados* (9), **24**, 197-207.

- MORGANE P.J., MOKLER D.J., GALLER J. R. (2002) Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **26**, 471-483.
- OLIVEIRA E.L., CARDOSO L.M., PEDROSA M.L., SILVA M.E., DUN N.J., COLOMBARI E., MORAES M.F. & CHIANCA D.A., Jr. (2004) A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean arterial pressure and heart rate in Fisher rats. *Nutr.Neurosci.* **7**, 201-205.
- PAGE M.G., ANKOMA-SEY V., COULSON W.F. & BENDER, D.A. (1989) Brain glutamate and γ -aminobutyrate (GABA) metabolism in thiamin-deficient rats. *British Journal of Nutrition*, **62**, 245-253.
- PATEL K.P. & HIROOKA Y.F. (2001) Role of nitric oxide in central sympathetic outflow. *Exp. Biol. Med.* **226**, 814-824.
- PAXINOS, G. & WATSON, C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. San Diego: Academic Press, 1986.
- PEDROSA M.L. & MORAES-SANTOS T. (1987) Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats. *Braz.J.Med.Biol.Res.* **20**, 331-338.
- PHILLIPS D.I.W., BARKER D.J.P., HALES C.N., HIRST S. & OSMOND C. (1994) Thinness at Birth and Insulin-Resistance in Adult Life. *Diabetologia* **37**, 150-154.
- PLAGEMANN A., HARDER T., RAKE A., MELCHIOR K., ROHDE W. & DORNER G. (2000) Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *J.Nutr.* **130**, 2582-2589.
- SAKIMA A., YAMAZOTO M., SESOKO S., MURATAMI H. & FUKIYAMA, K. (2000) Cardiovascular and sympathetic effects of L-glutamate and glycine injected into the rostral ventrolateral medulla of conscious rats. *Hypertes Res*, **23**, 633-641.
- SAWAYA A.L., DALLAL G., SOLYMOS G., DE SOUSA M.H., VENTURA M.L., ROBERTS S.B. & SIGULEM D.M. (1995) Obesity and malnutrition in a Shantytown population in the city of Sao Paulo, Brazil. *Obes.Res.* **3 Suppl 2**, 107s-115s.
- SAWAYA A.L., MARTINS P., HOFFMAN D. & ROBERTS S.B. (2003) The link between childhood undernutrition and risk of chronic diseases in adulthood: a case study of Brazil. *Nutr.Rev.* **61**, 168-175.
- SAWAYA A.L. & ROBERTS S. (2003) Stunting and future risk of obesity: principal physiological mechanisms. *Cad.Saude Publica* **19 Suppl 1**, S21-S28.

- SAWAYA A.L., SESSO R., FLORENCIO T.M., FERNANDES M.T. & MARTINS P.A. (2005) Association between chronic undernutrition and hypertension. *Matern.Child Nutr.* **1**, 155-163.
- SVED A.F. & GORDON F.J. (1994) Amino acids as central neurotransmitters in the baroreceptor reflex pathway. *News in Physiological Sciences* **9**, 243-246.
- TALMAN W.T., PERRONE M.H. & REIS D.J. (1980) Evidence for L-glutamate as the neurotransmitter of baroreceptor afferent nerve fibers. *Science* **209**, 813-815.
- TONKISS J., TRZCINSKA M., GALLER J.R., RUIZ-OPAZO N. & HERRERA V.L. (1998) Prenatal malnutrition-induced changes in blood pressure: dissociation of stress and nonstress responses using radiotelemetry. *Hypertension* **32**, 108-114.
- TROPIA F.C., CARDOSO L.M., PEDROSA M.L., SILVA M.E., HAIBARA A.S., MORAES M.F. & CHIANCA D.A., Jr. (2001) Effects of low-protein diet on the baroreflex and Bezold-Jarisch reflex in conscious rats. *Nutr.Neurosci.* **4**, 99-107.
- TSUCHIHASHI T., ABE I. & FUJISHIMA M. (1994) Role of metabotropic glutamate receptors in ventrolateral medulla of hypertensive rats. *Hypertension* **24**, 648-652.
- TSUCHIHASHI T., KAGIYAMA S., ONAKA U., ABE I. & FUJISHIMA M. (1997) Pressor and sympathetic responses to excitatory amino acids are not augmented in the ventrolateral medulla of Dahl salt-sensitive rats. *Brain Research* **750**, 195-200.
- WINICK M. & NOBLE A. (1966) Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J.Nutr.* **89**, 300-306.
- World Health Organization. Nutrition. Disponível em <<http://www.who.int/nutrition/en/>> . 2007. 24-7-2007. (GENERIC)
- Ref Type: Electronic Citation
- YOUNG J.B., KAUFMAN L.N., SAVILLE M.E. & LANDSBERG L. (1985) Increased sympathetic nervous system activity in rats fed a low-protein diet. *The American Journal of Physiology* **248**, R627-R637.
- ZUCOLOTO S., DE OLIVEIRA J.A., DUARTE F.A., FERREIRA A.L. & DE OLIVEIRA J.E. (1975) Stress caused by immobilization and low protein intake in rats. Morphological changes]. *Arch.Latinoam.Nutr.* **25**, 385-400.

7 – APÊNDICE

Tabela 2 - Peso corporal (g) de ratos que receberam dieta controle (15% de proteína) e dieta hipoprotéica (6% de proteína) 35 dias após o desmame.

VARIAÇÃO DO PESO CORPORAL (g)			
ANIMAL	CONTROLE	ANIMAL	DESNUTRIDO
1	290	1	80
2	315	2	70
3	250	3	80
4	250	4	80
5	190	5	90
6	240	6	85
7	240	7	95
8	250	8	80
9	250	9	80
10	250	10	82
11	300	11	25
12	240	12	80
13	250	13	85
14	280	14	77
15	250	15	75
		16	85
		17	78
		18	80
		19	75
MÉDIA	256		78
DESVIO PADRÃO	29,9085909		13,9761702
ERRO PADRÃO	7,7224		3,6086

Tabela 3 - Frequência cardíaca basal (bpm) de ratos controles e desnutridos.

FREQUÊNCIA CARDÍACA (bpm)			
ANIMAL	CONTROLE	ANIMAL	DESNUTRIDO
1	403,5093	1	329,6249
2	353,3065	2	407,5896
3	412,8605	3	393,0828
4	365,1045	4	415,4514
5	394,1474	5	448,9765
6	377,7655	6	399,6455
7	373,2315	7	502,4647
8	344,6818	8	497,9961
9	323,4310	9	434,7820
10	401,5475	10	282,7944
11	322,7697	11	362,2490
12	353,5201	12	491,8267
13	336,9660	13	430,4840
14	342,9038	14	438,4375
15	455,3592	15	292,2253
		16	408,2812
		17	428,2131
		18	469,1924
		19	398,1481
MEDIA	370,7403		412,1824
DEVIO PADRÃO	37,15509482		62,11996666
ERRO PADRÃO	9,5934		16,0393

Tabela 4 - Pressão arterial média basal (mmHg) de ratos controles e desnutridos.

PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (mmHg)			
ANIMAL	CONTROLE	ANIMAL	DESNUTRIDO
1	104,8226	1	129,2547
2	110,1238	2	91,9356
3	108,1686	3	103,3017
4	119,0638	4	111,7522
5	77,5398	5	99,6677
6	116,3135	6	101,2029
7	113,6346	7	101,4204
8	111,9672	8	125,3970
9	110,4693	9	168,5909
10	103,2406	10	84,6958
11	115,3740	11	107,6721
12	118,1193	12	96,9008
13	94,8075	13	122,1208
14	103,5848	14	107,5390
15	121,6110	15	135,0512
		16	104,2195
		17	76,9289
		18	93,2874
		19	114,7412
MEDIA	108,5894		109,2463
DESVIO PADRÃO	11,15020366		20,66756978
ERRO PADRÃO	2,8790		4,7415

Tabela 5 – Resposta pressora obtida após microinjeção de 50 nL de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) e salina no RVLM de ratos controles.

CONTROLE										
ANIMAL	LADO MIC	DOSES/ Δ PAM								
		1FMOL	10 FMOL	100 FMOL	1 PMOL	10 PMOL	100 PMOL	1 NMOL	10 NMOL	100 NMOL SALINA
1	LD			7,2			4,4	32,9		
2	LE							28,6		
3	LD					11,6				
4	LD								27,7	49,4
5	LD		3,4			5,2			46	
6	LD			8,6		4,6			44	
7	LE									35,2
8	LE				7,7		9,8			24,7
9	LE			3,3		12,4			23,2	
10	LE		12,2						20,3	
11	LE			11,2			11,9	30,3		
12	LD	4,9	2,8							
13	LE				22,6					
14	LD				18,4					
15	LD	7,7								
Sham 1	LD									0
Sham 2	LE									0
Sham 3	LD									0
Sham 4	LD									0
		6,3	6,1333333	7,575	16,2333	8,45	8,7	30,6	32,24	36,4333333
		1,9799	5,2624456	3,29684192	7,68266	4,119466	3,8691084	2,16564	11,9638205	12,3961015
		1,4	3,0382744	1,64842096	4,43559	2,059733	2,2338308	1,25033	5,35038316	7,15689256

Tabela 6 - Resposta pressora obtida após microinjeção de 50 nL de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) e salina no RVLM de ratos desnutridos.

DESNUTRIDO										
ANIMAL	LADO MIC	DOSES/ΔPAM								
		1 FMOL	10 FMOL	100 FMOL	1 PMOL	10 PMOL	100 PMOL	1 NMOL	10 NMOL	100 NMOL SALINA
1	LE									22,2
2	LD					5,5			20,7	15,2
3	LD								28,1	
4	LD							20,2		
5	LE									24,2
6	LE		13,1		20,1					37,6
7	LD					9,8		17,9	16,8	
8	LE			23,2						
9	LE							18,1		
10	LD					7,2	10		30,1	
11	LD			12,6						
12	LD		22,4	26,2			39,8			
13	LE				12,9	26,8	11,1			
14	LE				9,7					
15	LD							16,5		
16	LD	7,4								
17	LE							20,3		
18	LD	9,3	15,5				24,1			
19	LD		13,1				20,1			
Sham 1	LD									0
Sham 2	LE									0
Sham 3	LE									0
Sham 4	LD									0
		8,35	16,025	20,6666667	14,2333	12,325	21,02	18,6	23,925	24,8
		1,343503	4,3980109	7,14516153	5,32666	9,810666	12,0713297	1,627882	6,2377213	9,36518375
		0,95	2,1990055	4,12526093	3,07535	4,905333	5,39846274	0,728011	3,1188606	4,68259187

Tabela 7 – Índice bradicárdico obtido após microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos controles.

CONTROLE											
1 FMOL				10 FMOL				100 FMOL			
ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM	ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM	ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM
12	4,20	38,00	9,05	5	3,60	20,00	5,56	1	4,00	23,46	5,87
15	8,40	59,21	7,05	10	13,20	18,48	1,40	6	16,30	73,18	4,49
				12	2,50	22,90	9,16	9	2,90	11,38	3,92
								11	14,70	19,94	1,36
MÉDIA	6,30	48,61	8,05	MÉDIA	6,43	20,46	5,37	MÉDIA	9,48	31,99	3,91
ERRO PADRÃO	2,10	10,61	1,00	ERRO PADRÃO	3,40	1,30	2,24	ERRO PADRÃO	3,50	13,96	0,94
1 PMOL				10 PMOL				100 PMOL			
ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM	ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM	ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM
8	5	54,3	10,86	3	23,5	41,47	1,76	1	5,5	14,78	2,69
13	24,3	97,43	4,01	5	4,5	18,6	4,13	8	10,5	43,28	4,12
14	19,2	73,3	3,82	6	18,2	72,5	3,98	11	8,7	9,8	1,13
				9	17,7	35,3	1,99				
MÉDIA	16,17	75,01	6,23	MÉDIA	15,98	41,97	2,97	MÉDIA	8,23	22,62	2,65
ERRO PADRÃO	5,77	12,48	2,32	ERRO PADRÃO	4,04	11,27	0,63	ERRO PADRÃO	1,46	10,43	0,86
1 NMOL				10 NMOL				100 NMOL			
ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM	ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM	ANIMAL	ΔPAM	ΔFC	ΔFC/ΔPAM
1	31,8	12,1	0,38	4	27,2	36,12	1,33	4	53,6	159,41	2,97
2	30,5	62,78	2,06	5	44,1	180	4,08	7	42,9	173,16	4,04
11	30,5	164,32	5,39	6	54,6	32,73	0,60	8	29,4	63,08	2,15
				9	22,6	82,28	3,64				
				10	20	67,2	3,36				
MÉDIA	30,93	79,73	2,61	MÉDIA	33,70	79,67	2,60	MÉDIA	41,97	131,88	3,05
ERRO PADRÃO	0,43	44,75	1,47	ERRO PADRÃO	6,70	26,77	0,69	ERRO PADRÃO	7,00	34,63	0,55

Tabela 8 – Índice bradicárdico obtido após microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos desnutridos.

DESNUTRIDO											
1 FMOL				10 FMOL				100 FMOL			
ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM	ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM	ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM
16	11,20	33,00	2,95	6	9,80	20,87	2,13	8	23,90	28,57	1,20
18	9,90	20,78	2,10	12	22,20	53,50	2,41	11	6,80	24,32	3,58
				18	13,90	30,64	2,20	12	25,50	56,00	2,20
				19	13,10	28,62	2,18				
MÉDIA	10,55	26,89	2,52	MÉDIA	14,75	33,41	2,23	MÉDIA	18,73	36,30	2,32
ERRO PADRÃO	0,65	6,11	0,42	ERRO PADRÃO	2,64	7,02	0,06	ERRO PADRÃO	5,98	9,93	0,69
1 PMOL				10 PMOL				100 PMOL			
ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM	ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM	ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM
6	3,20	32,00	10,00	2	9,20	21,00	2,28	12	45,8	44	0,96
13	11,80	115,00	9,75	6	11,60	66,21	5,71	13	20,3	142,1	7,00
14	8,90	40,00	4,49	13	27,70	153,00	5,52	10	9,2	48,1	5,23
				10	5,90	42,60	7,22	18	28,9	145	5,02
								19	19,1	50,68	2,65
MÉDIA	7,97	62,33	8,08	MÉDIA	13,60	70,70	5,18	MÉDIA	24,66	85,98	4,17
ERRO PADRÃO	2,53	26,43	1,79	ERRO PADRÃO	4,84	28,94	1,04	ERRO PADRÃO	6,14	23,53	1,06
1 NMOL				10 NMOL				100 NMOL			
ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM	ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM	ANIMAL	Δ PAM	Δ FC	Δ FC/ Δ PAM
4	15,7	92,4	5,89	2	24,4	19,94	0,82	1	22,2	24,62	1,11
7	20,3	74	3,65	3	33,6	41	1,22	5	28,4	56	1,97
9	18,7	14,78	0,79	10	35,7	96,8	2,71	6	38,9	34	0,87
15	16,4	33,1	2,02	7	25,8	102	3,95	2	17,6	10,14	0,58
17	20,6	48	2,33								
MÉDIA	18,34	52,46	2,93	MÉDIA	29,88	64,94	2,18	MÉDIA	26,78	31,19	1,13
ERRO PADRÃO	1,00	13,92	0,87	ERRO PADRÃO	2,80	20,39	0,72	ERRO PADRÃO	4,61	9,62	0,30

Tabela 9 – Pressão arterial média obtida antes (PAM MIN) e após (PAM MAX) à microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos controles.

CONTROLE								
1 FMOL			10 FMOL			100 FMOL		
ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN
12	119,20	115,00	5	92,30	88,70	1	103,00	99,00
15	163,70	155,30	10	103,30	90,10	6	120,00	103,70
			12	120,20	117,70	9	90,90	88,00
						11	132,70	118,00
MÉDIA	141,45	135,15	MÉDIA	105,27	98,83	MÉDIA	111,65	102,18
ERRO PADRÃO	22,25	20,15	ERRO PADRÃO	8,11	9,44	ERRO PADRÃO	9,21	6,22
1 PMOL			10 PMOL			100 PMOL		
ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN
8	120	115	3	117,7	94,2	1	109,5	104
13	169,4	145,1	5	94,6	90,1	8	127,6	117,1
14	125,9	106,7	6	128,2	110	11	128,7	120
			9	114,4	96,7			
MÉDIA	138,43	122,27	MÉDIA	113,73	97,75	MÉDIA	121,93	113,70
ERRO PADRÃO	15,58	11,67	ERRO PADRÃO	7,02	4,30	ERRO PADRÃO	6,22	4,92
1 NMOL			10 NMOL			100 NMOL		
ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN
1	128,6	96,8	4	143,2	116	4	186	132,4
2	135	104,5	5	134,6	90,5	7	155,3	112,4
11	142,4	111,9	6	158,2	103,6	8	148,4	119
			9	116,2	93,6			
			10	114,2	94,2			
MÉDIA	135,33	104,40	MÉDIA	133,28	99,58	MÉDIA	163,23	121,27
ERRO PADRÃO	3,99	4,36	ERRO PADRÃO	8,30	4,65	ERRO PADRÃO	11,56	5,88

Tabela 10 - Pressão arterial média obtida antes (PAM MIN) e após (PAM MAX) à microinjeção de diferentes concentrações de L-glutamato (1 fM, 10 fM, 100 fM, 1 pM, 10 pM, 100 pM, 1 nM, 10 nM, 100 nM) no RVLM de ratos desnutridos.

DESNUTRIDO								
1 FMOL			10 FMOL			100 FMOL		
ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN
16	122,90	111,70	6	106,00	96,20	8	154,60	130,70
18	99,40	89,50	12	143,90	121,70	11	115,80	109,00
			18	114,40	100,50	12	136,30	110,80
			19	137,80	124,70			
MÉDIA	111,15	100,60	MÉDIA	125,53	110,78	MÉDIA	135,57	116,83
ERRO PADRÃO	11,75	11,10	ERRO PADRÃO	9,10	7,25	ERRO PADRÃO	11,21	6,95
1 PMOL			10 PMOL			100 PMOL		
ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN
6	108,20	105,00	2	105,60	96,40	12	161,6	115,8
13	139,60	127,80	6	121,30	109,70	13	150,6	130,3
14	128,10	119,20	13	147,20	119,50	10	118,3	109,1
			10	112,10	106,20	18	127,9	99
						19	142,8	123,7
MÉDIA	125,30	117,33	MÉDIA	121,55	107,95	MÉDIA	140,24	115,58
ERRO PADRÃO	9,17	6,65	ERRO PADRÃO	9,14	4,77	ERRO PADRÃO	7,76	5,48
1 NMOL			10 NMOL			100 NMOL		
ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN	ANIMAL	PAM MAX	PAM MIN
4	117,7	102	2	111,9	87,5	1	127,5	105,3
7	124,6	104,3	3	119,2	85,6	5	125,9	97,5
9	168,6	149,9	10	133,2	97,5	6	139,3	100,4
15	146,4	130	7	132,9	107,1	2	107,9	90,3
17	110,9	90,3						
MÉDIA	133,64	115,30	MÉDIA	124,30	94,43	MÉDIA	125,15	98,38
ERRO PADRÃO	10,58	10,81	ERRO PADRÃO	5,27	4,97	ERRO PADRÃO	5,80	2,81

8 – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

8.1 – Resumos em Congressos

PENITENTE, Arlete Rita; RODRIGUES, Fabiana Aparecida; CARDOSO, Leonardo Máximo, HAIBARA, Andréa Siqueira; SILVA, Marcelo Eustáquio, PEDROSA, Maria Lúcia; MORAES, Márcio Flávio Dutra.; CHIANCA JÚNIOR, Deoclécio Alves. CAROTID CHEMORECEPTORS INFLUENCE THE BRADYCARDIC RESPONSE TO KCN BUT ON ARTERIAL PRESSURE IN MALNOURISHED RATS. In: 41 st Congress of the Brazilian Physiological Society & Joint Meeting with the Physiological Society, 2006, Ribeirão Preto, 2006.

RODRIGUES, Fabiana Aparecida; MARTINS, Carlito D'Angelo Drumond; SILVA, Fernanda Cacilda dos Santos; MOURA JR, Manoel Ramos; MORAES, Márcio Flávio Dutra; SILVA, Marcelo Eustáquio; FERNANDES, Luciano Gonçalves; CHIANCA JR, Deoclécio Alves. RESPOSTA PRESSORA À MICROINJEÇÃO DE L-GLUTAMATO NO RVLM DE RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTÉICA. In: FESBE, Águas de Lindóia. 2007.

MARTINS, Carlito D'Angelo Drumond; SILVA, Antônio Leite; RODRIGUES, Fabiana Aparecida; MORAES, Márcio Flávio Dutra; SILVA, Marcelo Eustáquio; FERNANDES, Luciano Gonçalves; CHIANCA JR, Deoclécio Alves. ANÁLISE ESPECTRAL E AVALIAÇÃO DO TÔNUS SIMPÁTICO E PARASSIMPÁTICO SOBRE A FREQUÊNCIA CARDÍACA DE RATOS DESNUTRIDOS. In: FESBE, Águas de Lindóia. 2007.

GOMIDE, Joelma Maria Cardoso; RODRIGUES, Fabiana Aparecida; PENITENTE, Arlete Rita; CARDOSO, Leonardo Máximo; FERNANDES, Luciano Gonçalves; CHIANCA JR, Deoclécio Alves. INVOLVEMENT OF ANGIOTENSIN II – TYPE 1 RECEPTOR IN THE AUGMENTED ARTERIAL BLOOD PRESSURE IN LOW PROTEIN DIET FED RATS. In: VII International Symposium Vasoactive Peptides, Ouro Preto, 2008.

RODRIGUES, Fabiana Aparecida; MORAES, Márcio Flávio Dutra; SILVA, Marcelo Eustáquio; FERNANDES, Luciano Gonçalves; CHIANCA-JR, Deoclécio Alves. RESPOSTA PRESSORA À MICROINJEÇÃO DE L-GLUTAMATO NO RVLM DE RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTÉICA. In: XII Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, Vitória, 2008.

