**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO (UFOP)**
**NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (NUPEB)**
**LABORATÓRIO DE FISIOLOGIA CARDIOVASCULAR (LFC)**

# *Avaliação Bioquímica, Nutricional e Cardiopulmonar de Ratos Recuperados de uma Desnutrição Protéica*

**AUTOR: DANIELA ALMEIDA DO AMARAL**
**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, Março de 2005.**

*A485a* ***Amaral, Daniela Almeida do.***
Avaliação bioquímica, nutricional e cardiopulmonar de ratos recuperados de uma desnutrição protéica [manuscrito] / Daniela Almeida do Amaral. - 2005.
xv, 74f.: il. color.; grafs., tabs.

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. Reflexo Bezold-Jarisch - Teses. 3. Nutrição - Avaliação - Teses. I. Universidade Federal de Ouro Preto. II. Título.

CDU:612.39-047.42

Catalogação: sisbin@sisbin.ufop.br

*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.*

*A ignorância gera mais freqüentemente confiança do que o conhecimento:*
***são os que sabem pouco, e não aqueles que sabem muito,***
***que afirmam de uma forma tão categórica***
***que este ou aquele problema nunca será resolvido pela ciência.***
*(Charles Darwin)*

# *Dedicatória*

*Aos* ***meus pais*** *que sempre me proporcionaram condições de realizar meus sonhos.*
*As* ***minhas irmãs*** *pelo amor e amizade incondicional.*
*À* ***Graça*** *pela companhia nas horas difíceis da caminhada.*
*Ao* ***Professor Deoclécio*** *pelos ensinamentos.*

# *Agradecimentos*

*A **Deus** pelo dom da vida e da saúde.*

*Ao meu **pai** pelo amor, dedicação e por ser a força que me impulsiona a chegar cada vez mais longe.*

*À minha **mãe** por ter se tornado a maior incentivadora deste projeto e por ter sido a melhor amiga nas horas em que mais precisei.*

*À minha irmã **Karina** pelo apoio constante, pela amizade incondicional, pelas palavras de incentivo em todas as horas difíceis e por sempre demonstrar muito mais do que as palavras podem expressar !!!*

*À minha irmã **Flávia** pela grande amizade e amor. Obrigada por ter sido minha amiga de todas as horas!!!*

*Ao meu orientador **Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Jr.** meus sinceros agradecimentos pela amizade sincera e incentivo. Obrigada por abrir as portas do Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e me proporcionar a oportunidade de trilhar novos caminhos. Serei eternamente grata por tudo!!!*

*Ao **Prof. Dr. Márcio Flávio Dutra Moraes** pela disposição na elaboração desta dissertação, pelo auxílio e amizade constante.*

*Ao **Prof. Dr. Marcelo Eustáquio Silva** pela amizade e ajuda na elaboração de nossos projetos.*

*A **Profa. Dra. Maria Lúcia Pedrosa** pela colaboração no desenvolvimento dos trabalhos do nosso laboratório.*

*Aos amigos do **Laboratório de Fisiologia Cardiovascular** da **Universidade Federal de Ouro Preto (Antonio Leite, Arlete, Arthur, Carlito D`Ângelo, Eduardo, Igor, Manoel).***

***A Graça e a Juciane** pela amizade e companhia constante. Tenho a certeza de que construímos juntas uma importante parte de nossas estórias. Obrigada por tudo!!!*

*Aos **colegas da pós-graduação** que se tornaram amigos e compartilharam alegrias e tristezas.*

*A todos os **professores** do NUPEB pela disposição em ajudar e por proporcionar um intercâmbio sadio entre os laboratórios da pós-graduação.*

*A **Cida** por estar sempre disposta a nos acolher nos momentos difíceis e por tornar nossa vida mais alegre, sempre.*

# RESUMO

A desnutrição é uma condição patológica que causa uma gama de modificações predispondo ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis e alterando a regulação reflexa do sistema cardiovascular. A recuperação nutricional vai depender, em parte, do período e duração da desnutrição. Resultados do nosso Laboratório demonstraram alterações bioquímicas e nutricionais decorrentes da desnutrição protéica além de uma potenciação do Reflexo Bezold-Jarisch (RBJ). Nesse trabalho avaliamos o peso corporal, a ingestão alimentar, parâmetros bioquímicos e o RBJ de ratos recuperados de uma desnutrição protéica. Foram utilizados ratos Fisher machos divididos em 2 grupos: controle e recuperado. Após o desmame os grupos controle e desnutrido receberam dieta 17% de proteína e 6% de proteína por 35 dias. A partir daí, os grupos controle e recuperado passaram a receber dieta 17% de proteína por 35 dias. Foram analisados a ingestão de dieta, água e o peso corporal. Ao final da recuperação, analisamos parâmetros bioquímicos e o RBJ. Cateteres foram implantados na artéria e veia femorais para registros de pressão arterial (PA) e freqüência cardíaca (FC) e administração de drogas. Para estimulação do RBJ foram utilizadas injeções endovenosas em bolus de fenilbiguanida (PBG) nas doses de $0,625^{a}$; $1,25^{b}$; $2,5^{c}$ e $5,0^{d}$ μg/kg administradas aleatoriamente. Os resultados foram mostrados como média ± erro-padrão. O peso corporal inicial dos animais foi de 71,63±0,83g e 73,04±1,72g. O peso após a recuperação e o ganho de peso apresentaram diferenças significativas (260,10±10,08g vs 196,30±2,08g) e (34,38±5,40g vs 126,10±2,26g). As análises bioquímicas após a recuperação não apresentaram diferenças significativas: Hemoglobina (15,53±0,24g/dl vs 15,38±0,22g/dl); Proteína total (6,94±0,19g/dl vs 6,45±0,25g/dl); Albumina (3,57±0,12g/dl vs 3,42±0,06g/dl) e Glicose (152,06±4,85mg/dl vs 155,30±9,57mg/dl). Os valores basais de pressão arterial média (PAM) e freqüência cardíaca (FC) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos controle e recuperado (118±1,2 mmHg; 371±9,5 bpm vs 120±3,0 mmHg; 366±10,7 bpm). Com relação ao RBJ, tanto as bradicardias quanto as hipotensões decorrentes das injeções endovenosas de PBG não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados (-43±17,8bpm vs -36±21,1 bpm)$^{a}$; (-121±35,9 bpm vs -111±25,8 bpm)$^{b}$; (-274±20,1 bpm vs -232±12,6 bpm)$^{c}$; (-327±14,0 bpm vs -289±26,0 bpm)$^{d}$ :: (-8±1,6 mmHg vs -5±0,9 mmHg)$^{a}$; (-16±5,3 mmHg vs -8±1,7 mmHg)$^{b}$; (-39±4,7 mmHg vs -33±5,7 mmHg)$^{c}$; (-63±4,3 mmHg vs -60±6,1 mmHg)$^{d}$. Esses dados indicam que a recuperação nutricional proposta restabelece parcialmente os parâmetros nutricionais e normaliza os valores bioquímicos e os parâmetros cardiovasculares alterados pela desnutrição protéica.

# ABSTRACT

Previous data from our laboratory showed biochemical and nutritional alterations after undernutrition and an increased sensitivity of Bezold-Jarisch Reflex (BJR) on undernourished rats. The present study was carried out to evaluate the effects of nutritional recovery on body and organs weight, food-water consumption and biochemical parameters and to evaluate the effects of nutritional recovery on cardiovascular reflexes, specifically on the BJR. Experiments were performed in male Fisher rats divided into 2 groups: Control and Recovered. After suckling period the animals received a commercial chow containing 17% of protein (control) and a semi-purified diet containing 6% of protein during 35 days. At this moment, control and recovered received a commercial chow (17% protein) during 35 days. During recovery, water and food consumption and body weight were measured weekly. At the end, biochemical parameters were evaluated and catheters were inserted through the right femoral artery and vein for pulse arterial pressure recording and drugs administration, respectively. To evaluate the BJR intravenous doses of 0,625a; 1,25b; 2,5c e 5,0d μg/kg of phenylbiguanide (PBG) were administered. The results were showed as mean ± standard deviation for control and recovered groups, respectively. The initial body weight was: 71,63±0,83g and 73,04±1,72g. There were statistical differences in body weight (260,10±10,08g vs 196,30±2,08g) and total weight gain (34,38±5,40g vs 126,10±2,26g) after recovery. Biochemical analyses after recovery were not different: Blood hemoglobin (15,53±0,24g/dl vs 15,38±0,22g/dl); Total protein (6,94±0,19g/dl vs 6,45±0,25g/dl); Albumin (3,57±0,12g/dl vs 3,42±0,06g/dl) and Blood Glucose (152,06±4,85mg/dl vs 155,30±9,57mg/dl). There was no statistical difference on basal mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) between groups (118±1,2 mmHg; 371±9,5 bpm vs 120±3,0 mmHg; 366±10,7 bpm). The bradycardia evoked by intravenous injections of PBG were not different between control and recovered rats (-43±17,8bpm vs -36±21,1 bpm)[a]; (-121±35,9 bpm vs -111±25,8 bpm)[b]; (-274±20,1 bpm vs -232±12,6 bpm)[c]; (-327±14,0 bpm vs -289±26,0 bpm)[d]. There was no statistical difference in the hypotension evoked by intravenous doses of PBG (-8±1,6 mmHg vs -5±0,9 mmHg)[a]; (-16±5,3 mmHg vs -8±1,7 mmHg)[b]; (-39±4,7 mmHg vs -33±5,7 mmHg)[c]; (-63±4,3 mmHg vs -60±6,1 mmHg)[d]. These data suggest that the nutritional recovery improve biochemical and nutritional parameters and the sensitivity of BJR altered by protein malnutrition.

# *Índice Analítico*

**1 – Introdução ..... 2**

*1.1 Desnutrição ..... 2*

*1.2 Recuperação Nutricional ..... 4*

*1.3 Mecanismos Reflexos de Controle da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca ..... 6*

*1.4 Reflexo Bezold-Jarisch ..... 8*

*1.4.1 História ..... 8*

*1.4.2 Reflexo Bezold-Jarisch e a Regulação da Pressão Arterial ..... 9*

*1.5 Hipertensão ..... 11*

**2 – Objetivos ..... 14**

*2.1 - Objetivo Geral ..... 14*

*2. 2 - Objetivos Específicos ..... 14*

**3 – Material e Métodos ..... 16**

*3. 1 – Protocolos experimentais ..... 16*

*3.1.1 Modelo animal ..... 16*

*3.1.2Protocolo de Desnutrição e recuperação ..... 16*

*3. 2 - Dietas ..... 17*

*3.2.1 Composição Química das Dietas ..... 17*

*3.2.2 Preparo da Dieta semi-purificada ..... 18*

*3.2.3 Análise Bromatológica das Dietas ..... 18*

*3.3 Avaliação da Ingestão de Dieta e Água ..... 19*

*3.4 Dosagens Hematológicas ..... 19*

*3.5 Necrópsia e Pesagem dos Órgãos ..... 20*

*3.6 Drogas e Soluções ..... 20*

*3.7 Parâmetros cardiovasculares Basais ..... 21*

*3.7.1 Cânulas arteriais e venosas - confecção e implantação ..... 21*

*3.7.2 Registro da Pressão Arterial, Freqüência Cardíaca. ..... 22*

*3.8 Reflexo Bezold-Jarisch (RBJ) ..... 24*

*3.8.1 Protocolo experimental para estimulação do Reflexo Bezold Jarisch ..... 24*

*3.8.2 Análise do Reflexo Bezold-Jarisch ..... 24*

*3.9 Análise dos dados e estatística ..... 25*

**4 – Resultados ..... 27**

*4.1 Peso Corporal ..... 27*

*4. 1.1 Efeito da Desnutrição Sobre o Peso Corporal ..... 27*

*4.1.2 - Efeito da Desnutrição sobre o ganho de Peso e sobre a evolução do peso corporal..... 29*
*4.1.3 - Efeito da Recupração sobre o peso corporal..... 31*
*4.1.4 - Efeito da Recuperação sobre o ganho de Peso e sobre a evolução do peso corporal..... 33*
*4. 2 - Ingestão Alimentar e de Líquido ..... 35*
*4. 2.1 – Efeito da Desnutrição sobre a Ingestão Alimentar e de Líquido ..... 35*
*4. 2.2 – Efeito da recuperação sobre a Ingestão Alimentar e de Líquido..... 38*
*4. 3 Parâmetros Bioquímicos..... 41*
*4. 3.2 – Efeitos da Desnutrição sobre os parâmetros bioquímicos ..... 41*
*4. 3.2 – Efeitos da Recuperação sobre os parâmetros bioquímicos..... 42*
*4. 4 Níveis Basais de Pressão Arterial Média e Frequência cardíaca..... 46*
*4. 5 Estimulação do Reflexo Bezold-Jarisch ..... 50*
**5 - Discussão .....55**
**6 – Sumário e Conclusões.....64**
**7 - Bibliografia .....67**

# *Índice de Figuras.*

***Figura 1 –*** *Cronograma da metodologia de desnutrição e de recuperação nutricional.....17*

***Figura 2*** *– Registro de PAP de um animal controle.....23*

***Figura 3*** *– Registro de PAP, FC e PAM basais de um animal controle (software AcqKnowledge for Windows®).....23*

***Figura 4 -*** *Análise da Resposta do Reflexo Bezold-Jarisch de um animal controle (software Chart for Windows®).....25*

***Figura 5*** *– Peso corporal inicial dos ratos.....28*

***Figura 6 -*** *Peso corporal dos ratos ao final da desnutrição.....28*

***Figura 7 –*** *Efeito da desnutrição sobre o ganho de peso corporal dos ratos.....30*

***Figura 8 -*** *Efeito da desnutrição sobre a evolução do peso corporal dos ratos.....30*

***Figura 9 -*** *Efeito da recuperação sobre o peso corporal dos ratos.....32*

***Figura 10 -*** *Efeito da recuperação e da desnutrição (70 dias) sobre o peso corporal de ratos controle e desnutridos .....32*

***Figura 11 -*** *Efeito da recuperação e da desnutrição (70 dias) sobre o peso corporal de ratos controle e desnutridos .....34*

***Figura 12*** *- Efeito da recuperação e da desnutrição (70 dias) sobre a evolução do peso corporal dos ratos.....34*

***Figura 13 –*** *Ingestão semanal de dieta (g) dos grupos controle e desnutrido.....36*

***Figura 14 –*** *Ingestão semanal de água (mL) dos grupos controle e desnutrido.....36*

***Figura 15 –*** *Ingestão semanal de dieta por grama de peso corporal dos grupos controle e desnutrido.....37*

***Figura 16 –*** *Ingestão semanal de água por grama de peso corporal dos grupos controle e desnutrido..... 37*

***Figura 17 –*** *Ingestão semanal de dieta (g) dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....39*

***Figura 18 –*** *Ingestão semanal de água (mL) dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....39*

***Figura 19*** *– Ingestão semanal de dieta por grama de peso corporal dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....40*

***Figura 20*** *– Ingestão semanal de água por grama de peso corporal dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....40*

***Figura 21*** *– Níveis plasmáticos de hemoglobina dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....43*

***Figura 22*** *– Níveis plasmáticos de Proteína total dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....43*

***Figura 23*** *– Níveis plasmáticos de Albumina dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....44*

***Figura 24*** *– Hematócrito dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....44*

***Figura 25*** *– Níveis plasmáticos de Glicose dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....45*

***Figura 26 –*** *Valores basais de Pressão Arterial Média (PAM) dos grupos controle recuperado e desnutrido (70 dias).....47*

***Figura 27 –*** *Valores basais de Freqüência Cardíaca (FC) dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....47*

***Figura 28*** *– Hipotensões provocadas pelas doses de fenilbiguanida (PBG) nos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....51*

***Figura 29 –*** *Bradicardias provocadas pelas doses de fenilbiguanida (PBG) nos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias).....51*

# *Índice de Tabelas*

***Tabela I -*** *Composição química das dietas (g/100g de ração).....17*

***Tabela II*** *– Parâmetros bioquímicos dos grupos controle e desnutrido.....41*

***Tabela III*** *– Parâmetros bioquímicos dos grupos controle e recuperado.....42*

***Tabela IV*** *– Peso corporal, valores basais de FC e PAM e variações de FC e PAM em decorrência da administração de PBS para o grupo controle.....48*

***Tabela V*** *– Peso corporal, valores basais de FC e PAM e variações de FC e PAM em decorrência da administração de PBS para o grupo recuperado.....48*

***Tabela VI*** *- Peso corporal, valores basais de FC e PAM e variações de FC e PAM em decorrência da administração de PBS para o grupo desnutrido.....49*

***Tabela VII*** *- Variações de Pressão Arterial e Frequência Cardíaca individuais provocadas pelas doses de 0.625, 1.25, 2.5 e 5.0 μg/Kg de fenilbiguanida para o grupo controle.....52*

***Tabela VIII*** *– Variações de Pressão Arterial e Frequência Cardíaca individuais provocadas pelas doses de 0.625, 1.25, 2.5 e 5.0 μg/Kg de fenilbiguanida para o grupo recuperado.....52*

***Tabela IX*** *– Variações de Pressão Arterial e Frequência Cardíaca individuais provocadas pelas doses de 0.625, 1.25, 2.5 e 5.0 μg/Kg de fenilbiguanida para o grupo recuperado.....53*

# *Lista de Abreviaturas*

| | |
|---|---|
| CVLM | Região Caudal Ventrolateral do Bulbo |
| $CuSO_4$ | Sulfato de Cobre |
| DSA | Desnervação Sino-aórtica |
| FC | Freqüência Cardíaca |
| HAS | Hipertensão Arterial Sistêmica |
| $H_3BO_3$ | Ácido Bórico |
| HCl | Ácido Clorídrico |
| $H_2SO_4$ | Ácido sulfúrico |
| IAC | Índice Autonômico Cardíaco |
| LAPAC | Laboratório de Análises Clínicas da Escola de Farmácia |
| NaCl | Cloreto de Sódio |
| $Na_2HPO_4.7H_2O$ | Bifosfato de sódio hexahidratado |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |
| $Na_2SO_4$ | Sulfato de Sódio |
| $Na_2S_2O_3$ | Tiossulfito de sódio |
| NMDA | N-metil D-aspartato |
| NTS | Núcleo do Trato Solitário |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PBG | Fenilbiguanida |
| PA | Pressão Arterial |
| PAD | Pressão Arterial Diastólica |
| PAM | Pressão Arterial Média |
| PAP | Pressão Arterial Pulsátil |
| PBS | Solução salina tamponada com fosfato |
| PAS | Pressão Arterial Sistólica |
| RBJ | Reflexo Bezold-Jarisch |
| RVLM | Região Rostral Ventrolateral do Bulbo |
| SNC | Sistema Nervoso Central |
| SNP | Sistema Nervoso Parassimpático |

| | |
|---|---|
| SNS | Sistema Nervoso Simpático |
| 5 – HT | 5 – Hidroxitriptamina |

# *1 - Introdução*

# *1 – Introdução*

## *1.1– Desnutrição.*

O número ainda substancial de crianças afetadas pela desnutrição em diferentes partes do mundo tem originado expressivo número de estudos na tentativa de elucidar os efeitos da desnutrição no adulto. Dependendo do período de ocorrência e do grau de desnutrição, severas conseqüências podem ocorrer durante o desenvolvimento e na vida adulta, predispondo inclusive ao desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas (Barker e cols., 1990; Barker e cols., 1993; Phillips e cols., 1994; Hoy e cols., 1999).

Na vida fetal os tecidos e órgãos passam pelo que chamamos períodos críticos de desenvolvimento que podem coincidir com períodos de rápida divisão celular. A principal adaptação fetal a falta de nutrientes é diminuir a taxa de divisão celular. Até mesmo breves períodos de desnutrição podem reduzir o número de células em alguns órgãos (Mccance & Widdowson, 1974).

Estudos têm mostrado que a desnutrição materna durante períodos críticos do desenvolvimento induz a adaptações fetais que podem persistir a longo prazo. A desnutrição intra-uterina pode levar a uma programação fetal o que predispõe ao desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas (Langley-Evans e cols., 1996; Langley-Evans e cols., 2003). Paralelamente, o baixo peso ao nascer tem sido associado a diversas condições patológicas. Law e Shiell (1996) documentaram que a associação entre baixo peso ao nascer e aumento da pressão arterial na infância e vida adulta tem sido demonstrada através de estudos epidemiológicos em diferentes países. O baixo peso ao nascer tem sido associado a aumentada prevalência de hipertensão (Barker e cols., 1990) doenças coronarianas (Barker e cols., 1993), diabetes tipo II (Phillips e cols., 1994) doenças renais (Hoy e cols., 1999).

Assim como a desnutrição intra-uterina, a desnutrição em fases iniciais da vida produz um impacto severo no organismo que pode levar a uma série de alterações fisiológicas, inclusive distúrbios cardiovasculares (Keller e cols., 1982). Há evidências epidemiológicas que suportam uma associação entre desnutrição infantil, obesidade no adulto e doenças crônico-degenerativas (Sawaya e cols., 1995; Sawaya e cols., 2003).

O baixo peso na infância tem sido associado ao aumento dos níveis de pressão arterial e mudanças nas concentrações de glicose e insulina (Barker e cols., 1993; Lucas, 1998). Lucas (1998) documentou que o baixo peso em 1 ano de idade, um indicador básico de desnutrição, está associado a um aumentado risco de doença cardiovascular. A baixa estatura decorrente da desnutrição também tem sido relacionada a hipertensão (Gaskin e cols., 2000; Sichieri e cols., 2000). Crianças com baixa estatura apresentam níveis elevados de glicemia de jejum, triglicérides, LDL colesterol e colesterol total (Velasquez-Melendez e cols., 1999). Hoffman e cols., (2000) documentaram que crianças com baixa estatura apresentam prejuízos na oxidação de gordura, o que leva a um aumento da prevalência de obesidade nesses indivíduos.

Estudos em animais mostraram que a desnutrição nos primeiros dias de vida pode levar a um comprometimento irreversível do crescimento por afetar permanentemente a proliferação celular. Podemos observar um prejuízo no desenvolvimento e tamanho dos animais através da depleção de massa muscular e diminuição do peso (Machado e cols., 1984; Widdowson, 1963b; Widdowson, 1963a; Winick & Noble, 1966b). Foi demonstrado ainda, que quanto maior o tempo de desnutrição, maior é a perda de peso e os prejuízos a homeostase dos sistemas (Belmar, 1996; Bennis-Taleb, 1999; Machado, 1984; Pedrosa & Moraes-Santos, 1987).

O crescimento normal do rato e de seus órgãos vitais está relacionado a aquisição de novas células e manutenção do seu tamanho. Mais tarde o crescimento está associado com ambas, hiperplasia e hipertrofia. E finalmente, o crescimento está associado com a hiperplasia somente (Winick & Noble, 1965). Estes estágios emergem gradualmente e sua duração varia em cada órgão. Até a amamentação todos os órgãos crescem primariamente por divisão celular. Entre e amamentação e os 65 dias de idade o padrão de crescimento de alguns órgãos como cérebro e fígado já é modificado. Após 65 dias o crescimento em todos os órgãos é devido principalmente, ao aumento no tamanho da célula. Portanto, o efeito de qualquer estímulo na inibição do crescimento pode ser tempo-dependente. Estudos têm mostrado que quanto mais cedo uma restrição alimentar for imposta mais difícil é a reversão do quadro (Becroft & Bailey, 1965; Mccance & Widdowson, 1962).

Enormes implicações econômicas e sociais advém dos efeitos da desnutrição a médio e longo prazo, especialmente porque as maiores taxas de desnutrição ocorrem em países em desenvolvimento que não podem financiar o tratamento de doenças crônico-degenerativas. Pesquisas adicionais são necessárias para delinear o perfil da desnutrição infantil e para prover soluções efetivas e de baixo custo para tratar estas doenças nos países subdesenvolvidos (Sawaya e cols., 1995; Sawaya e cols., 2003).

## *1. 2– Recuperação nutricional.*

Os requerimentos de energia podem ser medidos ou estimados. A energia para manter o funcionamento corporal é derivada da oxidação dos três macronutrientes da dieta (carboidratos, lipídeos e em menor proporção, proteínas), via rotas metabólicas intermediárias, e da produção de um composto rico em energia, o ATP. Durante a desnutrição há uma inadequação da energia exógena e já que os requerimentos nutricionais não são adequados o corpo tem que conseguir a energia necessária às suas funções vitais nas reservas endógenas. Como não há reservas protéicas, qualquer perda de proteína está associada a uma queda de função. A adaptação que ocorre em resposta a falta deste nutriente é a conservação e a diminuição da perda de nitrogênio. O corpo é ajustado para conseguir sua energia essencialmente das gorduras. Nos estados mais adaptados a quantidade de energia derivada dos lipídeos pode chegar a 95% do gasto energético (Reid & Campbell, 2004)

Em resposta a restrição de nutrientes pode ocorrer uma interrupção na divisão celular, a qualquer tempo. Assim, desde que a duração da divisão celular é variável em diferentes órgãos, efeitos variáveis podem ser conseguidos após recuperação. Parece que a redução no número de células resulta em alterações permanentes, enquanto, reduções no tamanho resultam em normalização após a recuperação (Winick & Noble, 1966a).

Estudos em animais expostos a desnutrição durante a amamentação através do aumento do número da ninhada, mostraram que a recuperação nutricional não consegue reverter a perda de peso corporal e o peso dos órgãos e demonstram que quanto mais

cedo a restrição é imposta maior a probabilidade de não alcançar níveis normais após a recuperação (Winick & Noble, 1966a).

Outros estudos mostram que animais submetidos à desnutrição podem ter respostas alteradas a tratamentos farmacológicos e respostas fisiológicas alteradas, mesmo após recuperação nutricional (Almeida e cols., 1996).

Ratos desnutridos no período pré e pós-natal (até 50 dias de idade) e reabilitados mostraram um aumento no turn-over de dopamina e noradrenalina e um significante aumento da atividade da tirosina hidroxilase, sugerindo um aumento na liberação destes neurotransmissores no cérebro de animais adultos reabilitados. Paralelamente, ratos submetidos à desnutrição intra-uterina e recuperados ao nascimento mostraram uma completa recuperação do crescimento físico e da composição bioquímica do cérebro e um retorno da concentração de L-triptofano aos níveis normais. Em compensação, a atividade da enzima triptofano hidroxilase permaneceu aumentada levando a um aumento da concentração do neurotransmissor serotonina (Manjarrez e cols., 1996).

Dados demonstram que a implementação da desnutrição aos dois meses de idade utilizando uma dieta 8% de caseína suplementada com metionina, carboidratos, lipídeos e sais não causou alterações no peso corporal e peso do cérebro de ratos desnutridos e recuperados quando comparados aos controles. Neste mesmo estudo, foi visto que a restrição protéica causa alterações morfológicas da região hipocampal, que é re-estruturada após reabilitação nutricional. Isto leva a crer que o SNC maduro dispõe de um potencial de recuperação estrutural e funcional após este tipo de injúria (Lukoyanov & Andrade, 2000).

Alguns estudos têm demonstrado alterações metabólicas em tecidos e sistemas de crianças expostas à desnutrição e a maioria destas alterações parece afetar a conservação de energia. Há evidências de um estoque desproporcional de tecido adiposo em crianças recuperadas da desnutrição. Além disso, a aumentada prevalência de adultos obesos em países em desenvolvimento coincide com as altas prevalências de desnutrição (Sawaya e cols., 1995; Sawaya e cols., 2003).

## *1. 3– Mecanismos Reflexos de Controle da Pressão Arterial e Freqüência Cardíaca.*

A regulação da pressão arterial (PA) é uma das funções fisiológicas mais complexas, que depende de ações integradas dos sistemas cardiovascular, renal, neural e endócrino. Dessa forma, a regulação efetiva da PA é resultado da atividade de sistemas de retro-alimentação que atuam a curto e a longo prazo (Dampney, 1994; Shepherd, 1982).

Os mecanismos de controle da PA que atuam a curto prazo, detectam e corrigem mudanças da PA e volume sanguíneo momento-a-momento. Mudanças na pressão arterial ativam receptores gerando um sinal que é conduzido pelas vias aferentes até o órgão processador (SNC). Este por sua vez, gera uma resposta conduzida pelas vias eferentes até o órgão efetor. O núcleo do trato solitário é a primeira estação sináptica das aferências cardiovasculares no sistema nervoso central e desempenha um importante papel na modulação da atividade autonômica eferente para o sistema cardiovascular. Entre as mais importantes aferências cardiovasculares envolvidas na regulação autonômica da pressão arterial estão as aferências dos barorreceptores aórticos e carotídeos (barorreflexo), os quimiorreceptores carotídeos (quimiorreflexo) e as fibras cardiopulmonares (Reflexo Bezold-Jarisch). As diferentes informações da periferia são processadas no SNC de forma a produzir a resposta autonômica apropriada, de acordo com os ajustes requeridos para normalizar a pressão arterial (Machado e cols., 1997).

Alguns estudos têm demonstrado que o reflexo barorreceptor e o reflexo Bezold-Jarisch compartilham não somente rotas cardiovasculares aferentes e eferentes como também áreas integrativas centrais (Brody e cols., 1991; Chen, 1979; Chianca & Machado, 1994; Lee e cols., 1972; Vasquez, 1994). Quando estimulados, as informações aferentes tanto dos barorreceptores quanto dos receptores cardiopulmonares são enviadas através de suas projeções ao sistema nervoso central (SNC), especificamente ao núcleo do trato solitário (NTS). As vias simpatoinibitórias destes reflexos envolvem projeções excitatórias do NTS para a região caudal ventrolateral do bulbo (CVLM), e projeções inibitórias do CVLM para a região rostral ventrolateral do bulbo (RVLM), onde se originam os neurônios pré-ganglionares simpáticos, geradores do tônus simpático vasomotor. Portanto, a ativação desta via

neuronal resulta em inibição simpática e conseqüente queda da PA. Paralelamente, projeções do NTS para a região do núcleo ambíguo, excitam neurônios pré-ganglionares parassimpáticos, resultando em uma conseqüente descarga vagal para o coração. Deste modo, os barorreceptores e os receptores cardiopulmonares produzem ajustes autonômicos cardiovasculares que atuam na manutenção da PA (Machado, 1997; Verberne & Guyenet, 1992a; Verberne & Guyenet, 1992b).

Apesar de todos os mecanismos que atuam controlando a PA no intuito de mantê-la dentro da faixa de normalidade, a elevação dos níveis de pressão arterial vêm se tornando um problema cada vez mais freqüente. É possível que a desnutrição além de comprometer o funcionamento dos mecanismos reflexos (Tropia e cols., 2001) e humorais (Langley-Evans e cols., 2003) de controle da PA, favoreça o aparecimento de doenças crônico-degenerativas como: hipertensão, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca e diabetes (Barker e cols., 1990; Barker e cols., 1993; Krayer, 1961; Phillips e cols., 1994; Sawaya e cols., 2003).

Tropia e cols. (2001) observaram maior ganho na curva do barorreflexo e maior responsividade do reflexo Bezold-Jarisch. Os mesmos autores, utilizando um bloqueador $\alpha_1$-adrenérgico específico (Prasozin), observaram um aumento do tônus simpático vasomotor em ratos desnutridos, sugerindo que estes animais poderiam apresentar um quadro de hiperatividade simpática vasomotora.

É sabido que o sistema nervoso autônomo é de extrema importância para a manutenção da homeostase cardiovascular. Ele atua modificando o débito cardíaco, diâmetro e a resistência dos vasos, os quais são quase exclusivamente inervados por fibras do sistema nervoso simpático e regulam o tônus vasomotor. Portanto, um aumento na atividade simpática autonômica, poderia induzir alterações no tônus vasomotor, que casualmente poderia estar relacionado ao desenvolvimento e manutenção da hipertensão arterial (Rupp, 2001).

Dados preliminares do nosso Laboratório, obtidos por avaliação do índice autonômico cardíaco (IAC), também sugerem um aumento da atividade simpática cardíaca em ratos desnutridos (Martins e cols., 2003). O cálculo do IAC, o qual é obtido dividindo-se a freqüência cardíaca intrínseca pela freqüência basal, fornece dados importantes a respeito da participação simpática e parassimpática na regulação

autonômica do coração. Para resultados com valores de IAC menores que 1 (um), pode-se dizer que há um predomínio da atividade simpática, já para valores maiores que 1 (um), diz-se que há um predomínio da atividade parassimpática (Goldberger, 1999). Estes dados na clínica indicam um aumento do risco de morte súbita.

Paralelamente às alterações reflexas cardiovasculares verificadas por Tropia e cols (2001) como aumento da responsividade do RBJ, Oliveira e cols (2004) observaram um aumento significativo dos níveis basais de pressão arterial média e freqüência cardíaca em ratos desnutridos.

## *1.4 Reflexo Bezold-Jarisch.*

### *1.4.1 História.*

Em 1862, no curso de seus estudos sobre a inervação cardíaca von Bezold chegou a conclusão de que haviam fibras sensoriais vagais originadas no coração cuja estimulação tinha um efeito vasodepressor. Isto antedata em 3 anos a descoberta dos nervos depressores da aorta por Ludwig and von Cyon. Em 1867, von Bezold e Hirt observaram que doses médias de veratridina causavam uma queda da pressão arterial, que não podia ser prevenida pela secção do nervo vago e não poderia ser totalmente explicada pela bradicardia associada. Von Bezold relacionou a ação vasodepressora a estimulação de terminações sensoriais nervosas do nervo vago, reconhecido anteriormente por ele, como nervos depressores. À partir daí, vários estudos foram conduzidos na tentativa de elucidar este efeito (Krayer, 1961).

Em 1915 Cramer, trabalhando com um extrato alcalóide de *Veratrum viride* confirmou o conceito de von Bezold de uma queda reflexa na pressão arterial relacionada a vasodilatação. Como regra, este efeito era acompanhado por uma queda reflexa na freqüência cardíaca e por uma diminuição ou parada respiratória. Todos estes efeitos só podiam ser vistos quando pequenas doses eram administradas. Eles eram dependentes da integridade do nervo vago (Krayer, 1961).

Em 1935 Jarisch e Henze iniciaram estudos experimentais sobre a ação circulatória do *Viscum álbum L.*. Após vários estudos das conexões nervosas do coração e pulmões indicaram que o efeito poderia ser conduzido por nervos depressores. O resultado do trabalho publicado em 1937 e de uma série de publicações subseqüentes deram evidências de um efeito vasodepressor e cárdio-desacelerador originado no coração e conduzido por fibras aferentes vagais. Após estudos utilizando veratridina, Jarisch e Richter concluíram que a interpretação da queda da pressão arterial por von Bezold estava correta (Krayer, 1961).

Veratridina e os princípios ativos do *Viscum álbum* foram as primeiras de uma série de substâncias nomeadas por Jarisch como "substâncias detectoras" do efeito Bezold. Entre 1941 e 1943 substâncias como aconitina, histamina, íon potássio, adenosina e ATP, entre outras, foram detectadas por Jarisch e seus associados e inseridas nesta classificação. Antagonistas das "substâncias depressoras" também foram descobertos como íon cálcio, agentes anestésicos locais e agentes anti-histamínicos (Krayer, 1961).

O termo efeito Bezold foi introduzido por Jarisch em 1939. Em 1942 Strughold e Benzinger adicionaram o nome Jarisch ao de von Bezold quando falavam sobre o efeito designando como Efeito Bezold-Jarisch o reflexo cardiogênico estabelecido por eles (Krayer, 1961).

## *1. 4. 2 Reflexo Bezold-Jarisch e regulação da Pressão Arterial.*

A ativação de fibras C cardiopulmonares originadas no coração e nos pulmões por substâncias químicas como alcalóides veratrum, serotonina ou fenilbiguanida produz a tríade hipotensão, bradicardia e apnéia que caracteriza o Reflexo Bezold-Jarisch, (RBJ) (Krayer, 1961; Thoren, 1979). A região cardiopulmonar contém numerosos mecanorreceptores e receptores quimiossensitivos cujas fibras são amielinizadas e viajam no nervo vago (Thoren, 1979). A ativação desses receptores aumenta a atividade parassimpática no coração e causa uma simpato-inibição no coração e nos vasos de forma a reduzir os valores de pressão. Dados da literatura

sugerem que em ratos acordados, a queda de pressão verificada após ativação do RBJ é decorrente da bradicardia evocada pelo reflexo e indicam que o componente parassimpático é mediado por receptores NMDA ao nível do NTS (Chianca Jr. e cols., 1997).

Diversos estudos têm mostrado o importante papel dos receptores cardiopulmonares no controle da PA. Chianca Jr & Machado (1994) mostraram que os receptores cardiopulmonares desempenham um importante papel na regulação da pressão arterial após a remoção dos barorreceptores arteriais.

Os autores observaram que ratos submetidos a desnervação sino-aórtica (DSA) apresentam no 1º e 15º dias após cirurgia um aumento significativo na sensibilidade do RBJ. Neste mesmo trabalho foi evidenciado que a neurotransmissão do RBJ é mediada por receptores de aminoácidos excitatórios, uma vez que a microinjeção bilateral de ácido kinurênico no NTS promoveu o bloqueio dose-dependente das respostas de bradicardia e hipotensão, decorrentes da excitação deste reflexo (Chianca Jr & Machado, 1994)

A desnervação sino-aórtica (DSA) desenvolvida neste trabalho promoveu um aumento da sensibilidade da neurotransmissão dos receptores excitatórios no NTS, pois, doses quatro vezes menores do antagonista ácido kinurênico, promoveram o bloqueio da bradicardia e hipotensão. Foi sugerido, portanto, que o aumento da sensibilidade do RBJ após DSA seria decorrente de alterações da neurotransmissão nas aferências dos receptores cardiopulmonares no NTS.

O bloqueio dos receptores de aminoácidos excitatórios com ácido kinurênico no NTS de ratos submetidos a DSA promoveu um aumento significativo dos níveis de pressão arterial sugerindo uma participação tônica inibitória das aferências dos receptores cardiopulmonares no NTS sobre a pressão arterial, após remoção dos barorreceptores arteriais. A neurotransmissão do RBJ no NTS de ratos normais parece ser mediada por receptores NMDA, uma vez que o AP-5, antagonista seletivo deste subtipo de receptor dos aminoácidos excitatórios, promoveu o bloqueio tanto da bradicardia quanto da hipotensão decorrente da excitação do reflexo cardiopulmonar.

Os ratos submetidos a DSA não desenvolvem hipertensão arterial após diferenciação dos barorreceptores arteriais provavelmente devido ao aumento da sensibilidade do sistema reflexo iniciado pela ativação dos receptores cardiopulmonares

(Chianca Jr & Machado, 1994; Chianca Jr e cols., 1997). Dessa forma, parece evidente a importância da participação dos receptores cardiopulmonares na regulação da pressão arterial.

## *1.5 – HipertensãoArterial Sistêmica (HAS)*

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) constitui um problema de saúde pública e representa um dos mais elevados itens de custo médico-social, tendo em vista sua participação como fator de risco para algumas situações de elevada morbi-mortalidade (Lessa, 2001).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que em menos de 5% dos hipertensos é possível identificar uma causa básica que seja responsável pelo aumento da pressão arterial. Na grande maioria dos casos, a causa inicial que determina o aumento da PA é desconhecida. No entanto, são conhecidos diversos fatores que contribuem para sua elevação e facilitam o aparecimento da hipertensão arterial sistêmica. Sabe-se, por exemplo, que a hipertensão arterial tem natureza familiar, uma vez que certos polimorfismos gênicos, como o do angiotensinogênio, contribuem para elevar a pressão arterial (Pereira e cols., 2003). Além disso, o sedentarismo, o estresse, o tabagismo, a raça, o gênero, o peso corporal, os hábitos alimentares e a desnutrição também influenciam o padrão de elevação da pressão com a idade, e determinam, portanto, uma maior ou menor predisposição do indivíduo para desenvolver hipertensão arterial (Lindquist e cols., 1997).

A hipertensão arterial e suas complicações são responsáveis pela alta freqüência de internações. De acordo com dados do Ministério da Saúde, ocorreram 1.150.000 internações por doenças cardiovasculares em 1998, com custo global de 475 milhões de reais (Lessa, 2001). Segundo o JNC 7 (2003) a prevalência mundial estimada para hipertensão é de cerca 1 bilhão de indivíduos. Aproximadamente 7.1 milhões de mortes por ano podem ser atribuídas a hipertensão (JNC7, 2003). Dessa forma, o conhecimento detalhado dos mecanismos promotores e facilitadores da elevação da pressão arterial é

de fundamental importância para a adoção de medidas preventivas mais eficazes e principalmente direcionadas a determinados grupos de pacientes.

Estudos do nosso Laboratório têm demonstrado a associação entre desnutrição e elevação dos níveis de pressão arterial. Tropia e cols (2001) verificaram alterações reflexas em decorrência da desnutrição e evidenciaram um aumento da responsividade do reflexo Bezold-Jarisch, um aumento do ganho barorreflexo e um aumento do tônus vasomotor simpático. Neste trabalho os referidos autores não encontraram aumento dos níveis basais de pressão arterial (PA) e freqüência cardíaca (FC) o que os levou a sugerir que o aumento da atividade reflexa poderia estar interferindo no aumento da PA e FC nos animais desnutridos. Na tentativa de melhor elucidar o mecanismo observado por Tropia e colaboradores (2001) e tendo em vista um aumento da atividade simpática Oliveira e colaboradores (2004) utilizando uma metodologia mais precisa e, principalmente, utilizando as medidas de pressão arterial por um tempo mais prolongado determinaram um significativo aumento da pressão arterial e freqüência cardíaca nos ratos submetidos a dieta hipoprotéica.

Diante destes achados, fica evidente que os efeitos da desnutrição protéica sobre o sistema cardiovascular incluem principalmente, a elevação dos parâmetros basais de pressão arterial média e freqüência cardíaca, além de alterações reflexas cardiovasculares evidenciadas pelo aumento da responsividade do reflexo Bezold-Jarisch. Por outro lado, não é conhecido se a recuperação nutricional normaliza os parâmetros nutricionais, bioquímicos e cardiopulmonares destes animais, o que sempre foi um dos nossos questionamentos.

# *2 - Objetivos*

# *2 – Objetivos*

## *2.1 - Objetivo Geral.*

Realizar uma avaliação bioquímica, nutricional e cardiopulmonar de ratos recuperados de uma desnutrição protéica.

## *2. 2 - Objetivos Específicos.*

2.2.1. Avaliar longitudinalmente o peso corporal e o ganho de peso durante os processos de desnutrição e recuperação.

2.2.2. Avaliar a ingestão de dieta e água durante todo o curso da desnutrição e recuperação.

2.2.3. Avaliar os parâmetros bioquímicos ao final dos processos de desnutrição e recuperação.

2.2.4. Avaliar os níveis basais de Pressão Arterial Média (PAM) e Freqüência Cardíaca (FC) de ratos recuperados de uma desnutrição protéica.

2.2.5. Avaliar o Reflexo Bezold-Jarisch em ratos recuperados de uma desnutrição protéica.

# *3 – Material e Métodos*

# *3 - Material e Métodos*

## *3. 1 – Protocolos Experimentais.*

### *3.1.1 - Modelo animal.*

Neste trabalho foram utilizados 110 ratos Fischer, machos, procriados e mantidos no Laboratório de Nutrição Experimental, Escola de Nutrição, UFOP-MG.

No acasalamento, duas fêmeas e um macho com aproximadamente quatro meses de idade 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 Nuvilab CR1® e água filtrada *ad libitum*. Após o nascimento, as ninhadas foram remanejadas aleatoriamente e mantidas em oito filhotes por fêmea. Durante os 21 dias de amamentação as fêmeas receberam ração comercial NUVILAB CR1® (composição: vide tabela) e água filtrada *ad libitum*. Após o desmame, os machos foram randomizados, separados em gaiolas individuais e divididos nos grupos controle, desnutrido e recuperado.

### *3.1.2 – Protocolo de Desnutrição e Recuperação.*

Após a amamentação os animais divididos nos grupos controle, desnutrido e recuperado foram submetidos aos protocolos que se seguem:

***Controle:*** Alimentados com dieta comercial NUVILAB CR1® e água filtrada *ad libitum* por 70 dias.

***Desnutrido:*** Alimentados com dieta semi-purificada 6% de proteína e água filtrada *ad libitum* por 70 dias (Figura 01).

***Recuperado :*** Alimentados com dieta semi- purificada 6% de proteína durante 35 dias e recuperados com dieta comercial NUVILAB CR1® por 35 dias e água filtrada *ad libitum* (Figura 01).

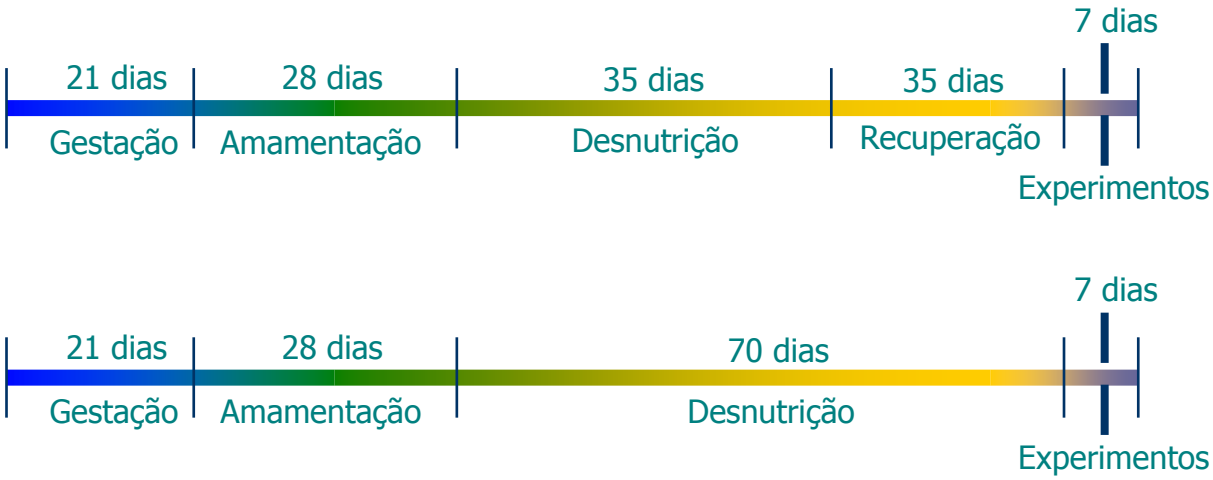


***Figura 01*** *– Cronograma da metodologia de desnutrição e recuperação protéica.*

A desnutrição foi induzida com dieta semi-purificada contendo 6% de proteína de alto valor biológico (tabela I).

## *3.2 – Dietas*

### *3.2.1 - Composição Química das Dietas.*

A dieta semi-purificada utilizada para induzir desnutrição foi preparada com um teor reduzido de proteína (caseína) e aumento do teor de carboidratos. A composição é mostrada na tabela I.

***Tabela I -*** *Composição química das dietas (g/100g de ração)*

| **Nutrientes** | **Controle** | **Desnutrido** | **Recuperado** |
|---|---|---|---|
| Proteína | 17 | 6 | 17 |
| Amido de Milho | 66 | 77 | 66 |
| Óleo de Soja | 10 | 10 | 10 |
| Mistura de Sais | 5 | 5 | 5 |
| Mistura de Vitaminas | 1 | 1 | 1 |
| Fibra (Celulose) | 1 | 1 | 1 |
| **Teor calórico** | **422 kcal** | **422 kcal** | **422 kcal** |

### *3.2.2 – Preparo da Dieta semi-purificada.*

No preparo da dieta semi-purificada foram utilizados amido de milho, óleo de soja, mistura de vitaminas, mistura de sais, fibra (celulose), colina e caseína (Synth, Labsynth Produtos para Laboratórios, Ltda, SP) nas quantidades listadas na tabela.

Os componentes foram misturados em ordem crescente de quantidade, com exceção do óleo de soja que foi o último componente adicionado. Depois de misturados foram peneirados no mínimo 5 vezes para garantir a homogeneização da dieta.

Por padronização a dieta semi-purificada e comercial NUVILAB CR1® foram oferecidas em pó.

### *3.2.3 – Análise Bromatológica das Dietas.*

Para confirmar o teor protéico das dietas oferecidas foram realizadas dosagens do teor de nitrogênio na caseína, na dieta semi-purificada 6% de proteína e na dieta comercial NUVILAB CR1®.

Para a análise do teor de nitrogênio foram utilizadas amostras de 1g de caseína e 1g de dieta, em duplicata. As amostras foram pesadas, envolvidas em papel impermeável e introduzidas em balões de Kjeldahl de 500 ml. Foram submetidas a aquecimento com 20 ml de ácido sulfúrico concentrado ($H_2SO_4$) na presença de 10g de mistura de sulfato de sódio e sulfato de cobre ($Na_2SO_4$:$CuSO_4$) e de um catalisador (óxido de selênio). A digestão foi realizada durante 3 horas, ou até que o líquido se tornasse límpido. Os balões de Kjeldahl foram resfriados por 3 horas a temperatura ambiente. Cada balão de Kjeldahl foi lavado com água destilada. As amostras foram transferidas quantitativamente para balões volumétricos de 100 ml, que foram aferidos com água destilada. Amostras de 5 ml provenientes balões volumétricos de 100 ml foram submetidas a destilação na presença de 10 ml de solução de hidróxido de sódio 50% associada a (NaOH+ $Na_2S_2O_3$). Foram recolhidas em erlenmeyers contendo 5ml de ácido bórico 4% ($H_3BO_3$) e 3 gotas do indicador de Ma-Zuazaga. Na última etapa procedeu-se a titulação da solução obtida no erlenmeyer com HCl 0.1N fatorado, com o auxílio de uma micro-bureta. Foi realizada a leitura do volume de HCl utilizado na

titulação. O cálculo do teor de nitrogênio e do teor protéico da amostra foi realizado através das equações:

*Teor de Nitrogênio = (volume HCl – 0.04) x fator de HCl x 0.028 x 100 / peso amostra*

*Teor protéico = %N x 6.25*

## *3.3 – Avaliação da Ingestão de Dieta e Água.*

Nos processos de desnutrição e recuperação os animais foram mantidos individualmente em gaiolas de aço inoxidável vazadas e monitorados semanalmente quanto a ingestão de alimentos e água. Abaixo das gaiolas foram alocadas bandejas de papel para acondicionar restos de dieta e fezes. Água e ração foram oferecidas em bebedouros de vidro com bicos de metal e potes de vidro, respectivamente. Os recipientes de água e ração foram preenchidos a cada 2 dias e a avaliação da ingestão foi realizada semanalmente. As bandejas contendo restos de dieta foram recolhidas semanalmente e secadas em estufa a 60ºC por 15 minutos. Após a secagem, as fezes foram separadas dos restos de dieta e pesados separadamente.

## *3.4 – Dosagens Hematológicas.*

Concluída a desnutrição, 14 animais foram submetidos a coleta sangüínea. De forma análoga, ao final de 35 dias de recuperação realizou-se coleta sangüínea para dosagem hematológica.

Os animais foram mantidos em jejum de 12 horas, anestesiados e posteriormente sacrificados por anestesia com éter etílico (CAQ Casa da Química de Diadema, SP, Brasil).

A coleta foi realizada através de uma incisão ventral na pata traseira direita com exposição femoral de onde o sangue foi coletado. O sangue foi acondicionado em eppendorfs esterilizados previamente e preenchidos com anti-coagulante. Foram realizados hemograma, dosagem de proteínas sangüíneas e glicose. As dosagens foram realizadas no sangue, soro e plasma, respectivamente. Para o hemograma foi utilizado anticoagulante HEMSTAB EDTA 10 g/dL (LABTEST DIAGNÓSTICA, MG, Brasil)

na concentração de 1 gota/5 mL de sangue. Para a glicose foi utilizado o anticoagulante GLISTAB KF 12g/dL + EDTA 6g/dL (LABTEST DIAGNÓSTICA, MG, Brasil) na concentração de 1 gota/3 mL de sangue. As amostras referentes a dosagem de glicose e proteínas foram centrifugadas por 10 minutos a 2000 rpm para separação do soro e plasma.

A dosagem do hemograma foi realizada no equipamento ABX Micros 60. As dosagens de proteínas e glicose foram realizadas no equipamento AIRONE 200 (Wiener Lab, Alemanha). Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Escola de Farmácia – LAPAC/UFOP.

## *3.5 – Necrópsia e Pesagem dos Órgãos.*

Após o período de desnutrição e recuperação os animais submetidos à coleta sangüínea foram sacrificados por anestesia com éter etílico (CAQ Casa da Química de Diadema, SP, Brasil). Após o sacrifício, os órgãos abdominais expostos foram fotografados intactos. Procederam-se a dissecação e pesagem dos órgãos: coração, pulmão, rins, cérebro e fígado em balança analítica (Kern 410). Os órgãos foram fracionados e acondicionados em frascos plásticos estéreis preenchidos com solução de formol tamponado 10% (Dinâmica Reagentes Analíticos®) para posterior realização de análise histológica.

## *3.6 – Drogas e Soluções.*

***Veículo*: *PBS (Salina tamponada com fosfato) pH 7,2:*** A solução foi preparada pela dissolução de 8,18 g de NaCl P.A., 1,98 g de $Na_2HPO_4.7H_2O$ P.A. e 0,26 g de $NaH_2PO_4.H_2O$ P.A. (Synth, LABSYNTH Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP) em q.s.p. 1000,0 ml de água ultra-purificada (Milli – Q®). O pH da solução foi ajustado para 7,2 com soluções de HCl e NaOH conforme necessidade. Após acondicionamento no frasco de Mariotte a solução foi esterilizada por autoclavação a 120ºC e 1,0 $Kg/cm^2$ durante 15 minutos conforme protocolo em vigor em nosso laboratório e mantida em temperatura ambiente por um período máximo de 30 dias.

Frações de PBS destinadas a injeções endovenosas foram submetidas a ultrafiltração (Millex® 0,22 μm).

***Anestésico: Tribromoetanol 2,5%:*** A solução foi preparada na concentração de 25 g/L utilizando 2,2,2 tribromoetanol 99% (Aldrich Chemical Co. Milwaukee, WI, USA) e veículo PBS pH 7,2. Toda vidraria utilizada foi recoberta com papel alumínio para evitar degradação da substância pela ação da luz. O sólido foi dissolvido em agitador termo-magnético por temperatura não superior a 40º C. O pH da solução foi ajustado para 7,2 com soluções de HCl e NaOH conforme necessidade. Ao final, a solução foi ultrafiltrada em ultrafiltro Millex® 0,22 μm, sob fluxo laminar e acondicionada em frasco âmbar e à temperatura ambiente por um período máximo de 60 dias.

***Agonista 5 $HT_3$ – Fenilbiguanida:*** A solução estoque foi preparada utilizando- se 0,2551 g de fenilbiguanida 98% (Aldrich Chemical Co. Milwaukee, WI, USA) diluída em 100,0 mL de veículo PBS. Na preparação da solução de uso foram utilizados 2,0 mL de solução estoque na concentração de 2,5 mg/mL em q.s.p de salina tamponada com fosfato para alcançar as concentrações 0,025 g/L e 0,0125 g/L e 0,00625 g/L. Após aferição dos volumes finais as soluções foram aliquotadas em eppendorfs (frações de 1,0 mL) e mantidas à temperatura de –20ºC até o momento do uso.

## *3.7 – Parâmetros Cardiovasculares Basais.*

### *3.7.1 - Cânulas arteriais e venosas - Confecção e Implantação.*

Para a confecção das cânulas arteriais e venosas foram utilizados catéteres de polietileno PE10 (Becton Dickinson and Company, 7 Loveton Circle Sparks, MD) de aproximadamente de 1,0-2,5 cm de comprimento (cânula venosa) e 1,5-3,5 cm (cânula arterial) fundidos a catéteres de polietileno PE50 (Becton Dickinson and Company, 7 Loveton Circle Sparks, MD) de aproximadamente 10,0-14,0 cm de comprimento (cânula venosa e arterial). As cânulas foram preenchidas com PBS pH 7,2 (esterilizado e despirogenizado) e cada extremidade PE50 obstruída com pino de metal esterilizado.

Os animais foram anestesiados via intra-peritoneal com tribromoetanol 2,5% na dose 10,0 mL/Kg de peso corporal. Após a anestesia, foram submetidos à incisão ventral na pata traseira direita com exposição da artéria e veia femorais e do nervo

siático. A artéria e veia femorais foram descoladas do nervo ciático e cateterizadas com PE10. As extremidades PE50 foram transpassadas sub-cutaneamente na região lateral e exteriorizadas no dorso, próximo ao pescoço, para permitir registros de PA em animais acordados com livre movimentação. Realizou- se sutura da região ventral da pata traseira e da região dorsal de exteriorização das cânulas. Após a cirurgia os animais foram acondicionados em gaiolas de polietileno individuais, mantidas em condições de temperatura e luminosidade controladas e receberam ração e água *ad libitum*. Após um período de recuperação de aproximadamente 24 horas, os animais foram submetidos a registros de pressão arterial e freqüência cardíaca.

### *3.7.2 - Registro da Pressão Arterial e Freqüência Cardíaca.*

Para registro da Pressão Arterial e Freqüência Cardíaca os animais foram acondicionados em gaiola de acrílico com acesso a água e ração *ad libitum*. Foram infundidos com 0,1 ml de salina heparinizada (40:1) na cânula arterial e conectados a um *swivel* hidráulico ligado a um transdutor de pressão MLT0699 (ADInstruments, Australia) e a um amplificador de sinais blindado ETH 400 (CB Sciences, Inc.).

O amplificador foi conectado a um conversor analógico digital PowerLab/400 (ADInstruments, Australia) e o conversor ao computador por intermédio de uma placa SCISI onde o software Chart for Windows ® cria os registros a partir dos dados enviados pelo conversor digital numa freqüência amostral de 200 Hz. Foi realizada a aquisição dos dados referentes a pressão arterial pulsátil (PAP) (figura 2) a partir dos quais foram derivados, "on line", os canais de FC e PAM (figura 3).

Para administração das drogas, a cânula venosa foi conectada a um tubo de polietileno PE50 fundido a PE10.

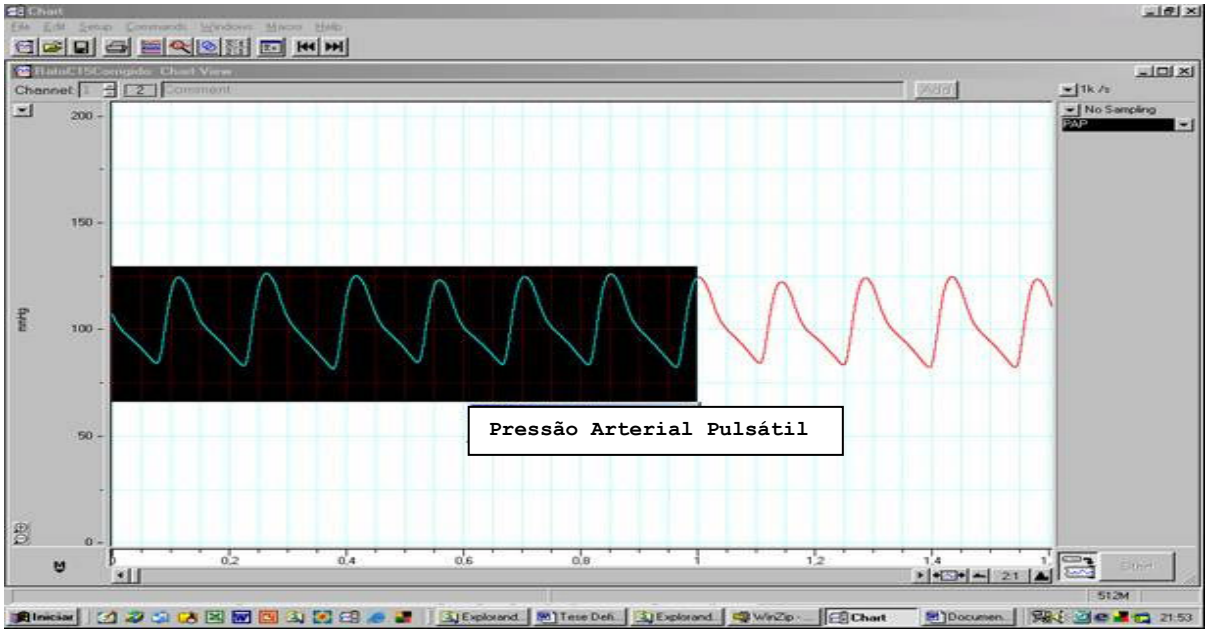


***Figura 02*** *– Registro de PAP de um animal controle (software Chart for Windows®).*

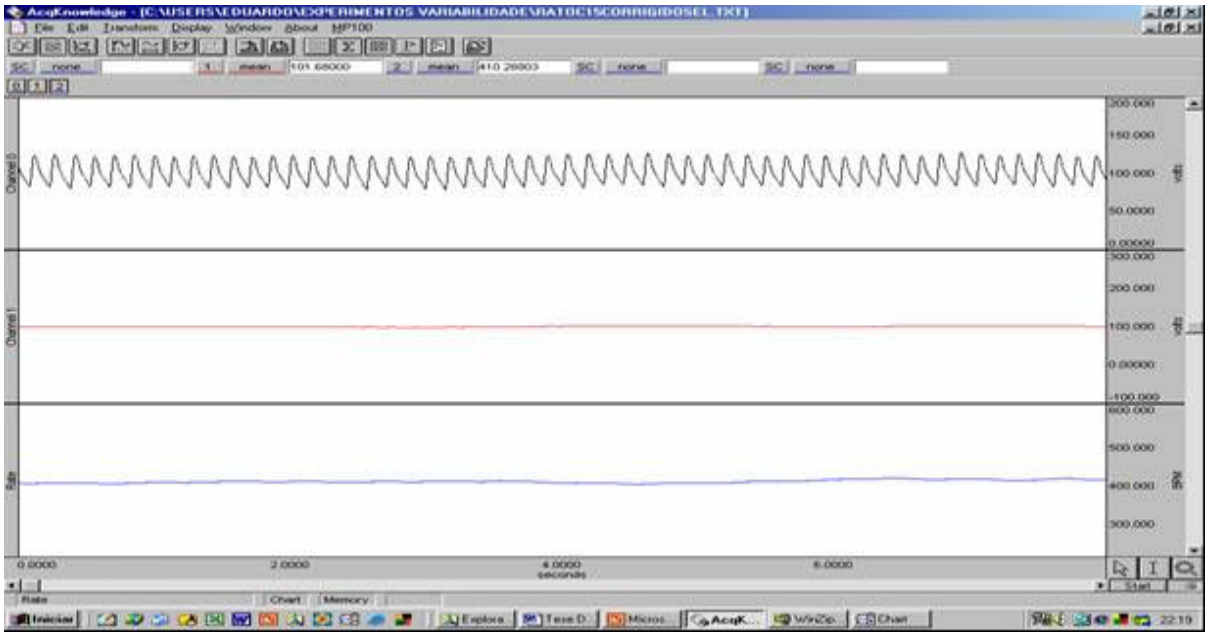

***Figura 03*** *– Registro de PAP, FC e PAM basais de um animal controle (software AcqKnowledge for Windows ®).*

Os registros que apresentaram artefatos foram corrigidos de forma a eliminar a interferência de ruídos sobre os parâmetros analisados.

Para estimativa dos níveis basais e variabilidade da PAM, foram tomados aleatoriamente intervalos de 5 minutos prévios a administração de drogas.

## *3.8 – Reflexo Bezold-Jarisch (RBJ)*

### *3.8.1 – Protocolo Experimental para Estimulação do Reflexo Bezold-Jarisch.*

Após instrumentação foi proporcionado aos animais um período de estabilização de 20 a 40 minutos. Com os parâmetros cardiovasculares estáveis, o registro definitivo foi iniciado. Os primeiros 40 minutos foram tomados como parâmetros basais de PA e FC. Para estimulação do reflexo Bezold-Jarisch foram utilizadas injeções em bolus de fenilbiguanida nas doses de 0,625; 1,25; 2,5 e 5,0 μg/Kg e uma dose placebo de PBS pH 7,2. As doses foram administradas aleatoriamente, associadas a um flush de 0,1mL de salina, e, respeitando intervalo mínimo de 5 minutos entre cada dose.

### *3.8.2 – Análise do Reflexo Bezold-Jarisch.*

A análise do Reflexo Bezold-Jarisch foi realizada calculando- se a variação máxima dos parâmetros Pressão Arterial Média (PAM) e Freqüência Cardíaca (FC) antes e após a administração da droga. Essa análise é ilustrada na figura 4.

As análises das variações foram realizadas no software Chart for Windows ®. Os parâmetros foram recalculados “off line” pico a pico sistólico e foi aplicado um “smothing” com janela de 201 pontos para filtragem dos dados.

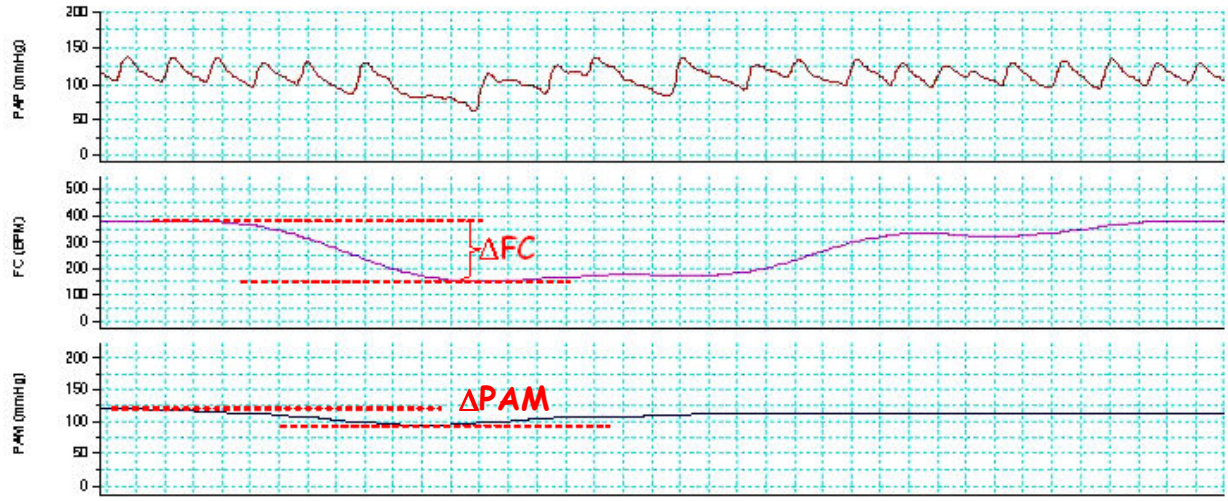


***Figura 04*** *– Análise da Resposta do Reflexo Bezold-Jarisch de um animal controle (software Chart for Windows®).*

## *3.9 - Análise dos Dados e Estatística.*

A análise dos dados foi realizada no software *Chart for Windows®* e a análise estatística no software *Minitab ™ Statistical Software, Release 13.31* (Minitab Inc.).

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (EP) e aos resultados foi aplicada análise de variância (ANOVA one-way) seguida do pós-teste de Tukey. O teste *t*-Student foi utilizado para comparação de duas médias. As diferenças estatísticas foram aceitas como sendo significativas para $p < 0,05$.

# *4 - Resultados*

# *4 – Resultados*

## *4.1 - Peso Corporal.*

### *4. 1.1 - Efeito da Desnutrição Sobre o Peso Corporal.*

A fim de avaliar os efeitos da restrição protéica sobre o peso corporal os animais foram pesados antes e após o período de desnutrição. Ao início do experimento os animais dos grupos controle e desnutrido não apresentaram diferenças significativas no parâmetro peso corporal. O peso inicial era de 71,63±0,83g e 73,04±1,72g, respectivamente. Estes resultados são mostrados na figura 5.

Os animais desnutridos (n=20) ao final dos 35 dias de restrição protéica apresentaram peso entre 60 a 90 gramas, enquanto os ratos da mesma ninhada que receberam dieta controle (n=20) apresentaram peso entre 180 a 210 gramas. Estes resultados são mostrados na figura 6.

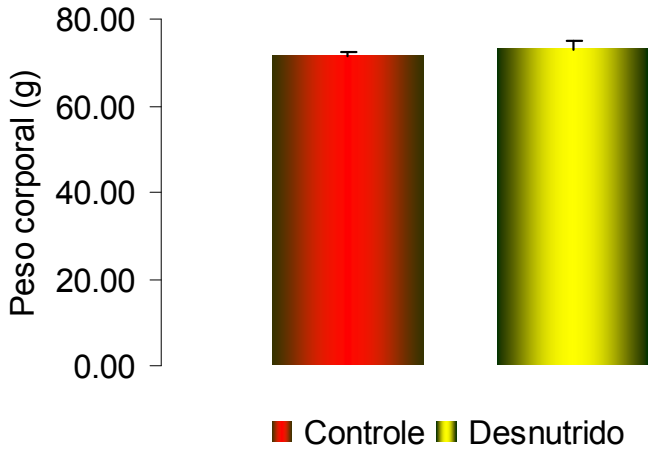


***Figura 05 -*** *Peso corporal inicial dos ratos. Não há diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,05).*

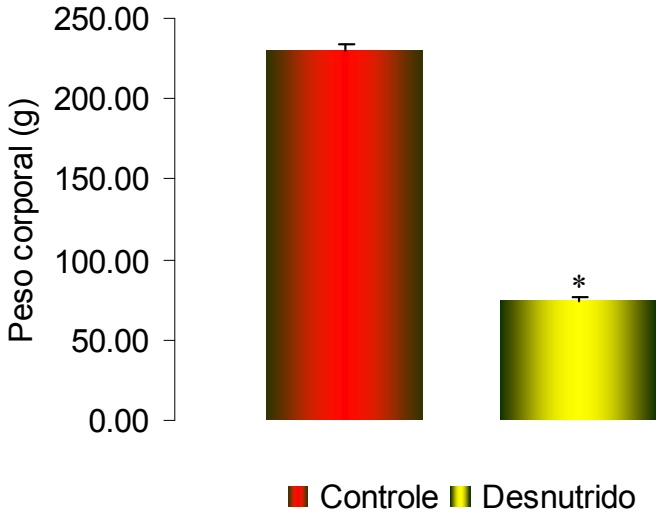


***Figura 06 -*** *Peso corporal dos ratos ao final da desnutrição. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,01).*

### *4.1.2 - Efeito da Desnutrição Sobre o Ganho de Peso e Sobre a Evolução do Peso Corporal.*

Os animais desnutridos (n=20) ao final de 35 dias de restrição protéica apresentaram um ganho de peso de 0,8 gramas, enquanto os ratos da mesma ninhada que receberam dieta controle (n=20) apresentaram um ganho de peso de 158,6 gramas. Estes resultados são mostrados na figura 7.

A figura 8 representa a evolução do peso dos animais durante o período de desnutrição mostrando que a partir da segunda semana há diferença significativa entre os grupos controle e desnutrido.

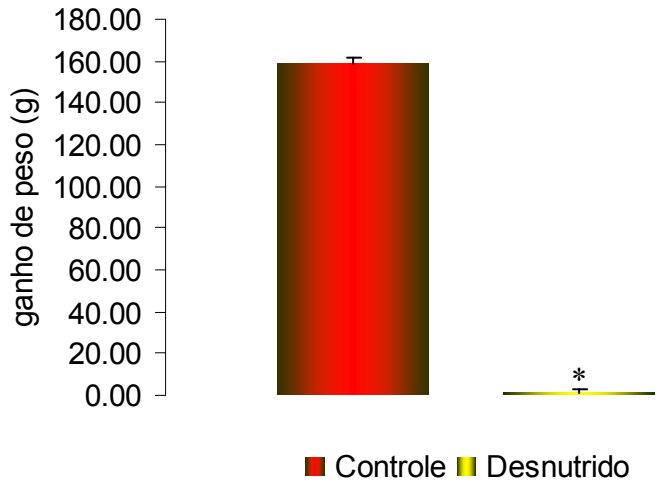


***Figura 07 -*** *Efeito da desnutrição sobre o ganho de peso corporal dos ratos. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,05).*

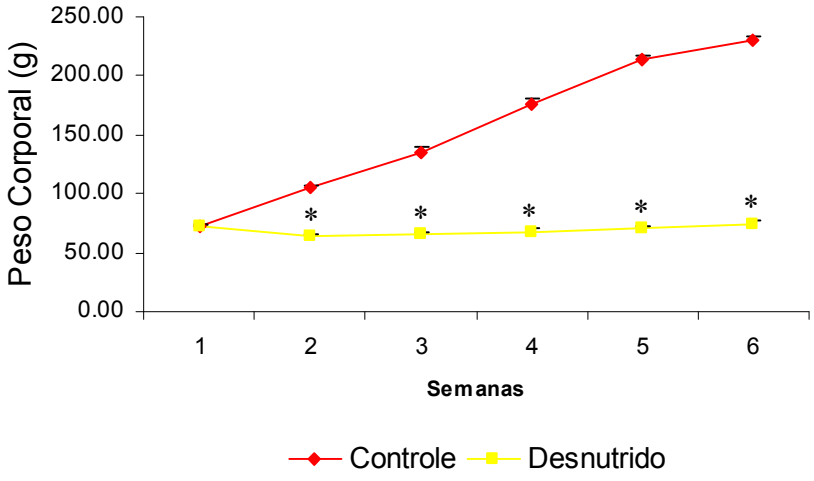


***Figura 08 -*** *Efeito da desnutrição sobre a evolução do peso corporal dos ratos. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,05).*

### *4.1. 3 - Efeito da Recuperação Sobre o Peso Corporal.*

Os animais recuperados (n=10) ao final de 35 dias de recuperação nutricional apresentaram peso entre 200 e 225 gramas, enquanto os ratos da mesma ninhada que receberam dieta controle (n=10) apresentaram peso entre 260 e 280 gramas. Estes resultados são mostrados na figura 9.

O grupo desnutrido não apresentou ganho de peso significativo neste período. Após 70 dias de desnutrição os ratos desnutridos pesavam entre 60 e 90 gramas. Este resultado é ilustrado na figura 10.

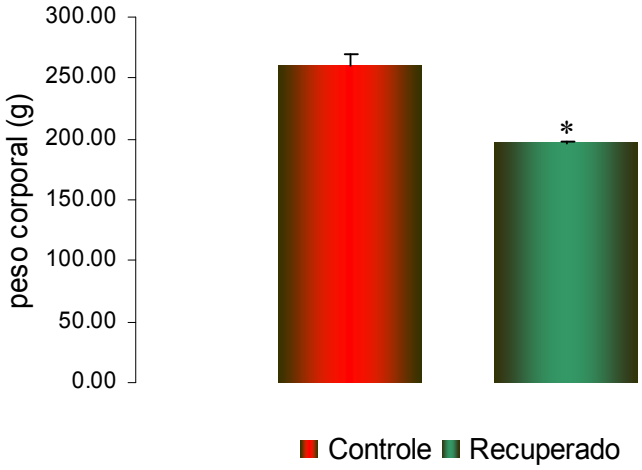


***Figura 09*** *- Efeito da recuperação sobre o peso corporal dos ratos. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

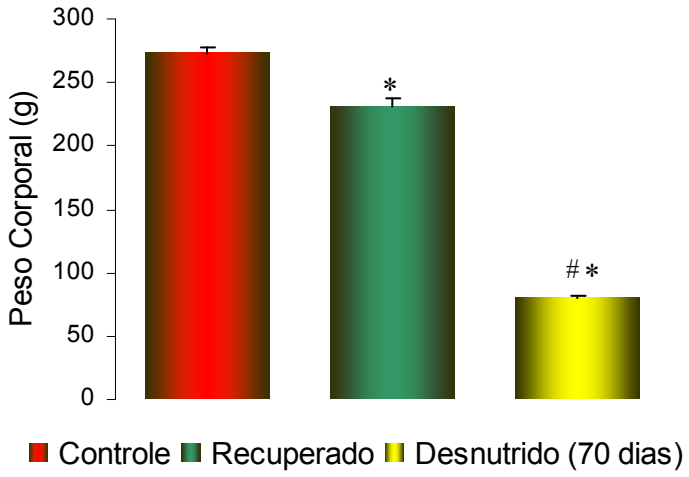


***Figura 10*** *- Efeito da recuperação e da desnutrição (70 dias) sobre o peso corporal dos ratos.*
** Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*
*# Diferença significativa entre os grupos desnutrido e recuperado(ANOVA P<0,05).*

### *4.1.4 - Efeito da Recuperação Sobre o Ganho de Peso e a Sobre a Evolução do Peso Corporal.*

Os animais recuperados (n=20) ao final dos 35 dias de recuperação apresentaram um ganho de peso corporal igual a 126,1 gramas, enquanto os ratos da mesma ninhada que receberam dieta controle (n=20) apresentaram um ganho de peso corporal igual a 34,4 gramas. Os animais do grupo desnutrido neste mesmo período apresentaram um ganho de peso igual a 7,3 gramas. Estes resultados são mostrados na figura 11.

A figura 12 representa a evolução do peso dos animais durante o período de recuperação mostrando que a partir da segunda semana há diferença significativa entre os grupos controle, recuperado e desnutrido.

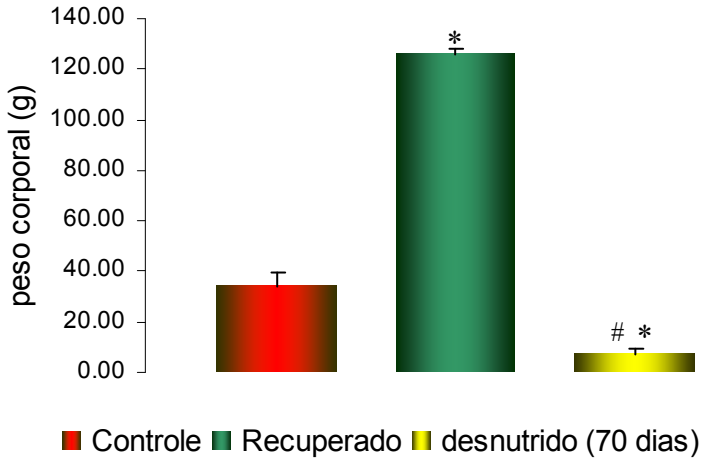


***Figura 11 -*** *Efeito da recuperação e da desnutrição (70 dias) sobre o peso corporal dos ratos.*
** Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*
*# Diferença significativa entre os grupos desnutrido e recuperado(ANOVA P<0,05).*

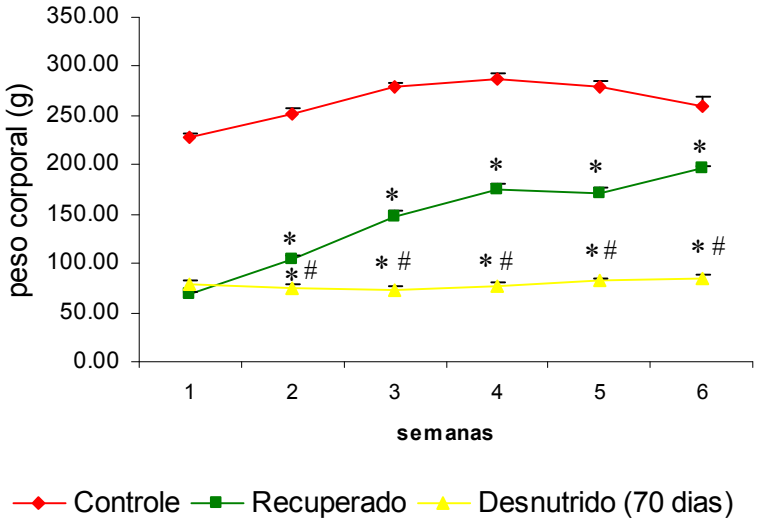


***Figura 12 -*** *Efeito da recuperação e da desnutrição (70 dias) sobre a evolução do peso corporal dos ratos.*
** Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*
*# Diferença significativa entre os grupos desnutrido e recuperado(ANOVA P<0,05).*

## *4.2 - Ingestão Alimentar e de Líquido.*

### *4.2.1 - Efeito da Desnutrição Sobre a Ingestão Alimentar e de Líquido.*

O grupo desnutrido ingeriu quantidades significativamente menores de dieta e água. As ingestões semanais de dieta e água apresentaram diferenças significativas entre os grupos em todas as semanas de desnutrição. Estes resultados são mostrados nas figuras 13 e 14.

As ingestões semanais de dieta por grama de peso corporal não apresentaram diferenças significativas entre os grupos controle e desnutrido exceto na 3º semana. Estes resultados são mostrados na figura 15.

As ingestões semanais de água por grama de peso corporal apresentaram diferenças significativas entre os grupos controle e desnutrido nas 5 semanas de desnutrição. Estes resultados são mostrado na figura 16.

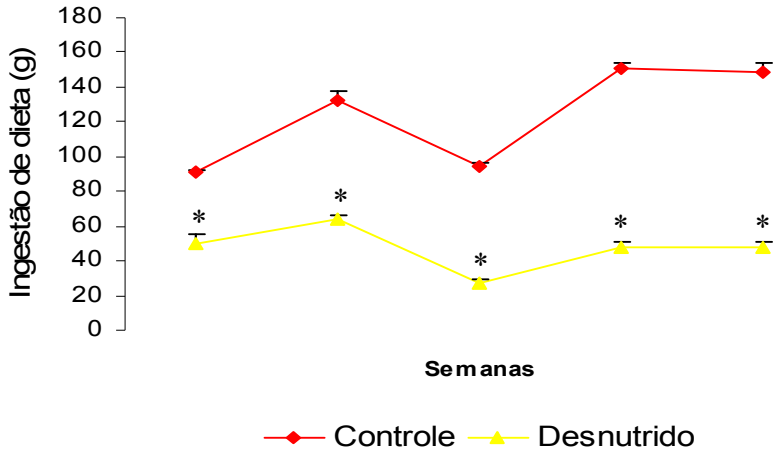


***Figura 13*** *– Ingestão semanal de dieta dos grupos controle e desnutrido. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,05).*

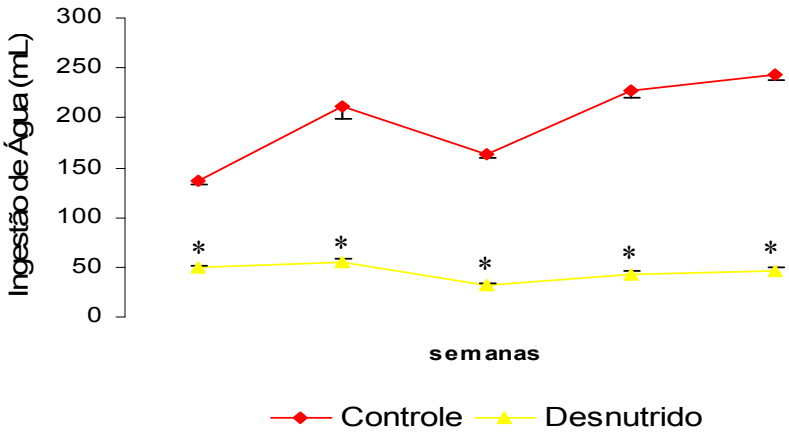


***Figura 14*** *– Ingestão semanal de água dos grupos controle e desnutrido. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,05).*

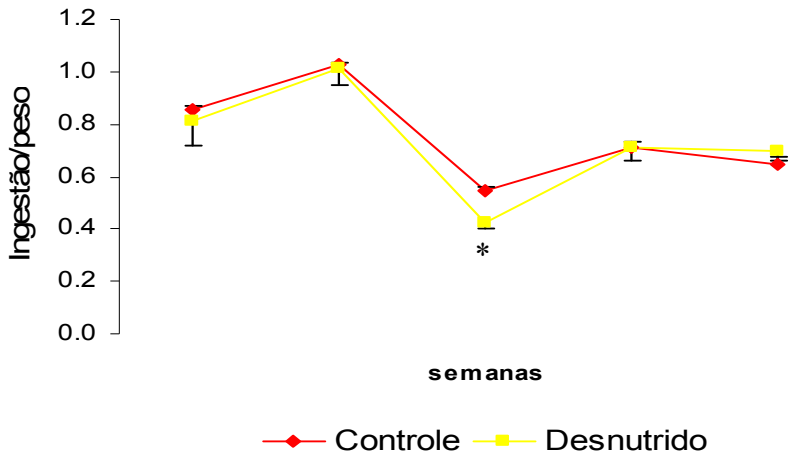


***Figura 15*** *– Ingestão semanal de dieta por grama de peso corporal dos grupos controle e desnutrido. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,05).*

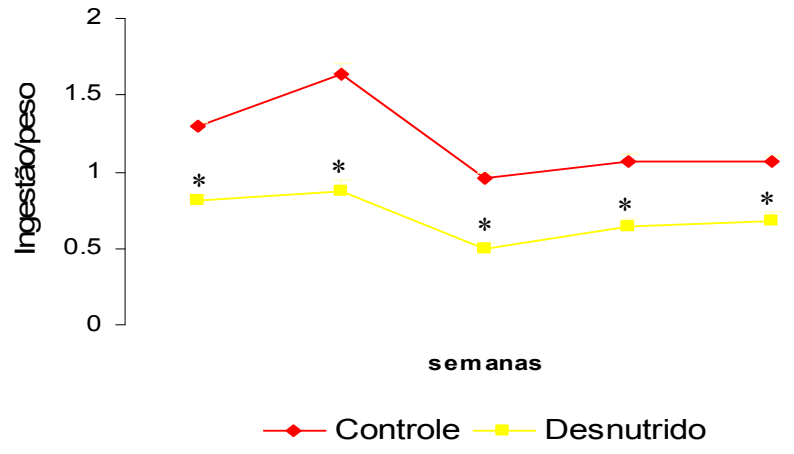


***Figura 16*** *– Ingestão semanal de água por grama de peso corporal dos grupos controle e desnutrido. * Diferença significativa comparada ao grupo controle (Teste t-student P<0,05).*

### *4.2.2 - Efeito da Recuperação Sobre a Ingestão Alimentar e de Líquido.*

O grupo recuperado apresentou uma elevação da ingestão de dieta e água, proporcional ao aumento do peso corporal. O grupo desnutrido ingeriu quantidades significativamente menores de dieta, exceto na quarta semana. A ingestão de água foi inferior em todo o período analisado. Estes resultados são mostrados nas figuras 17 e 18.

As ingestões semanais de dieta por grama de peso corporal do grupo recuperado foram superiores as do grupo controle a partir da segunda semana de recuperação. As ingestões semanais de dieta por grama de peso corporal do grupo desnutrido foram superiores às dos grupos controle e recuperado, exceto na quinta semana. Estes resultados são mostrados na figura 19.

As ingestões semanais de água por grama de peso corporal do grupo recuperado apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle na terceira, quarta e quinta semanas de recuperação. O grupo desnutrido ingeriu quantidades menores de água em relação ao grupo controle, exceto na quarta semana de recuperação. Estes resultados são mostrados na figura 20.

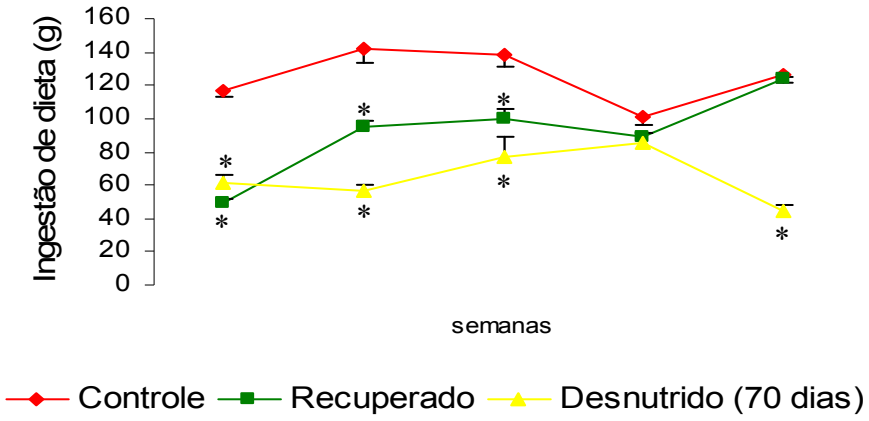


***Figura 17*** *– Ingestão semanal de dieta dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

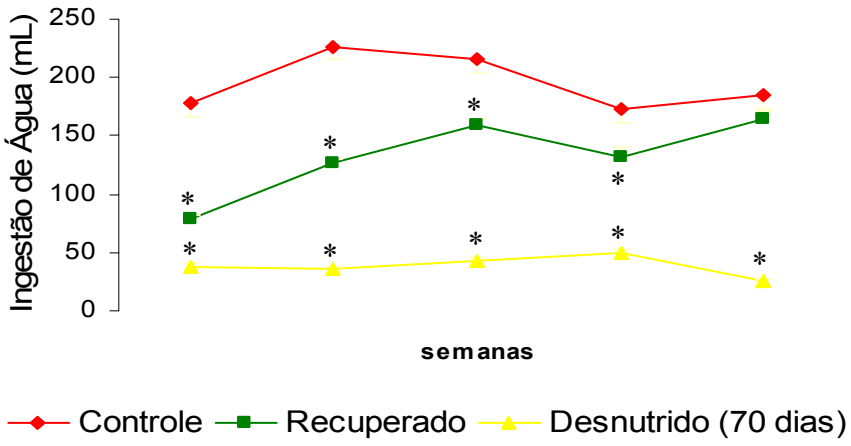


***Figura 18*** *– Ingestão semanal de água dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

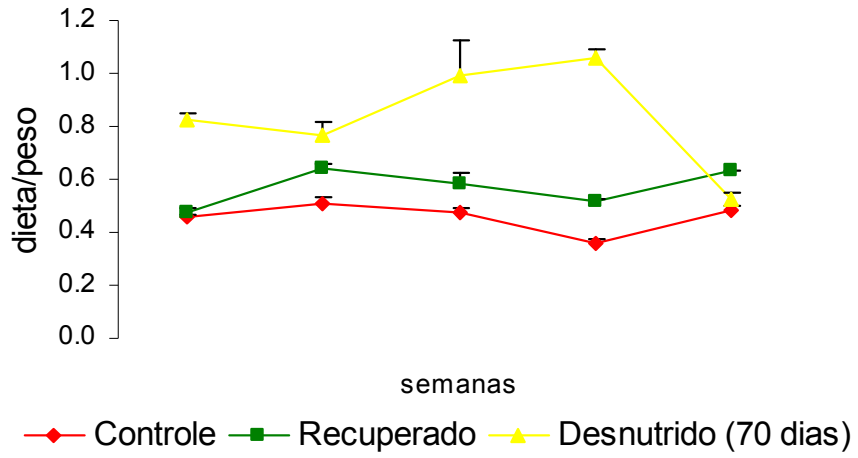


***Figura 19*** *– Ingestão semanal de dieta por grama de peso corporal dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

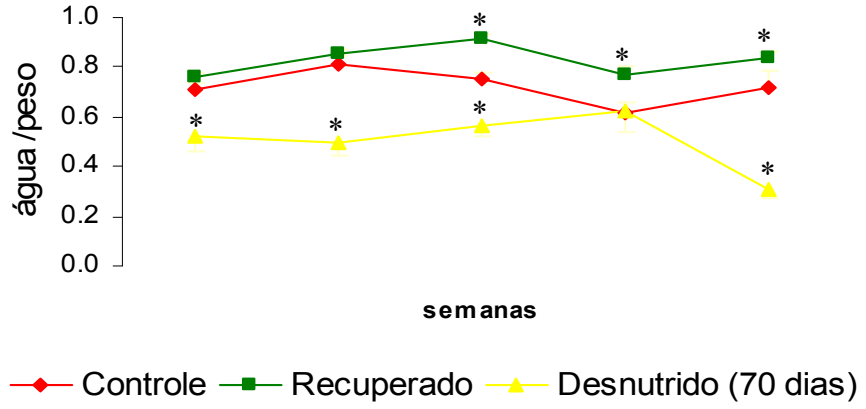


***Figura 20*** *– Ingestão semanal de água por grama de peso corporal dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

## *4.3 – Parâmetros Bioquímicos.*

### *4.3.1 - Efeitos da Desnutrição Sobre os Parâmetros Bioquímicos.*

Os parâmetros bioquímicos foram alterados pela desnutrição. A tabela II mostra os parâmetros bioquímicos dos grupos controle (n=07) e desnutrido (n=07).

A restrição protéica causou uma diminuição das proteínas plasmáticas e dos níveis de glicose e hematócrito.

***Tabela II –*** *Media ± erro padrão dos parâmetros bioquímicos dos grupos controle e desnutrido.*

| **Parâmetros** | **Grupo Controle** | **Grupo Desnutrido** | **% GD/GC** |
|---|---|---|---|
| Glicose (mg/dL) | 143.7 ± 9.1 | 98.0 ± 6.75 | 0.68 |
| Proteína Total (g/dL) | 6.9 ± 0.36 | 5.0 ± 0.07 | 0.73 |
| Albumina Plasmática (g/dL) | 4.0 ± 0.37 | 2.4 ± 0.03 | 0.60 |
| Globulina (g/dL) | 3.0 ± 0.18 | 2.7 ± 0.05 | 0.90 |
| Hemoglobina (mg/dL) | 14.6 ± 0.3 | 11.8 ± 0.45 | 0.81 |
| Hematócrito(%) | 42.2 ± 1.14 | 36.2 ± 1.8 | 0.86 |

ANOVA com *P<0,05 – *diferença significativa comparada ao grupo controle.*

### *4.3.2 - Efeitos da Recuperação Sobre os Parâmetros Bioquímicos.*

A recuperação nutricional promoveu a normalização dos parâmetros bioquímicos. Neste mesmo período, os parâmetros dos ratos desnutridos (70 dias) permaneceram alterados. Estes resultados são mostrados nas figuras 21, 22, 23, 24 e 25. A tabela III mostra os parâmetros bioquímicos dos ratos controle (n=09) e recuperados (n=09).

As proteínas plasmáticas assim como os níveis de glicose e o hematócrito sofreram uma queda em decorrência da desnutrição e normalização após a recuperação nutricional. Estes resultados são mostrados nas figuras 21, 22, 23, 24 e 25.

***Tabela III*** *– Media ± erro padrão dos parâmetros bioquímicos dos grupos controle e recuperado.*

| Parâmetros | Grupo Controle | Grupo Recuperado | % GR/GC |
|---|---|---|---|
| Glicose (mg/dL) | 152.06±4.85 | 155.30±9.57 | 102.0 |
| Proteína Total (g/dL) | 6.94±0.19 | 6.45±0.25 | 93.0 |
| Albumina Plasmática (g/dL) | 3.57±0.12 | 3.42±0.06 | 96.0 |
| Globulina (g/dL) | 3.38±0.19 | 3.03±0.27 | 90.0 |
| Hemoglobina (mg/dL) | 15.53±0.24 | 15.38±0.22 | 99.0 |
| Hematócrito (%) | 45.59±0.54 | 44.99±0.77 | 99.0 |

Teste *t*- student com *P<0,05 – *diferença significativa comparada ao grupo controle.*

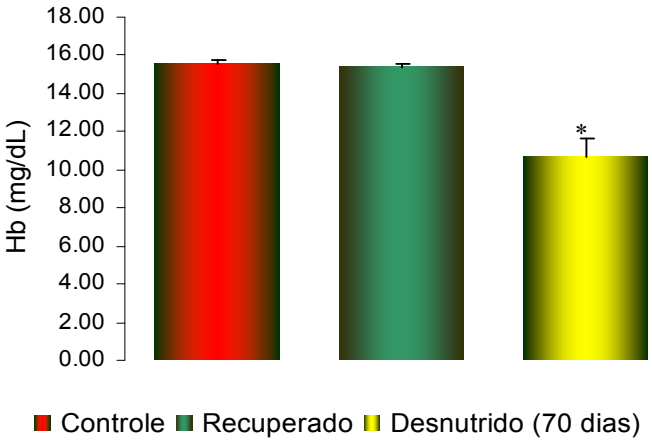


***Figura 21*** *– Níveis de hemoglobina dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

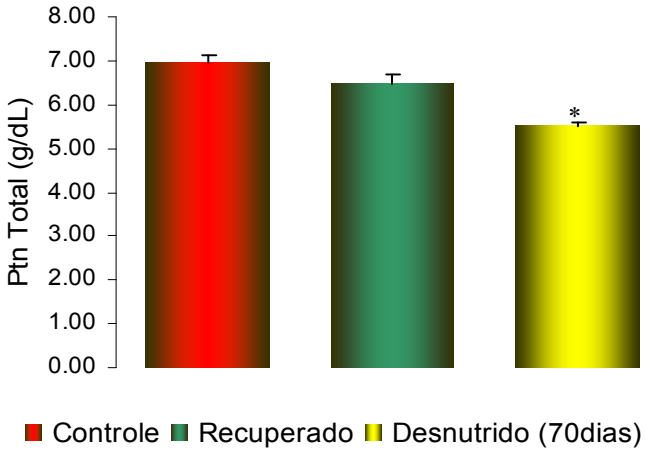


***Figura 22*** *– Níveis de Proteína total dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

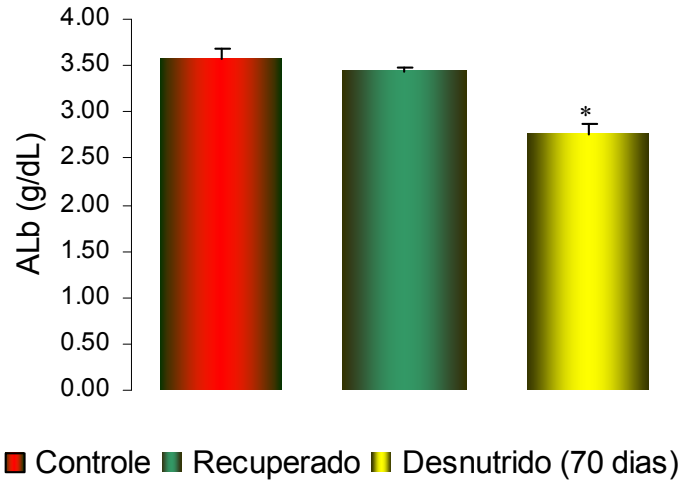


***Figura 23*** *– Níveis de Albumina dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

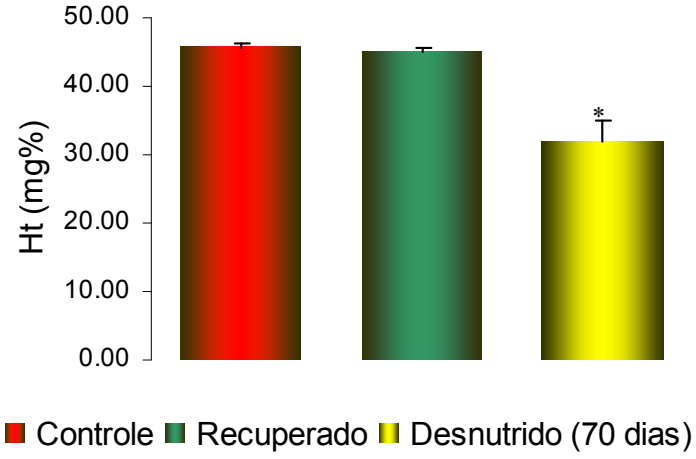


***Figura 24*** *– Hematócrito dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

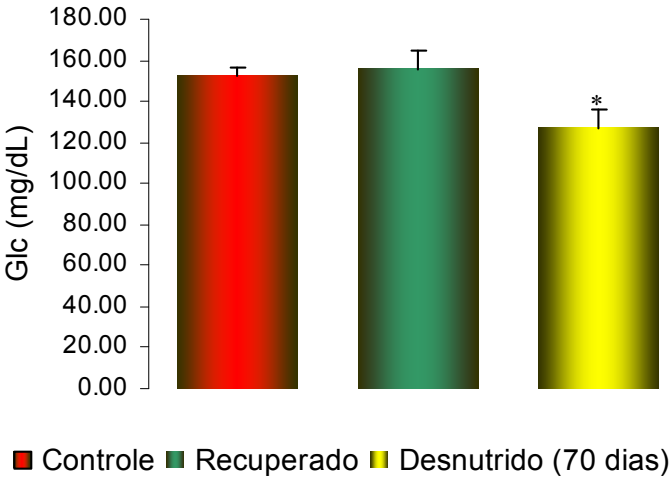


***Figura 25*** *– Níveis de Glicose dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

## *4.4 - Níveis Basais de Pressão Arterial Média e Freqüência Cardíaca.*

Os níveis basais de pressão arterial média (PAM) e freqüência cardíaca (FC) do grupo desnutrido (134±3 mmHg; 425±10 bpm) apresentaram um aumento significativo em relação aos níveis basais de PAM e FC do grupo controle (118±1 mmHg; 371±10 bpm). Estes resultados podem ser observados nas figuras 26 e 27.

Os níveis basais de PAM e FC do grupo recuperado (120±3 mmHg; 366±11 bpm) não apresentaram diferenças significativas em relação ao grupo controle (118±1 mmHg; 371±10 bpm). Estes resultados podem ser observados nas figuras 26 e 27.

Os valores individuais de peso corporal, os níveis basais pressão arterial média (PAM) e freqüência cardíaca (FC) e as respostas decorrentes da administração de veículo PBS são mostrados nas tabelas IV, V e VI.

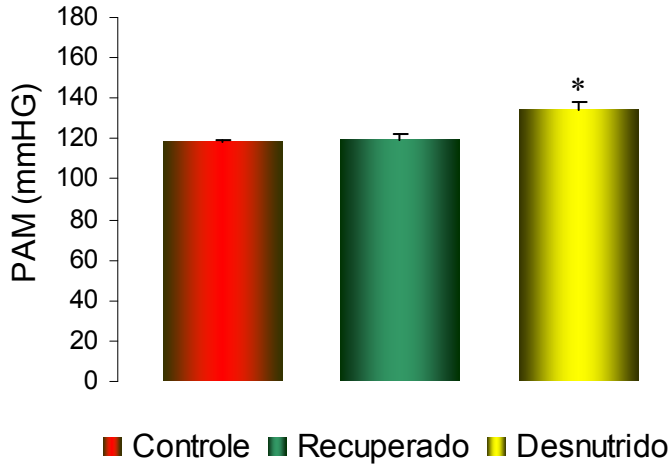


***Figura 26 –*** *Valores basais de PAM dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

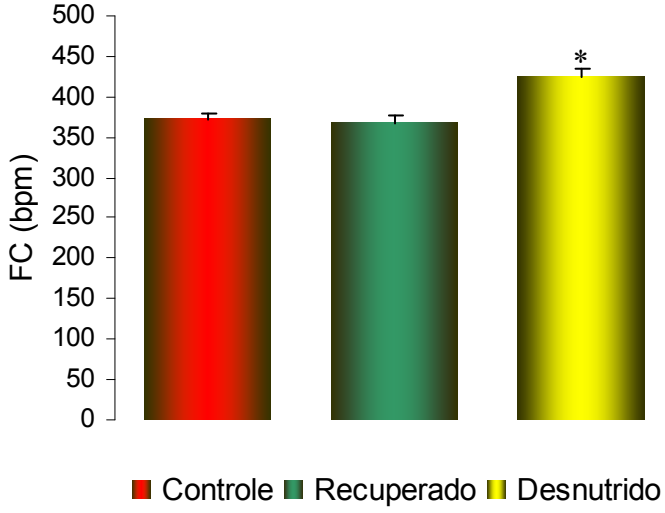


***Figura 27*** *– Valores basais de FC dos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

***Tabela IV*** *- Peso corporal, valores basais de FC e PAM e variações de FC e PAM em decorrência da administração de PBS para o grupo controle.*

| Animal | Peso | FC basal | PAM basal | ∆FC salina | ∆PAM salina |
|---|---|---|---|---|---|
| Controle 01 | 261 | 395 | 121 | 0 | -1 |
| Controle 02 | 265 | 382 | 113 | 1 | 1 |
| Controle 03 | 240 | 447 | 115 | 0 | -1 |
| Controle 04 | 293 | 343 | 115 | -1 | -1 |
| Controle 05 | 280 | 349 | 113 | 0 | 0 |
| Controle 06 | 294 | 368 | 117 | 1 | 1 |
| Controle 07 | 283 | 391 | 112 | -1 | -1 |
| Controle 08 | 280 | 392 | 118 | -1 | 1 |
| Controle 09 | 247 | 337 | 123 | 1 | -1 |
| Controle 10 | 270 | 359 | 122 | 0 | -1 |
| Controle 11 | 291 | 328 | 123 | -1 | -1 |
| Controle 12 | 260 | 362 | 123 | -2 | 1 |
| **Média** | **272** | **371** | **118** | **0** | **0** |
| DP | 18 | 33 | 4 | 1 | 1 |
| **EP** | **5.2** | **9.5** | **1.2** | **0.3** | **0.3** |

***Tabela V*** *- Peso corporal, valores basais de FC e PAM e variações de PAM e FC em decorrência da administração de PBS para o grupo recuperado.*

| Animal | Peso | FC basal | PAM basal | ∆FC salina | ∆PAM salina |
|---|---|---|---|---|---|
| Recuperado 01 | 235 | 416 | 112 | -1 | -1 |
| Recuperado 02 | 255 | 336 | 103 | 1 | 0 |
| Recuperado 03 | 225 | 390 | 117 | 1 | 1 |
| Recuperado 04 | 218 | 303 | 128 | -1 | -1 |
| Recuperado 05 | 210 | 348 | 132 | -1 | 0 |
| Recuperado 06 | 226 | 398 | 126 | -2 | -1 |
| Recuperado 07 | 223 | 351 | 125 | 1 | -1 |
| Recuperado 08 | 260 | 315 | 104 | -1 | 1 |
| Recuperado 09 | 260 | 346 | 110 | -1 | 1 |
| Recuperado 10 | 200 | 391 | 132 | -2 | -1 |
| Recuperado 11 | 230 | 389 | 121 | -1 | 1 |
| Recuperado 12 | 235 | 407 | 125 | 0 | -1 |
| **Média** | **231** | **366** | **120** | **0** | **0** |
| DP | 19 | 37 | 10 | 1 | 1 |
| **EP** | **5.5** | **10.7** | **3.0** | **0.3** | **0.3** |

***Tabela VI*** *- Peso corporal,valores basais de FC e PAM e variações de PAM e FC em decorrência da administração de PBS para o grupo desnutrido.*

| Animal | Peso | FC basal | PAM basal | ∆*FC* | ∆*PAM* |
|---|---|---|---|---|---|
| **Desnutrido 01** | 91 | 419 | 128 | 1 | 1 |
| **Desnutrido 02** | 79 | 409 | 146 | 1 | -1 |
| **Desnutrido 03** | 72 | 465 | 157 | 2 | -2 |
| **Desnutrido 04** | 81 | 392 | 149 | -1 | 1 |
| **Desnutrido 05** | 78 | 418 | 135 | 2 | -1 |
| **Desnutrido 06** | 79 | 339 | 152 | -1 | 1 |
| **Desnutrido 07** | 75 | 429 | 114 | 2 | -1 |
| **Desnutrido 08** | 80 | 435 | 141 | 1 | -1 |
| **Desnutrido 09** | 93 | 437 | 129 | 1 | -1 |
| **Desnutrido 10** | 81 | 492 | 119 | -2 | 0 |
| **Desnutrido 11** | 59 | 476 | 128 | 2 | -5 |
| **Desnutrido 12** | 99 | 398 | 123 | -3 | 1 |
| **Desnutrido 13** | 94 | 416 | 129 | -2 | 2 |
| **Desnutrido 14** | 95 | 422 | 129 | -3 | 1 |
| **Média** | **83** | **425** | **134** | **0** | **0** |
| DP | 11 | 38 | 13 | 2 | 2 |
| **EP** | **2.9** | **10.1** | **3.4** | **0.5** | **0.5** |

## *4.5 – Estimulação do Reflexo Bezold-Jarisch.*

As injeções endovenosas de fenilbiguanida produziram bradicardias e hipotensões dose-dependentes.

Os animais do grupo recuperado não apresentaram diferenças significativas nas respostas hipotensoras em relação aos animais controle. Nas doses de 2.5 e 5.0 μg/kg o grupo desnutrido apresentou uma potenciação na resposta hipotensora em relação aos grupos controle e recuperado. Estes resultados são mostrados na figura 28.

Quanto à freqüência cardíaca, não houve diferença significativa entre os grupos controle, recuperado e desnutrido, exceto para as doses de 2.5 e 5.0 μg /kg onde foi observada diferença entre os grupos recuperado e desnutrido. Estes resultados podem ser observados na figura 29.

As variações individuais de pressão arterial média (PAM) e freqüência cardíaca (FC) em decorrência das doses de 0.625, 1.25, 2.5 e 5.0 μg/kg de fenilbiguanida são mostrados nas tabelas VII, VIII e IX.

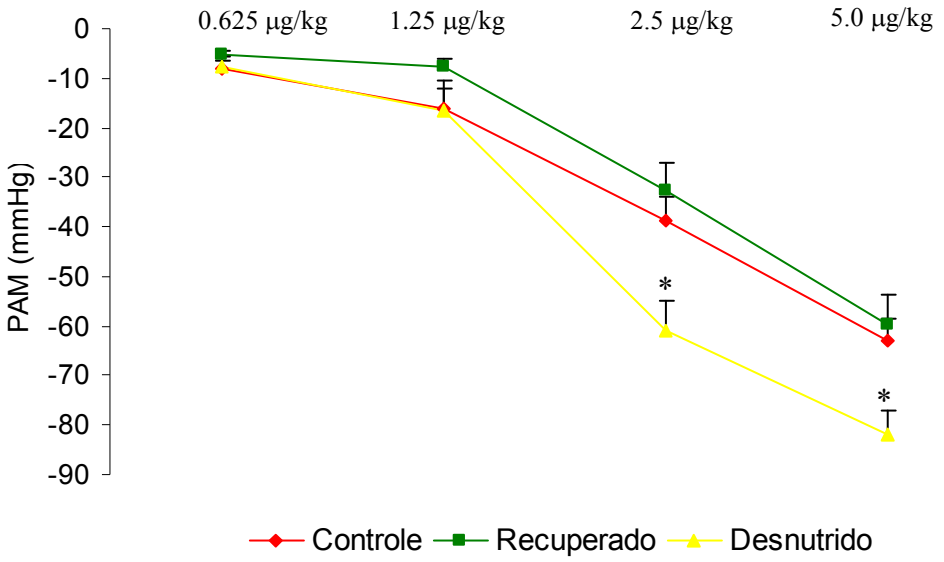


***Figura 28*** *– Hipotensões provocadas pelas doses de fenilbiguanida nos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). * Diferença significativa comparada ao grupo controle (ANOVA P<0,05).*

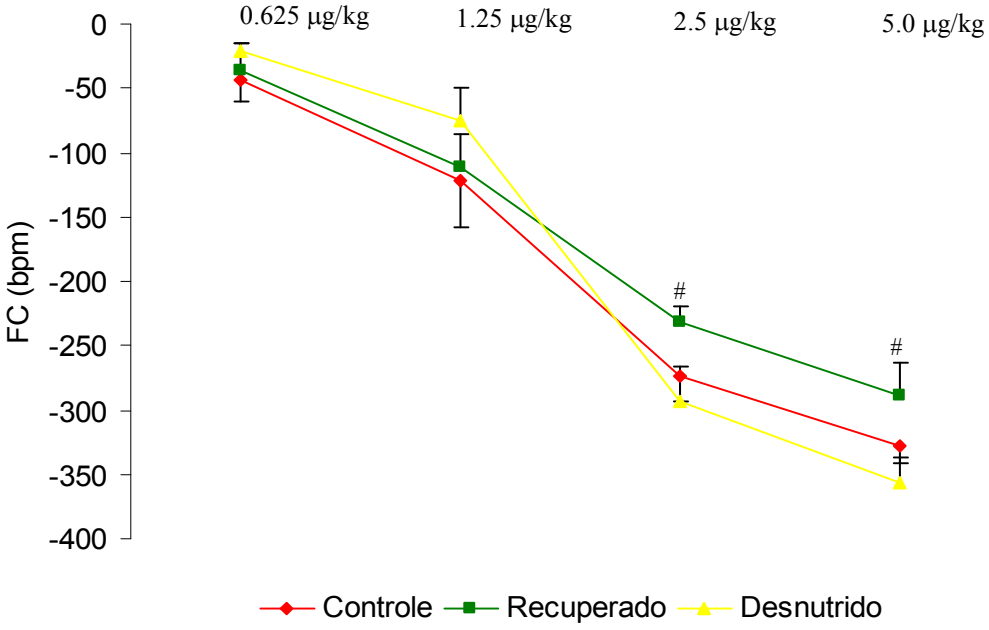


***Figura 29*** *– Bradicardias provocadas pelas doses de fenilbiguanida nos grupos controle, recuperado e desnutrido (70 dias). #Diferença significativa entre os grupos recuperado e desnutrido (ANOVA P<0,05).*

***Tabela VII -*** *Variações de pressão arterial média (∆PAM) e freqüência cardíaca (∆FC) provocadas pelas doses de 0.625, 1.25, 2.5 e 5.0 μg/kg de fenilbiguanida para o grupo controle.*

| Animal | 0,625 ug/Kg Fenil | | 1,25 ug/Kg Fenil | | 2,5 ug/Kg Fenil | | 5,0 ug/Kg Fenil | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ∆FC | ∆PAM | ∆FC | ∆PAM | ∆FC | ∆PAM | ∆FC | ∆PAM |
| Controle 01 | -1 | -3 | -13 | -5 | -199 | -28 | -347 | -71 |
| Controle 02 | -207 | -21 | -200 | -56 | -339 | -61 | -314 | -69 |
| Controle 03 | -111 | -10 | -391 | -47 | -420 | -73 | -426 | -66 |
| Controle 04 | -2 | -4 | -5 | -9 | -262 | -46 | -342 | -76 |
| Controle 05 | -83 | -14 | -194 | -31 | -273 | -41 | -325 | -65 |
| Controle 06 | -17 | -8 | -67 | -14 | -279 | -49 | -337 | -68 |
| Controle 07 | -14 | -5 | -19 | -5 | -292 | -30 | -381 | -75 |
| Controle 08 | -20 | -11 | -34 | -2 | -261 | -29 | -288 | -51 |
| Controle 09 | -6 | -4 | -238 | -4 | -316 | -41 | -303 | -47 |
| Controle 10 | -24 | -12 | -225 | -7 | -255 | -29 | -331 | -86 |
| Controle 11 | -27 | -3 | -20 | -8 | -137 | -20 | -229 | -44 |
| **Controle 12** | **-5** | **-6** | **-52** | **-4** | **-249** | **-19** | **-303** | **-36** |
| **Média** | **-43** | **-8** | **-121** | **-16** | **-274** | **-39** | **-327** | **-63** |
| DP | 62 | 6 | 124 | 18 | 70 | 16 | 49 | 15 |
| **EP** | **17.8** | **1.6** | **35.9** | **5.3** | **20.1** | **4.7** | **14.0** | **4.3** |

***Tabela VIII -*** *Variações de pressão arterial média (*∆PAM*) e freqüência cardíaca (*∆FC*) provocadas pelas doses de 0.625, 1.25, 2.5 e 5.0 μg/kg de fenilbiguanida para o grupo recuperado.*

| Animal | 0,625 ug/Kg Fenil | | 1,25 ug/Kg Fenil | | 2,5 ug/Kg Fenil | | 5,0 ug/Kg Fenil | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ∆FC | ∆PAM | ∆FC | ∆PAM | ∆FC | ∆PAM | ∆FC | ∆PAM |
| Recuperado 01 | -6 | -10 | -246 | -3 | -246 | -3 | -317 | -48 |
| Recuperado 02 | -3 | -3 | -154 | -8 | -287 | -35 | -390 | -36 |
| Recuperado 03 | -6 | -3 | -11 | -3 | -205 | -25 | -391 | -74 |
| Recuperado 04 | -209 | -4 | -204 | -6 | -248 | -30 | -104 | -90 |
| Recuperado 05 | -7 | -4 | -186 | -11 | -226 | -52 | -359 | -75 |
| Recuperado 06 | -175 | -11 | -18 | -6 | -249 | -23 | -301 | -60 |
| Recuperado 07 | -6 | -7 | -90 | -12 | -171 | -31 | -324 | -80 |
| Recuperado 08 | -4 | -3 | -30 | -2 | -205 | -19 | -287 | -31 |
| Recuperado 09 | -6 | -3 | -10 | -4 | -255 | -42 | -302 | -57 |
| Recuperado 10 | -9 | -3 | -196 | -24 | -187 | -26 | -263 | -36 |
| Recuperado 11 | -1 | -3 | -46 | -10 | -316 | -82 | -305 | -86 |
| Recuperado 12 | -4 | -8 | -144 | -6 | -184 | -24 | -127 | -42 |
| **Média** | **-36** | **-5** | **-111** | **-8** | **-232** | **-33** | **-289** | **-60** |
| DP | 73 | 3 | 87 | 6 | 44 | 20 | 90 | 21 |
| **EP** | **21.1** | **0.9** | **25.0** | **1.7** | **12.6** | **5.7** | **26.0** | **6.1** |

***Tabela IX*** *– Variações de pressão arterial média (*ΔPAM*) e freqüência cardíaca (*ΔFC*) provocadas pelas doses de 0.625, 1.25, 2.5 e 5.0 μg/kg de fenilbiguanida para o grupo desnutrido.*

| Animal | 0,625 ug/Kg Fenil | | 1,25 ug/Kg Fenil | | 2,5 ug/Kg Fenil | | 5,0 ug/Kg Fenil | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ***ΔFC*** | ***ΔPAM*** | ***ΔFC*** | ***ΔPAM*** | ***ΔFC*** | ***ΔPAM*** | ***ΔFC*** | ***ΔPAM*** |
| **Desnutrido 01** | -16 | -4 | -20 | -5 | -287 | -58 | -329 | -84 |
| **Desnutrido 02** | -12 | -8 | -6 | -7 | -186 | -61 | -272 | -82 |
| **Desnutrido 03** | -30 | -8 | -72 | -15 | -377 | -61 | -502 | -111 |
| **Desnutrido 04** | -4 | -4 | -130 | -36 | -190 | -26 | -376 | -79 |
| **Desnutrido 05** | -42 | -5 | -121 | -17 | -317 | -53 | -322 | -61 |
| **Desnutrido 06** | -75 | -26 | -128 | -29 | -297 | -87 | -244 | -87 |
| **Desnutrido 07** | -27 | -10 | -147 | -14 | -374 | -79 | -386 | -75 |
| **Desnutrido 08** | -20 | -1 | -19 | -7 | -308 | -66 | -335 | -84 |
| **Desnutrido 09** | -5 | -3 | -22 | -6 | -384 | -77 | -436 | -117 |
| **Desnutrido 10** | -2 | -2 | -6 | -7 | -314 | -65 | -357 | -94 |
| **Desnutrido 11** | -34 | -12 | -22 | -13 | -386 | -88 | -399 | -74 |
| **Desnutrido 12** | -5 | -1 | -19 | -10 | -76 | -16 | -285 | -61 |
| **Desnutrido 13** | -15 | -9 | -11 | -8 | -244 | -45 | -363 | -75 |
| **Desnutrido 14** | -6 | -13 | -334 | -56 | -366 | -72 | -376 | -66 |
| **Média** | **-21** | **-8** | **-76** | **-16** | **-293** | **-61** | **-356** | **-82** |
| DP | 20 | 7 | 91 | 15 | 92 | 21 | 67 | 17 |
| **EP** | **5.3** | **1.8** | **24.4** | **3.9** | **24.5** | **5.6** | **17.9** | **4.4** |

# *5 - Discussão*

# *5 – Discussão.*

A desnutrição é uma condição patológica associada à restrição do conteúdo protéico ou protéico-calórico da dieta. Esta condição pode ser alcançada por alteração dos componentes da dieta ou por redução da quantidade da mesma. Pode ser induzida em várias fases do desenvolvimento e causar danos variáveis dependendo da fase envolvida.

A desnutrição intra-uterina, induzida por alteração na dieta das fêmeas prenhes, envolve fases de crescimento rápido e pode causar danos irreversíveis em vários sistemas fetais, incluindo o cardiovascular (Barker e cols, 1993). Várias linhas de pesquisa adotam a hipótese de que a desnutrição intra-uterina leva a uma programação fetal, o que predispõe ao desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas. Hipertensão, doenças coronarianas, diabetes tipo II e doenças renais são algumas das desordens relacionadas ao baixo peso ao nascer (Barker e cols, 1990; Barker e cols, 1993; Hoy e cols, 1999; Phillips e cols, 1994).

Durante a amamentação a desnutrição pode ser induzida restringindo a quantidade de dieta das fêmeas (Pedrosa & Moraes-Santos, 1987) ou aumentando o tamanho da ninhada, provocando competição pelo leite materno (Belmar, 1996).

O modelo de desnutrição proposto neste trabalho foi baseado na redução do conteúdo protéico da dieta oferecida ao grupo desnutrido para 6%, o que representa uma redução de 65% da proteína dietética (caseína). Esta metodologia assemelha-se aos métodos utilizados em outros trabalhos da literatura (Agarwal e cols., 1981; Benabe e cols., 1993; Yokogoshi e cols., 1992).

Nossos resultados mostraram que os ratos submetidos à desnutrição apresentaram após 70 dias, uma deficiência de peso corporal em relação aos animais do grupo controle corroborando outros estudos da literatura (SRIVASTAVA e cols., 1974a; ZEMAN, 1967).

Observações visuais obtidas por comparações entre grupos experimentais (grupo desnutrido e controle) indicaram que animais submetidos à desnutrição apresentaram queda de pêlos, menor comprimento e quantidade de tecido adiposo reduzida. Essas

alterações são compatíveis com a adaptação que o organismo promove para se ajustar às condições nutricionais adversas (Benabe & Martinez-Maldonado, 1993; Carraza, 1991).

Conforme estabelecemos em nossa metodologia a recuperação nutricional proposta foi realizada no intuito de avaliarmos a eficiência da recuperação do peso dos animais submetidos à desnutrição. Diante do proposto, nossos resultados apontaram para o grupo em recuperação, um ganho de peso numa taxa muito superior ao grupo controle demonstrando que mudanças adaptativas podem ocorrer em conseqüência da desnutrição, levando a otimização do aproveitamento dietético ou ao prejuízo na oxidação de macronutrientes no organismo em recuperação (Hoffman e cols, 2000; Sawaya e cols, 2003), o que pode resultar em ganho de peso aumentado.

O peso corporal dos animais submetidos à restrição protéica estabiliza e após 70 dias de desnutrição o ganho de peso está mantido em praticamente zero. Apesar dos animais desnutridos ingerirem quantidades equivalentes de dieta por grama de peso corporal em relação ao grupo controle, a ausência de ganho de peso mostra que o baixo conteúdo protéico da dieta provavelmente não disponibiliza proteínas para formação e crescimento dos órgãos. Além disso, apesar das dietas oferecidas aos grupos controle e experimental possuírem o mesmo conteúdo calórico por grama, é possível que os ratos desenvolvam uma desnutrição protéico-calórica pelo aumento da taxa de metabolismo basal e da atividade simpática verificadas nestes animais (Tropia e cols, 2001).

O peso corporal dos animais submetidos à recuperação nutricional aumenta significativamente nas 5 semanas de recuperação. A desnutrição pós-desmame realizada pela redução de 65% do componente protéico da dieta, numa fase de crescimento lento dos ratos, possivelmente atenua os efeitos desta restrição sobre os sistemas, que já foram previamente formados. Estudos em animais mostraram que o crescimento normal do rato e de seus órgãos está relacionado a aquisição de novas células e manutenção do seu tamanho. Posteriormente, o crescimento está associado com a hiperplasia e hipertrofia, e finalmente, com a hiperplasia somente (Winick & Noble, 1965). Estes estágios emergem gradualmente e sua duração varia em cada órgão. Até a amamentação todos os órgãos crescem primariamente por divisão celular. Entre a amamentação e os 65 dias de idade o padrão de crescimento de alguns órgãos como cérebro e fígado já é modificado. Após 65 dias, o crescimento em todos os órgãos é devido principalmente, ao aumento no tamanho da célula. Portanto, o efeito de qualquer estímulo na inibição do

crescimento pode ser tempo-dependente. Estudos têm mostrado que quanto mais cedo uma restrição alimentar for imposta mais difícil é a reversão do quadro (Becroft & Bailey, 1965; Mccance & Widdowson, 1962). Parâmetros anatômicos e histológicos de órgãos isolados realizados em nosso laboratório têm confirmado os prejuízos diferenciados em determinados órgãos. Esses resultados ainda que preliminares, confirmam tais hipóteses.

Com relação ao grupo recuperado, é possível que o aumento do ganho de peso verificado possa, a longo prazo, causar um excesso de peso corporal e aumentar a incidência de doenças crônico-degenerativas. Estes resultados coadunam com dados da literatura que mostram que existem alterações metabólicas em tecidos e sistemas de crianças expostas a desnutrição e a maioria destas alterações parece afetar a conservação de energia. Há evidências de um estoque desproporcional de tecido adiposo em crianças recuperadas da desnutrição. Além disso, a aumentada prevalência de adultos obesos em países em desenvolvimento coincide com as altas prevalências de desnutrição, o que podemos comprovar em nosso país (Sawaya e cols., 1995; Sawaya e cols., 2003). Hoffman e cols (2000) documentaram que crianças com baixa estatura apresentam prejuízos na oxidação de gordura, o que leva a um aumento da prevalência de obesidade nesses indivíduos (Hoffman e cols, 2000). A baixa estatura decorrente da desnutrição também tem sido relacionada a hipertensão (Gaskin e cols., 2000; Sichieri e cols., 2000). Crianças com baixa estatura apresentam níveis elevados de glicemia de jejum, triglicérides, LDL colesterol e colesterol total (Velasquez-Melendez e cols., 1999).

Nossos resultados demonstraram que a restrição protéica causou uma queda das proteínas plasmáticas marcadoras de desnutrição. Estes valores foram restabelecidos pela recuperação nutricional, corroborando dados da literatura que têm mostrado que as concentrações de proteínas plasmáticas circulantes, em particular, albumina, vem sendo tradicionalmente usadas como marcadores da desnutrição e da recuperação nutricional. Tem sido assumido que elas refletem a disponibilidade de aminoácidos para a síntese protéica (Reid & Campbell, 2004). Nossos resultados mostraram que o grupo desnutrido possui menores níveis de proteína total e albumina plasmática (*tabela II)*, resultados similares aos encontrados em outros trabalhos da literatura (Escriva e cols., 1991f; Young e cols., 1985a).

Os níveis de glicose dos grupos controle, recuperado e desnutrido estão dentro da faixa de normalidade para ratos (Olfert & Cross, 1993) apesar de termos observado uma diminuição dos níveis de glicose do grupo desnutrido em relação aos grupos controle e recuperado. Este fato pode estar relacionado aos efeitos da desnutrição, pois, vários trabalhos em humanos e em animais têm mostrado que a desnutrição causa uma alteração na homeostase de glicose (Agote & Goya, 2001; Escriva e cols., 1991e; Young e cols., 1985b) e aumento da captação de glicose por alguns órgãos como o coração. Foi observado que os animais desnutridos apresentam uma diminuição da resposta secretora de insulina pelas células β após estímulos fisiológicos. Por outro lado, estes mesmos animais apresentam uma tolerância normal à glicose o que poderia ser devido a uma maior sensibilidade dos tecidos à ação da insulina (Gavete e cols., 2002a; Agote & Goya, 2001; Escriva e cols., 1992; Escriva e cols., 1991c). Estes dados são consistentes com algumas observações da literatura que indicam que a glicose sanguínea dos ratos desnutridos está mantida normal (Escriva e cols., 1991b; Gonzalez-Barranco e cols., 2003). Gavete e colaboradores (2002) mostraram que a taxa de utilização de glicose no coração de ratos desnutridos está elevada em relação ao coração de ratos normais. Trabalhos têm demonstrado que os animais desnutridos são mais sensíveis à ação da insulina e apresentam maior captação e utilização de glicose pelos músculos diafragama, gastrocnêmico e coração (Agote & Goya, 2001; Escriva e cols., 1991a; Escriva e cols., 1992; Gavete e cols., 2002b) o que poderia explicar a diminuição dos níveis de glicose nos animais desnutridos.

Nossos resultados mostraram que durante a desnutrição os animais dos grupos controle e experimental ingeriram a mesma quantidade de ração por grama de peso corporal, dados consistentes com outros trabalhos na literatura (Benabe & Martinez-Maldonado, 1993; Martinez-Maldonado & Benabe, 1993). O grupo controle apresentou um aumento na ingestão de água, assim como, um aumento na ingestão de água por grama de peso corporal em relação ao grupo desnutrido. O grupo recuperado apresentou um padrão de elevação da ingestão hídrica proporcional ao ganho de peso chegando a alcançar valores equivalentes ao grupo controle. A menor ingestão de líquido no grupo desnutrido pode estar relacionada às alterações do sistema renina angiotensina verificadas nestes animais (Oliveira e cols, 2004). Ratos desnutridos apresentam elevação nos níveis de pressão arterial e aumento das concentrações de angiotensina II,

o que provavelmente aumenta os níveis de aldosterona e pode causar conseqüente retenção de sódio e água. A ativação deste mecanismo poderia levar a alterações da ativação do centro da sede e menor ingestão hídrica. Além disso, alterações nas concentrações de angiotensina II centrais poderiam modificar a ingestão hídrica.

As bradicardias decorrentes de injeções endovenosas de fenilbiguanida não apresentaram diferenças entre os grupos experimentais e controle. As doses de 2.5 e 5.0 mg/kg provocaram profundas bradicardias em todos os grupos, o que em alguns casos chegou a promover uma parada cardíaca. Acreditamos, portanto, que o RBJ além de atuar na modulação da pressão arterial funcione como um sistema de alerta que desliga o sistema cardiovascular nas situações em que a sobrecarga possa causar risco de falência cardíaca. Este reflexo agiria desligando o coração e o sistema vascular através de uma intensa inibição do componente simpato-excitatório e aumento da descarga vagal para o coração. A ativação de fibras C quimiossenssitivas por substâncias químicas é responsável por uma profunda bradicardia, hipotensão e apnéia (Krayer, 1961; Thoren, 1979) o que poderia explicar o efeito on-off deste sistema de alerta. Além disso, estudos têm mostrado que a estimulação nervosa vagal tem sido usada como terapêutica para pacientes com epilepsia refratária, o que diminui a freqüência de ataques (Ben-Menachem e cols, 1994). Imran e colaboradores (2004) mostraram que é possível conseguir uma completa paralisação do coração em pacientes com este tipo de distúrbio. A ausência de sístole ventricular ocorreu por 6 a 15 segundos, se resolveu sem nenhuma intervenção e possuiu onda P regular com ausência de atividade ventricular, indicando um completo bloqueio da onda AV (Imran e cols, 2004).

A hipotensão provocada por ativação do RBJ apresentou maior queda no grupo desnutrido nas doses de 2.5 e 5.0 μg/kg em relação ao grupo controle. Isto pode ser explicado pelo aumento do tônus vasomotor encontrado nos animais desnutridos, o que leva a uma maior queda de pressão arterial quando da ativação do RBJ. Vale ressaltar que a recuperação nutricional reverteu o aumento da responsividade do RBJ encontrada nos animais desnutridos. Portanto, não foram observadas diferenças significativas nas hipotensões e bradicardias decorrentes da ativação do RBJ entre os grupos controle e recuperado.

Dados de nosso laboratório demonstraram alterações bioquímicas, nutricionais e cardiovasculares decorrentes da desnutrição protéica (Oliveira e cols, 2004). Tropia e colaboradores (2001) observaram maior queda da pressão arterial e maior taquicardia nos animais desnutridos em relação aos animais controle após a administração de prasozin (1 mg/Kg, i.v.), sugerindo maior atividade do tônus simpático vasomotor nesses animais. Estes mesmos autores não encontraram diferenças significativas nos níveis basais de pressão arterial média. Entretanto, Oliveira e cols (2004) observaram um aumento significativo dos níveis basais de pressão arterial média e freqüência cardíaca de ratos desnutridos, após utilização de uma metodologia com maior tempo de análise e aumento no número de animais utilizados. Estes resultados, de certa forma, seriam esperados uma vez que dados da literatura (Belmar, 1996; Young e cols., 1985c) e resultados de nosso laboratório (Tropia e cols., 2001; Martins e cols., 2003), indicaram que os animais desnutridos apresentam tônus simpático vasomotor elevado. Outro resultado seria a alteração do índice autonômico cardíaco apresentado pelos ratos desnutridos. Esses dados indicam um aumento da atividade simpática cardíaca e principalmente um maior risco de morte súbita, o que tornaria este insulto nutricional de magnitude social significativa (Martins e cols, 2003a).

Dados anteriores do nosso laboratório demonstraram que os ratos desnutridos apresentam maior sensibilidade dos reflexos cardíacos: barorreflexo e reflexo Bezold-Jarisch e aumento do tônus simpático vasomotor (Tropia e cols, 2001). O sistema nervoso simpático tem sido definido como um sistema que possui importante papel na regulação fisiológica das funções cardiovasculares, renais e endócrinas. Logo, alterações na atividade simpática podem contribuir para o desenvolvimento e persistência de várias formas de hipertensão (Contreras e cols, 2002). Diversos fatores podem estar envolvidos na elevação da pressão arterial média e freqüência cardíaca observada em nosso modelo experimental, dentre estes destacamos a maior atividade do sistema nervoso simpático e sistema renina-angiotensina-aldosterona.

Resultados preliminares do nosso laboratório mostraram que os níveis basais de PAM dos animais desnutridos, após a administração de enalapril (inibidor da enzima conversora de angiotensina) foram significativamente reduzidos. Esses dados corroboram outros trabalhos da literatura que indicam um aumento da atividade do SRA em animais desnutridos (Benabe e cols 1993b; Benabe e Martinez-Maldonado, 1996;

Benabe e Martinez-Maldonado, 1998) e sugerem uma participação deste mecanismo na elevação da pressão arterial em ratos desnutridos. Neste mesmo estudo a FC não foi alterada antes e após o tratamento com enalapril. Com relação aos animais do grupo controle não foram observadas diferenças entre os valores de PAM e FC antes e após o tratamento com enalapril.

Nossos resultados demonstram que após a recuperação nutricional de 5 semanas, foi observada uma recuperação do peso dos animais, um retorno dos níveis basais de pressão arterial média e freqüência cardíaca aos valores controle e uma normalização da responsividade do RBJ. Entretanto, ainda não são conhecidos os efeitos desta recuperação a longo prazo. É possível que ratos recuperados da desnutrição a longo prazo possam apresentar novas alterações dos parâmetros cardiovasculares e ainda um aumento do peso. A literatura tem mostrado que após a recuperação nutricional, crianças previamente desnutridas apresentam peso superior a crianças bem nutridas da mesma idade (Ashworth, 1969). Além disso, o baixo peso em 1 ano de idade está associado a um aumento do risco de doença cardiovascular (Barker e cols, 1993) e mudanças nas concentrações plasmáticas de glicose e insulina (Lucas, 1998). A baixa estatura decorrente da desnutrição na infância também tem sido relacionada a hipertensão (Gaskin e cols, 2000; Sichieri e cols, 2000). Velásquez-Melendez e colaboradores (1999) encontraram níveis mais altos de glicemia de jejum, triglicerídeos, colesterol LDL e colesterol total. Além disso, Hoffman e colaboradores (2000) concluíram que crianças com baixa estatura apresentam prejuízos da oxidação de gordura, um dos fatores preditores de obesidade (Hoffman e cols, 2000).

Corroborando estes achados, Sawaya e colaboradores (2003) documentaram que o aumento da gordura corporal tem coincidido com o aumento da prevalência de doenças fortemente associadas com o excesso de peso como diabetes tipo II e doenças cardiovasculares (Sawaya e cols, 2003). Paralelamente, existem evidências de aumento das prevalências de desnutrição e obesidade nas mesmas populações. Sawaya e colaboradores (1995) demonstraram prevalência de 30% de desnutrição e 15% de obesidade na mesma população carente e encontraram indivíduos obesos e desnutridos na mesma família. Portanto, é plausível pensar que a síndrome metabólica ou X, caracterizada por hipertensão arterial, obesidade abdominal, hipertrigliceridemia,

redução do colesterol HDL, resistência à insulina, entre outros fatores poderia ter sua gênese na desnutrição.

# *6 – Sumário e Conclusões*

# *6 – Sumário e Conclusões*

1. O peso corporal do grupo desnutrido apresentou-se diminuído em relação aos grupos controle e recuperado. Este parâmetro aliado às alterações dos parâmetros bioquímicos demonstrou que a dieta composta por 6% de proteína foi eficiente no processo de desnutrição. O peso corporal do grupo recuperado apresentou- se aumentado em relação ao grupo desnutrido, mas não foi equivalente ao grupo controle. Esses dados sugerem que a recuperação nutricional não consegue reverter totalmente a perda de peso corporal causada pela desnutrição.
2. O grupo desnutrido ingeriu quantidades significativamente menores de dieta em relação ao grupo controle. Em contrapartida, a ingestão de dieta por grama de peso corporal durante o período de desnutrição não foi diferente entre os grupos mostrando que a despeito da ingestão adequada por peso corporal e da equivalência calórica da dieta, a restrição protéica por si só, promoveu uma deficiência de peso. A ingestão de dieta durante a recuperação foi gradativamente aumentada chegando a alcançar valores controle ao final da recuperação.
3. A ingestão de água e a ingestão de água por grama de peso corporal foram acentuadamente superiores no grupo controle em relação ao desnutrido, mostrando que mecanismos centrais e/ou periféricos podem estar alterando a regulação da ingestão hídrica. A ingestão do grupo recuperado aumentou proporcionalmente ao aumento do peso corporal, mostrando que a administração de uma dieta normocalórica e normoprotéica reverte os efeitos da desnutrição sobre os mecanismos de controle hídrico.
4. Os valores bioquímicos (proteína total, albumina e glicose) foram alterados pela desnutrição havendo uma diminuição das proteínas plasmáticas e dos níveis de glicose. Estes parâmetros foram normalizados após a recuperação nutricional sugerindo que este achado possa ser uma alteração transitória decorrente da desnutrição.

5. O hemograma do grupo desnutrido apresentou uma diminuição significativa em relação ao grupo controle. Este mesmo parâmetro foi restabelecido no grupo recuperado o que sugere que a anemia e diminuição do hematócrito causadas pela restrição protéica podem ser revertidas pela recuperação nutricional.

6. Os níveis basais da PAM e FC dos animais desnutridos apresentaram uma elevação significativa em relação aos animais controle. A recuperação nutricional reverteu os efeitos causados pela desnutrição normalizando os parâmetros PAM e FC basais. Estes resultados mostraram que a restrição protéica promoveu alterações nos parâmetros cardiovasculares analisados e que a recuperação nutricional de 5 semanas reverteu os efeitos causados pela desnutrição.

7. As hipotensões decorrentes da ativação do Reflexo Bezold-Jarisch após injeções endovenosas de fenilbiguanida não demonstraram que a desnutrição protéica causa uma potenciação da resposta hipotensora nas doses de 2.5 e 5.0μg/kg o que é revertido após recuperação nutricional.

8. As bradicardias decorrentes da ativação do Reflexo Bezold-Jarisch após injeções endovenosas de fenilbiguanida não se mostraram potenciadas no grupo desnutrido e recuperado em relação ao grupo controle, mostrando que o componente bradicárdico do RBJ está normalizado em animais recuperados e nos desnutridos por 70 dias.

9. Concluímos, portanto, que a recuperação nutricional reverte parcialmente os efeitos danosos causados pela desnutrição uma vez que houve recuperação parcial do peso corporal, normalização dos parâmetros bioquímicos, retorno dos níveis basais de PAM e FC aos níveis pré-desnutrição e uma reversão da potenciação do RBJ encontrada após restrição protéica. Entretanto, não se sabe quais seriam os efeitos da desnutrição e recuperação nutricional a longo prazo.

# *7. Bibliografia*

# *7. Bibliografia*


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.

AGOTE M. & GOYA L. (2001) Glucose uptake and Glucose Transporter Proteins in Skeletal Muscle from Undernourished Rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281, E1101-E1109

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.

AZZOLIN I.R., BERNARD E.A., TRINDADE V.M., GAMALLO J.L. & PERRY M.L. (1991) Effect of protein malnutrition on glycoprotein, protein and lipid synthesis in the rat cerebellum during the period of brain growth spurt. *Ann.Nutr.Metab* 35, 82-88.

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., 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.

BECROFT T. & BAILEY K.V. (1965) Supplementary feeding trial in New Guinea Highland infants. *J Trop.Pediatr.Afr.Child Health* 11, 28-34.

BELMAR J.C.P.H.A.&.S.-M.R. (1996) Malnutrition early in life impairs alpha-2 adrenoreceptor regulation of noradrenaline release in the rat cerebral cortex. *Nutrition Research* 16, 1734

BEN-MENACHEM E., MANON-EPSAILLAT R. & RISTANOVIC R. (1994) Vagus nerve stimulation of treatment of partial seizures: A controled study of effect on seizures. Epilepsia 35, 616, 626.

BENABE J.E.& MARTINEZ-MALDONADO M. (1993) Modulation of Ang II Receptor and its mRNA in Normal Rat by Low-Protein Feeding. *Am J Physio (Renal Fluid Eletrolyte Physiol)* 34, F660-F669

BENABE J.E.& MARTINEZ-MALDONADO M. (1998) The impact of malnutrition on Kidney function. Miner Electrolyte Metab 24,20-26.

BENABE J.E.& MARTINEZ-MALDONADO M. (1996) Nutritional influences on renin-angiotensin gene expression. Nutrition metabolism and cardiovascular diseases 6, 46-52.

BENABE J.E. M., WANG S., WILCOX J.N. & MARTINEZ-MALDONADO (1993a) Modulation of ANG II receptor and its mRNA in normal rat by low-protein feeding. Am J Physiol Renal Physiol 265, F660-669.

BENABE J.E. M., WANG S., WILCOX J.N. & MARTINEZ-MALDONADO (1993b) Modulation of ANG II receptor and its mRNA in normal rat by low-protein feeding. Am J Physiol 265, F660-669.

BENNIS-TALEB N. R.C.H.J.J.&.R.B. (1999) A low-protein isocaloric diet during gestation affects brain development and alters permanently cerebral cortex blood vessels in rat offspring. *Journal of Nutrition* 129, 1619

BRODY M.J., VARNER K.J., VASQUEZ E.C. & LEWIS S.J. (1991) Central-Nervous-System and the Pathogenesis of Hypertension - Sites and Mechanisms. *Hypertension* 18, S7-S12

CARRAZA F.F. (1991) Desnutrição Energético-Protéica. *Nutrição Clinica em Pediatria* 265-278.(Abstract)

CHEN H.I. (1979) Interaction Between the Baroreceptor and Bezold-Jarisch Reflexes. *American Journal of Physiology* 237, H655-H661

CHIANCA D.A.JR. & MACHADO B.H. (1994) The sensitivity of the Bezold-Jarisch reflex is increased in rats with sinoaortic deafferentiation. *Brazilian J.Med.Biol.Res.* 27, 775-781.

CHIANCA D.A., Jr., BONAGAMBA L.G. & MACHADO B.H. (1997) Neurotransmission of the Bezold-Jarisch reflex in the nucleus tractus solitarii of sino-aortic deafferentated rats. *Brain Res* 756, 46-51.

CONTRERAS.F, CABRERA J. & VELASCO M. (2002) Functional Aspects of the renin-angiotensin-adosterone System and Angiotensin II Receptor AT1 Blockers in Arterial Hypertensio. *International Congress Series* 87-98.

DAMPNEY R.A.L. (1994) Functional-Organization of Central Pathways Regulating the Cardiovascular-System. *Physiological Reviews* 74, 323-364.

ESCRIVA F., KERGOAT M., BAILBE D., PASCUAL-LEONE A.M. & PORTHA B. (1991a) Increased insulin action in the rat after protein malnutrition early in life. *Diabetologia* 34, 559-564.

ESCRIVA F., KERGOAT M., BAILBE D., PASCUAL-LEONE A.M. & PORTHA B. (1991b) Increased insulin action in the rat after protein malnutrition early in life. *Diabetologia* 34, 559-564.

ESCRIVA F., KERGOAT M., BAILBE D., PASCUAL-LEONE A.M. & PORTHA B. (1991c) Increased insulin action in the rat after protein malnutrition early in life. *Diabetologia* 34, 559-564.

ESCRIVA F., KERGOAT M., BAILBE D., PASCUAL-LEONE A.M. & PORTHA B. (1991d) Increased insulin action in the rat after protein malnutrition early in life. *Diabetologia* 34, 559-564.

ESCRIVA F., KERGOAT M., BAILBE D., PASCUAL-LEONE A.M. & PORTHA B. (1991e) Increased insulin action in the rat after protein malnutrition early in life. *Diabetologia* 34, 559-564.

F.C.TROPIA, L.M.CARDOSO, M.L.PEDROSA, M.E.SILVA, A.S.HAIBARA & M.F.D.MORAES AND D.A.CHIANCA JR. (2001) Effects of Low-Protein Diet on the Baroreflex and Bezold-Jarisch Reflex in Conscious Rats. *Nutritional Neuroscience* 4, 99-107.

F.ESCRIVA, C.RODRIGUES & J.CACHO (1992) Glucose Utilization and Insulin Action in Adult Rats Submitted to Prolonged Food Restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 263, E1-E7

GASKIN P.S., WALKER S.P., FORRESTER T.E. & GRANTHAM-MCGREGOR S.M. (2000) Early linear growth retardation and later blood pressure. *European Journal of Clinical Nutrition* 54, 563-567.

GAVETE M.L., AGOTE M., MARTIN M.A., ALVAREZ C. & ESCRIVA F. (2002b) Effects of chronic undernutrition on glucose uptake and glucose transporter proteins in rat heart. *Endocrinology* 143, 4295-4303.

GAVETE M.L., AGOTE M., MARTIN M.A., ALVAREZ C. & ESCRIVA F. (2002a) Effects of chronic undernutrition on glucose uptake and glucose transporter proteins in rat heart. *Endocrinology* 143, 4295-4303.

GOLDBERGER J.J. (1999) Sympathovagal balance: how should we measure it? *Am J Physiol* 276, H1273-H1280

GONZALEZ-BARRANCO J., RIOS-TORRES J.M., CASTILLO-MARTINEZ L., LOPEZ-ALVARENGA J.C., AGUILAR-SALINAS C.A., BOUCHARD C., DEPRES J.P. & TREMBLAY A. (2003) Effect of malnutrition during the first year of life on adult plasma insulin and glucose tolerance. *Metabolism* 52, 1005-1011.

H.RUPP B.J. (2001) The renin-angiotensin system and the sympathetic nervous system in hypertension and congestive heart failure: implications for therapeutic interventions. *J.Clin Basic Caardiol* 4, 47-52.

HOFFMAN D.J., SAWAYA A.L., VERRESCHI I., TUCKER K.L. & ROBERTS S.B. (2000) Why are nutritionally stunted children at increased risk

of obesity? Studies of metabolic rate and fat oxidation in shantytown children from Sao Paulo, Brazil. *American Journal of Clinical Nutrition* 72, 702-707.

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.

IMRAN I.A., NOOR A.P., YOUSUF K., BRAXTON W & AZEDINE M. (2004). Complete heart block with ventricular asystole during left vagus nerve stimulation for epilepsy. Epilepsy and Behavior 5,768-771.

JNC 7 (2003) The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (JNC 7). *JAMA* 289 (19), 1-86.

KELLER E.A., MUNARO N.I. & ORSINGHER O.A. (1982) Perinatal undernutrition reduces alpha and beta adrenergic receptor binding in adult rat brain. *Science* 215, 1269-1270.

KRAYER O. (1961) The history of the Bezold-Jarisch effect. *Ned.Milit.Geneeskd.Tijdschr.* 240, 361-368.

LANGLEY-EVANS S.C., LANGLEY-EVANS A.J. & MARCHAND M.C. (2003) Nutritional programming of blood pressure and renal morphology. *Arch.Physiol Biochem.* 111, 8-16.

LANGLEY-EVANS S.C., PHILLIPS G.J., BENEDIKTSSON R., GARDNER D.S., EDWARDS C.R., JACKSON A.A. & SECKL J.R. (1996) Protein intake in pregnancy, placental glucocorticoid metabolism and the programming of hypertension in the rat. *Placenta* 17, 169-172.

LAW C.M. & SHIELL A.W. (1996) Is blood pressure inversely related to birth weight? The strength of evidence from a systematic review of the literature. *Journal of Hypertension* 14, 935-941.

LEE T.M., CHAI C.Y. & KUO J.S. (1972) Central Integrating Mechanism of Bezold-Jarisch and Baroceptor Reflexes. *American Journal of Physiology* 222, 713-&

LESSA I. (2001) Epidemiologia da Hipertensão Arterial Sistêmica e da Insuficiência Cardíaca no Brasil. *Rev.Bras.Hipertens.* 9(4), 383-392.

LINDQUIST T.L., BEILIN L.J. & KNUIMAN M.W. (1997) Influence of lifestyle, coping, and job stress on blood pressure in men and women. *Hypertension* 29, 1-7.

LUCAS A. (1998) Programming by early nutrition: An experimental approach. *Journal of Nutrition* 128, 401S-406S.

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. M.H.C.-J.D.A.H.A.S.&.C.E. (1997) Autonomic processing of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitari. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 30, 543

MACHADO C.R.S. M.-S.T.&.M.A.B.M. (1984) Cardiac noradrenalin in relation to protein malnutrition in chronic experimental chagas disease in the rat. *American Journal of Tropical Medicine an Hygiene* 33, 838

MACHADO B.H., MAUAD H., CHIANCA JUNIOR D.A., HAIBARA A.S. & COLOMBARI E. (1997) Autonomic processing of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitarii. *Braz.J Med Biol.Res* 30, 533-543.

MACHADO C.R., MORAES-SANTOS T. & MACHADO A.B. (1984) Cardiac noradrenalin in relation to protein malnutrition in chronic experimental Chagas' disease in the rat. *Am.J.Trop.Med Hyg.* 33, 835-838.

MANJARREZ G.G., MAGDALENO V.M., CHAGOYA G. & HERNANDEZR J. (1996) Nutritional recovery does not reverse the activation of brain serotonin synthesis in the ontogenetically malnourished rat. *International Journal of Developmental Neuroscience* 14, 641-648.

MARTINEZ-MALDONADO M. & BENABE J.E. (1993) Renal Renin, Angiotensinogen, and ANG I-Converting-enzyme Gene Expression: Influence of Dietary Protein. *Am J Physio (Renal Fluid Eletrolyte Physiol)* 264, F981-F988

MARTINS C.D.D., OLIVEIRA E.L., CARDOSO L.M., CHIANCA JUNIOR D.A., SILVA M.E. & MOREAIS M.F.D. (2003) Avaliação do índice autonômico cardíaco de ratos submetidos a desnutrição protéica. Anais FeSBE.

MARTINS C.D.D., OLIVEIRA E.L., CARDOSO L.M., CHIANCA JUNIOR D.A., SILVA M.E. & MOREAIS M.F.D. (2003a) Intrinsic Heart Rate in Awaked Rats Submitted to Low Protein Diet. *XXI Congress of the Latin American Association of Physiological Sciences* 1, 120(Abstract)

MCCANCE R.A. & WIDDOWSON.EM (1974) Review Lecture - Determinants of Growth and Form. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 185, 1-&

MCCANCE R.A. & WIDDOWSON E.M. (1962) Nutrition and Growth. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 156, 326-&

OLFERT E.D. & CROSS B.M.&.M.A.A. (1993) Canadian Council on Animal Care. Guide to the Care and Use o Experimental Animals. In Ed Bradda Printing Services. Ottawa, Ontario:

OLIVEIRA E.L., CARDOSO L;M., PEDROSA M.L., SILVA M.E., DAN N.J., COLOMBARI E., MORAES M.F. & CHIANCA D.A., Jr (2004) Alow protein diet causes na increase in the basal levels and variability of mean arterial pressure and heart rate in Fisher rats. Nutr neurosci. 7,201-205.

PEDROSA M.T.& MORAES-SANTOS T. (1987) Neuronal protein biosyntesis by neonatally malnourished and nutritional recovered rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 20, 338

PEREIRA A.C., MOTA G.F.A., CUNHA R.S., HERBENHOFF F.L., MILL J.G. & KRIEGER J.E. (2003) Angiotensinogen 235T allele "dosage" is associated with blood pressure phenotypes. *Hypertension* 41, 25-30.

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.

REID C.L. & CAMPBELL I.T. (2004) Metabolic Physiology. *Current Anaesthesia & Critical Care* 15, 209-217.

RESNICK O. & MORGANE P.J. (1984) Ontogeny of the Levels of Serotonin in Various Parts of the Brain in Severely Protein Malnourished Rats. *Brain Research* 303, 163-170.

SAWAYA A.L., DALLAL G., SOLYMOS G., DESOUSA 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. *Obesity Research* 3, S107-S115

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. *Nutrition Reviews* 61, 168-175.

SHEPHERD J.T. (1982) Reflex Control of Arterial Blood-Pressure. *Cardiovascular Research* 16, 357-370.

SICHIERI R., SIQUEIRA K.S. & MOURA A.S. (2000) Obesity and abdominal fatness associated with undernutrition early in life in a survey in Rio de Janeiro. *International Journal of Obesity* 24, 614-618.

SRIVASTAVA U., VU M.L. & GOSWAMI T. (1974) Maternal dietary deficiency and cellular development of progeny in the rat. *J.Nutr.* 104, 512-520.

THOREN P. (1979) Role of cardiac vagal C-fibers in cardiovascular control. *Rev Physiol Biochem.Pharmacol* 86, 1-94.

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.

VASQUEZ E.C. (1994) Contribution of the Cardiopulmonary Reflex to the Cardiovascular Regulation in Normal and Pathophysiological States. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 27, 1049-1064.

VELASQUEZ-MELENDEZ G., MARTINS I.S., CERVATO A.M., FORNES N.S., MARUCCI M.D.N. & COELHO L.T. (1999) Relationship between stature, overweight and central obesity in the adult population in Sao Paulo, Brazil. *International Journal of Obesity* 23, 639-644.

VERBERNE A.J. & GUYENET P.G. (1992a) Medullary pathway of the Bezold-Jarisch reflex in the rat. *Am.J.Physiol* 263, R1195-R1202

VERBERNE A.J. & GUYENET P.G. (1992b) Midbrain central gray: influence on medullary sympathoexcitatory neurons and the baroreflex in rats. *Am.J.Physiol* 263, R24-R33

WIDDOWSON E.M. (1963a) Nutritional Indiviualiy. *J.Coll.Gen.Pract.* 19, SUPPL2-SUPPL6

WIDDOWSON E.M. (1963b) The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat. *Proc.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* 158, 329-342.

WINICK M. & NOBLE A. (1965) Quantitative changes in DNA, RNA, and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Dev.Biol.* 12, 451-466.

WINICK M. & NOBLE A. (1966a) Cellular Response in Rats During Malnutrition at Various Ages. *Journal of Nutrition* 89, 300-&

WINICK M. & NOBLE A. (1966b) Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J.Nutr.* 89, 300-306.

YOKOGOSHI H., HAYASE K. & YOSHIDA A. (1992) The quality and quantity of dietary protein affect brain protein synthesis in rats. *J.Nutr.* 122, 2210-2217.

YOUNG J.B., KAUFMAN L.N., SAVILLE M.E. & LANDSBERG L. (1985c) Increased sympathetic nervous system activity in rats fed a low-protein diet. *Am.J.Physiol* 248, R627-R637

YOUNG J.B., KAUFMAN L.N., SAVILLE M.E. & LANDSBERG L. (1985b) Increased sympathetic nervous system activity in rats fed a low-protein diet. *Am.J.Physiol* 248, R627-R637

YOUNG J.B., KAUFMAN L.N., SAVILLE M.E. & LANDSBERG L. (1985a) Increased sympathetic nervous system activity in rats fed a low-protein diet. *Am.J.Physiol* 248, R627-R637

ZEMAN F.J. (1967) Effect of the young rat of maternal protein restriction. *J.Nutr.* 93, 167-173.