



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA - PPGM

José Emerson Xavier

**ESTUDOS MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DO
CORAÇÃO E DA ARTÉRIA AORTA EM RATOS
ADULTOS DESMAMADOS PRECOCEMENTE**

Recife
2017

José Emerson Xavier

**ESTUDOS MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DO
CORAÇÃO E DA ARTÉRIA AORTA EM RATOS
ADULTOS DESMAMADOS PRECOCEMENTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Área de Concentração: Morfologia e Métodos Clássicos e Avançados

Orientadora: **Prof.^a Dr.^a Juliana Pinto de Medeiros**

Coorientadora: **Prof.^a Dr.^a Lisiane dos Santos Oliveira**

Recife

2017

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Xavier, José Emerson

Estudos morfológico e morfométrico do coração e da artéria aorta em ratos adultos desmamados precocemente. / Recife: O Autor, 2017.

69 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Juliana Pinto de Medeiros

Coorientadora: Lisiane dos Santos Oliveira

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Morfotecnologia, 2017.

Inclui referências e anexos

1. Morfologia 2. Aorta 3. Desmama precoce I. Medeiros, Juliana Pinto de (orient.) II. Oliveira, Lisiane dos Santos (coorient.) III. Título

571.3

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017- 459

JOSÉ EMERSON XAVIER

**ESTUDOS MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DO CORAÇÃO
E DA ARTÉRIA AORTA EM RATOS ADULTOS DESMAMADOS
PRECOCEMENTE**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Morfotecnologia
do Centro de Biociências da
Universidade Federal de Pernambuco
como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Morfotecnologia.

Aprovado em: 12/09/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Juliana Pinto de Medeiros (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Luciana Maria Silva de Seixas Maia (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof.^a Dr.^a Carolina Peixoto Magalhães (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof.^a Dr.^a Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

CENTRO DE BIOCIÊNCIAS

DIRETOR

Prof.^a Dr.^a Maria Eduarda Larrazábal

VICE-DIRETOR

Prof.^a Dr.^a Oliane Maria Correia Magalhães

Recife

2017



pósMorfotec
Programa de Pós-Graduação
em Morfotecnologia

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

COORDENADOR

Prof.^a Dr.^a Sônia Pereira Leite

VICE-COORDENADOR

Prof.^a Dr.^a Ivone Antônia de Souza

CORPO DOCENTE

Prof. Dr. Antonio Carlos de Freitas

Prof.^a Dr.^a Juliana Pinto de Medeiros

Prof.^a Dr.^a Cláudia Sampaio de Andrade Lima

Prof.^a Dr.^a Kenia Valença Correia

Prof. Dr. Claudio Gabriel Rodrigues

Prof.^a Dr.^a Luciana Maria Silva de Seixas Maia

Prof.^a Dr.^a Eliete Cavalcante da Silva

Prof. Dr. Luiz Lucio Soares da Silva

Prof. Dr. Gilberto Gonçalves Rodrigues

Prof.^a Dr.^a Paloma Lys de Medeiros

Prof.^a Dr.^a Ivone Antônia de Souza

Prof. Dr. Ricardo Yara

Prof. Dr. Jacinto da Costa Silva Neto

Prof.^a Dr.^a Rosa Valeria da Silva Amorim

Prof. Dr. Jeymesson Raphael Cardoso Vieira

Prof.^a Dr.^a Sônia Pereira

Leite

Recife

2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus e a minha família, pois sem o apoio deles nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

À Deus, Pai e ser Grandioso que me guia e me abençoa diariamente. A Ele eu devo a minha vida e cada degrau que subi para chegar na conclusão desse precioso trabalho.

Aos meu pais, José Noel e Rosário Xavier, pessoas de honra e caráter majestoso, que todos os dias me inspiram e me motivam a ser sempre uma pessoa melhor. Sem eles eu não seria absolutamente nada. À vocês o meu maior amor.

Ao meu irmão, Jefferson Xavier por todo incentivo, amizade e companheirismo.

À flor mais linda do jardim da minha vida, minha sobrinha Milena Xavier, por me presentear com o seu amor, seu sorriso e abraço nos momentos que tanto precisei deles. Você trouxe cores aos meus dias cinzentos.

À Rafael Danyllo, meu braço direito e minha grande inspiração de vida. Sem sua ajuda, eu jamais teria concluído esse trabalho com êxito.

À minha orientadora, Juliana Pinto, por seu importante apoio, encorajamento, incentivo, competência, compreensão, paciência e grandeza de conduta. Agradeço-a por ter acreditado em mim e na proposta desse lindo trabalho.

À minha coorientadora, Lisiane Oliveira, por ser uma fortaleza em minha vida. Me acolheu desde a graduação, quando fui seu monitor de anatomia, aluno de iniciação científica e orientando de monografia. Uma pessoa de imenso amor, bondade e fé. Agradeço por Deus tê-la colocado em meu caminho.

À professora Sandra Lopes, por sua grandiosa generosidade. Obrigado por ter concedido parte da realização desse trabalho em seu laboratório. Além de contribuições em diversos aspectos que jamais serão apagadas de minha memória. A senhora é uma grande inspiração pra minha vida.

Ao professor Francisco Amanajás, por toda ajuda concedida, que foi fundamental para que essa pesquisa fosse realizada. Além de um grande professor, o senhor é um exemplo e uma inspiração em minha vida. Um profissional grandioso e que não mede esforços para ajudar a quem precisa. Ao senhor, minha mais alta gratidão.

À Larissa Almeida, por ter sido essencial na realização da etapa experimental desse trabalho. Você foi uma peça fundamental para que tudo tivesse ocorrido da melhor forma. Muito obrigado por tudo.

As maravilhosas estagiárias do Grupo de Pesquisa em Neuroplasticidade e Comportamento, Bruna e Paula, e da aluna Bianca. Obrigado por toda ajuda. Sem vocês, nada teria sido possível.

À minha estimada turma de mestrado, pelo companheirismo, apoio, incentivo e principalmente à quatro pessoas, Eduarda, Erivaldo, Jéssica e Gibbelly, meus queridos “chegados”. Obrigado por terem amenizado os pesares dessa difícil caminhada. E eu espero que a nossa amizade se estenda por toda vida.

Aos meus queridos e importantíssimos amigos, Paloma Silva, Jacqueline Silva, Roberta Silva, Ítalo Bruno, Mércia Barbosa e Priscila Maia. Toda minha gratidão a vocês que tornam minha vida mais feliz.

Aos companheiros da “Sala Precisa”, Ana Roberta, Tathiane, Taciano, Vinícius e Valdemiro. Vocês são pessoas muito importantes em minha vida.

Aos meus queridos companheiros de trabalho, Ardilles, Ivson, Eduarda, Kamilla, Jaciel, Renata, Manuela e demais, por terem me apoiado, incentivado e acreditado em mim, mesmo quando eu desacreditava. Amigos de grande importância em minha vida.

À Carolina Peixoto Magalhães, minha “mãe da Anatomia”, obrigado por sempre me motivar para que eu conseguisse realizar os meus sonhos. Muito obrigado por tudo o que a senhora fez e ainda faz por mim. A senhora é minha maior inspiração docente.

À Rosana Ximenes, por toda amizade, carinho e respeito. Além da colaboração na banca de qualificação. Você sempre acreditou nos meus sonhos e esteve ao meu lado em todos os momentos. Muito obrigado.

Aos meus queridos alunos da turma de nutrição UFPE 2016.2, por terem sido tão maravilhosos nos momentos difíceis. Em especial, agradeço a Talita e Denilson, por todo apoio durante uma importante etapa da pesquisa. Toda minha gratidão a vocês.

Aos técnicos do Laboratório de Anatomia do CAV – UFPE, André, Ewerton e Rosane, por todo apoio e companheirismo para que a pesquisa pudesse ocorrer da melhor forma.

À todos, que de alguma forma colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!!!

“Só é útil o conhecimento que nos torna melhores.”

Sócrates

RESUMO

O desmame é um evento natural na vida dos mamíferos. Quando o período do aleitamento materno é interrompido abruptamente é considerado desmame precoce. Estudos já demonstraram que o desmame precoce é capaz de promover alterações comportamentais. Dessa forma, este estudo trata-se de uma investigação acerca dos efeitos do desmame precoce sobre a morfologia e morfometria do coração e da artéria aorta de ratos adultos. Foram utilizados 16 ratos machos da linhagem *Wistar*. Os grupos experimentais foram formados pelos grupos DP15 (desmame no 15º dia pós-natal) e C30 (desmame no 30º dia pós-natal), com 8 ratos em cada grupo. Após o desmame, os animais foram separados em gaiolas individuais e no 100º dia de vida pós-natal, foram eutanasiados através da perfusão intracardíaca. O coração e a artéria aorta foram coletados e posteriormente processados para a microscopia de luz. As análises foram realizadas a partir de fotomicrografias e do software ImageJ. Foram avaliados o número de cardiomiócitos, a área nuclear e a espessura da aorta. Os resultados mostraram que o desmame precoce promoveu alterações significativas nas variáveis analisadas, provocando a redução da área nuclear dos cardiomiócitos (C:16,77µm ±5,95SD; DP:12,48µm ±7,03SD), hiperplasia do miocárdio (C:30,42µm±11,38SD; DP:48,87µm±13,62SD), diminuição na espessura da artéria aorta (C:168,56µm ±46,61SD; DP:113,81µm±28,01SD) (C:130,69µm±40,75SD; DP:81,62µm ±19,89SD). Baseado em nossos resultados podemos sugerir que o desmame precoce é um tipo de agressão perinatal capaz de provocar alterações na morfologia e morfometria do coração e da artéria aorta de ratos.

Palavras-chave: Aorta Ascendente. Coração. Desmame Precoce. Morfologia.

ABSTRACT

Weaning is a natural event in the life of mammals. When the period of breastfeeding is abruptly interrupted it is considered as early weaning. Studies have shown that early weaning is capable of promoting behavioral changes. Thus, this study is an investigation about the effects of early weaning on the morphology and morphometry of the heart and the aorta artery of rats. Sixteen male Wistar rats were used. The experimental groups were divided into group DP15 (weaning on the 15th postnatal day) and group C30 (weaning on the 30th postnatal day). After weaning, the animals were separated into individual cages and at the 100th postnatal day, they were euthanized by intracardiac perfusion. The heart and aortic artery were collected and later processed for light microscopy. The analyzes were performed using photomicrographs and the ImageJ software. The number of cardiomyocytes, nuclear area, and the aortic thickness were evaluated. The results showed that early weaning promoted significant alterations in the analyzed variables, causing reduction of the nuclear area of cardiomyocytes (C:16,77 μ m $\pm$ 5,95SD; DP:12,48 μ m $\pm$ 7,03SD), myocardial hyperplasia (C:30,42 μ m $\pm$ 11,38SD; DP:48,87 μ m $\pm$ 13,62SD), decreasing thickness of the aorta (C:168,56 μ m $\pm$ 46,61SD; DP:113,81 μ m $\pm$ 28,01SD) (C:130,69 μ m $\pm$ 40,75SD; DP:81,62 μ m $\pm$ 19,89SD). Based on our results, we can suggest that early weaning is a type of perinatal aggression capable of causing changes in the morphology and morphometry of the heart and the aorta artery of rats.

Key-words: Ascending aorta. Heart. Early weaning. Morphology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Secções frontais do coração de ratos controle (A) e submetidos a desnutridos (B) no vigésimo primeiro dia de vida pós-natal (GAMA et al., 2007).....	26
Figura 2 - Mensuração da área nuclear de secção frontal do cardiomiócito. Fotomicrografia ilustrativa do ventrículo esquerdo do coração. H.E. Aumento 400x....	31
Figura 3 – Mensuração da espessura de secção transversal das três túnica da artéria aorta. Fotomicrografia ilustrativa da artéria aorta. H.E. Aumento 100x.....	32
Figura 4 – Efeitos do desmame precoce sobre a área nuclear dos cardiomiócitos de ratos aos 100 dias de vida pós-natal. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$	33
Figura 5 – Efeitos do desmame precoce sobre a quantidade de núcleos por fotomicrografia do coração de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$	34
Figura 6 – Efeitos do desmame precoce sobre a espessura total da artéria aorta de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$	34
Figura 7 – Efeitos do desmame precoce sobre a túnica média da artéria aorta de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$	35
Figura 8 – Teste de Correlação de Spearman sobre os resultados das análises da espessura total e da túnica média da artéria aorta de ratos que sofreram o desmame precoce aos 100 dias. Nível de significância $p \leq 0,05$	35
Figura 9 – Fotomicrografias do coração de ratos. Em “A” animais controle e “B” animais submetidos ao desmame precoce, com 100 dias de vida pós-natal. Observar a quantidade de núcleos em ambos os grupos. H.E. Aumento 400x.....	36
Figura 10 – Fotomicrografias da artéria aorta (porção ascendente) de ratos. Em “A” animais controle e “B” animais submetidos ao desmame precoce, com 100 dias de vida pós-natal. Observar a espessura da artéria em ambos os grupos. H.E. Aumento 100x....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição Centesimal Média do Leite Materno.....	24
--	----

LISTA DE SÍMBOLOS

μm Micrômetro

μm^2 Micrômetro quadrado

% Por cento

” Aspas

$\leq$ Menor que

= Sinal de igual

$\pm$ Mais ou menos

$^{\circ}$ Grau

g Grama

Kg Quilograma

mL Mililitro

NaCl Cloreto de sódio

pH Potencial hidrogeniônico

® Registrado

LISTA DE ABREVIATURAS

C/C30 Grupo Controle/Celsius

CART Transcrito Relacionado a Cocaína e Anfetamina

D2 Receptor Dopaminérgico do Tipo 2

DP/D15 Grupo Desmame Precoce

G0 É a fase do ciclo celular onde a célula permanece indefinidamente na intérfase

HE Hematoxilina & Heosina

JPEG Joint Photographics Experts Group

n Número de Ratos

NPY Neuropeptídeo Y

p Nível de Significância

SPSS Statistical Package for Social Science

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1 Sistema Cardiovascular	20
2.2 Lactação.....	23
2.3 Programação Metabólica	24
2.3.1 Desnutrição Perinatal.....	25
2.3.2 Desmame Precoce	26
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Aspectos Éticos.....	29
4.2 Animais	29
4.3 Desmame Precoce	29
4.3.1 Grupos Experimentais	30
4.4 Eutanásia	30
4.5 Microscopia de Luz	30
4.6 Análise Histomorfométrica	31
4.6.1 Análise do Coração.....	31
4.6.2 Análise da Artéria Aorta.....	32
4.7 Análise Estatística.....	32
5.1 Área do Núcleo do Cardiomiócito	33
5.2 Número de Núcleos	33
5.3 Espessura Total e da Túnica Média da Artéria Aorta	34
6 DISCUSSÃO	37
7 CONCLUSÕES.....	41
8 PERSPECTIVAS FUTURAS	42
REFERÊNCIAS.....	43
ANEXO A: PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA.....	55
ANEXO B: Artigo “PERINATAL PROTEIN MALNUTRITION AND CARDIOVASCULAR SYSTEM: A systematic review” submetido a revista Journal of Morphological Science.....	57

1 INTRODUÇÃO

O Desmame é um evento natural na vida dos mamíferos. No início do período neonatal o leite materno fornece ao neonato uma solução rica em proteínas, imunoglobulinas e fatores tróficos importantes para o desenvolvimento do corpo (WEAVER, 1986) e evolui gradativamente para um padrão alimentar adulto. Entretanto, quando o desmame ocorre de forma abrupta pode acarretar danos morfológicos, fisiológicos e comportamentais no organismo (KIKUSUI et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2011 “A”).

O comportamento alimentar neonatal vem sendo estudados a vários anos e envolve uma série de episódios específicos, que são a procura do mamilo, fixação no mamilo, ingestão do leite e desligamento do mamilo (SOUZA et al., 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde (2002), para a espécie humana, é recomendado o aleitamento materno exclusivo até o sexto mês após o nascimento e de forma complementar até os dois anos de idade.

Vários modelos animais vêm sendo utilizados a fim de melhor compreender os efeitos do desmame nos organismos adultos. Em ratos, durante as duas primeiras semanas de vida os filhotes dependem única e exclusivamente das mães para suprir suas necessidades vitais básicas, tais como alimentação e regulação da temperatura corporal (PLAUT et al., 1972). A partir da terceira semana de vida o desmame espontâneo começa de forma gradativa, quando inicia o consumo de alimentos sólidos e evolui para o padrão de consumo alimentar adulto até por volta do 30º dia vida quando completa o desmame (CRAMER et al., 1990). Quando o aleitamento materno é interrompido abruptamente antes desse período é considerado desmame precoce.

Estudos demonstraram que o desmame precoce é capaz de promover alterações comportamentais. Esse desmame pode ser realizado pela ausência materna, afastando-se a mãe do filhote, ou através da administração de bromocriptina, um agonista do receptor de dopamina D2 que inibe a liberação de prolactina (YOUNES-RAPOZO et al., 2015). Em outros animais, tais como os porcos, não há tanta dependência dos filhotes pela mãe após o período do nascimento. Essa maior independência desses animais de suas mães no período perinatal ocorre devido ao grande período de gestação destes animais e, devido a isso, os porcos podem ser criados com leite artificial e inclusive com dietas sólidas logo após o nascimento (WEAVER et al., 1987; WEAVER et al., 1988).

Agressões no período perinatal, gestação e lactação, são responsáveis por promover diferentes respostas adaptativas que por consequência causam alterações comportamentais, morfológicas e fisiológicas (BIVOLARSKI et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2011 “A”). Além disso, vários estudos demonstraram que o desmame precoce promove modificações morfofisiológicas e neurocomportamentais na vida adulta (OLIVEIRA et al., 2011 “B”; KIKUSUI et al., 2007). Sabendo disto, este estudo trata-se de uma investigação acerca dos efeitos do desmame precoce sobre a morfologia e morfometria do coração e da artéria aorta de ratos adultos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Sistema Cardiovascular

O Sistema Cardiovascular é formado pelo coração, pelos vasos sanguíneos (artérias, arteríolas, capilares, vênulas e veias) e pelo sangue. Durante o período embrionário, é o primeiro sistema a iniciar suas funções, ele é formado durante a terceira semana do desenvolvimento (MOORE; PERSAUD; TORCHIA, 2008). Isso se deve ao fato de que com o crescimento frenético de células e tecidos, o embrião necessita urgentemente de vasos sanguíneos que consigam distribuir através do sangue, oxigênio e nutrientes para todas as células a partir da circulação materna, além de um mecanismo de bombeamento (BRAND, 2003; KOEFOED, 2014). Neste período, diversos elementos são importantes para o desenvolvimento normal do coração, como por exemplo o zinco (TOMAT et al., 2013). Entretanto, o desenvolvimento do miocárdio não cessa após o nascimento. Estudos clássicos apontam que os cardiomiócitos, em ratos, continuam a se proliferar até por volta da segunda semana de vida (LI et al., 1996).

O coração é responsável por bombear o sangue através de um sistema de vasos sanguíneos que deverão alcançar todos os tecidos para que por meio do sangue seja feita a troca de materiais com as células (gases, nutrientes, hormônios, entre outros) (MOURÃO JÚNIOR; ABRAMOV, 2011). Ele é um órgão ímpar, mediano e está localizado na porção média do mediastino inferior, região situada do osso esterno à coluna vertebral, da abertura superior do tórax ao músculo diafragma e entre os pulmões. Além disso, por ser uma víscera torácica cavitária, internamente ele possui quatro câmaras cardíacas, dois átrios (câmaras superiores) e dois ventrículos (câmaras inferiores), que serão responsáveis por conduzir o sangue para as circulações sistêmica e pulmonar. O coração ainda, é revestido por uma membrana fibroserosa que o envolve e o protege, o pericárdio (TORTORA; DERRICKSON, 2016).

Três camadas constituem o coração, o endocárdio, o miocárdio e o epicárdio. Esta última, homóloga a túnica adventícia dos vasos sanguíneos, é formada pelo pericárdio (lâmina visceral do pericárdio seroso), constituída por um epitélio pavimentoso simples, o mesotélio (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). O miocárdio, camada intermediária e homóloga a túnica média dos vasos sanguíneos, é formado por tecido muscular estriado cardíaco, cujas células alongadas e ramificadas, os

cardiomiócitos, medem aproximadamente 15µm de diâmetro por 85-100µm de comprimento e se prendem por meio de junções intercelulares complexas. É a camada mais espessa do coração e suas células possuem cerca de um a dois núcleos centralmente localizados, estas células ligam o miocárdio ao esqueleto fibroso do coração, outras são especializadas em produzir secreções endócrinas e ainda outras são especializadas na geração ou condução de impulsos nervosos. O endocárdio, homólogo a túnica íntima dos vasos sanguíneos, é constituído por um epitélio pavimentoso simples e por uma camada subjacente de tecido conjuntivo fibroelástico com fibroblastos esparsos (GARTNER; HIATT, 2003).

Os vasos próprios do coração são responsáveis pela nutrição do músculo cardíaco (miocárdio). Logo, a irrigação será realizada através das artérias coronárias direita e esquerda, que são os primeiros ramos da porção ascendente da artéria aorta. Já a drenagem do sangue é feita por um conjunto de veias cardíacas, que são tributárias do seio coronário, que é a veia que irá desembocar no átrio direito do coração (GOSS, 1988). A drenagem linfática é feita por uma rede de vasos linfáticos, são eles: rede endocárdica profunda, rede mioárdica média e rede epicárdica superficial; e os linfonodos mediastinais anteriores estão associados a estes vasos linfáticos (FRITSCH; KUHNEL, 2008).

O músculo cardíaco é innervado através de duas formas: a inervação extrínseca e intrínseca. A primeira deriva do sistema nervoso autônomo (fibras nervosas autônomas provenientes dos plexos cardíacos superficial e profundo), simpático (fibras pré e pós-ganglionares) e parassimpático (fibras pré-ganglionares do nervo vago) (STANFIELD, 2013). A inervação intrínseca, também chamada de sistema de condução do coração, é formada por fibras musculares diferenciadas responsáveis por coordenar o ciclo cardíaco, esse inervação é constituída por nodos e redes de fibras miocárdicas especializadas (RIZZO, 2012). Este sistema condutor coordena os batimentos cardíacos, produzindo uma ação de bombeamento do sangue bastante eficiente (VAN DE GRAAFF, 2003).

Conforme mencionado anteriormente, existem cinco tipos de vasos sanguíneos, são eles: artérias, arteríolas, capilares, vênulas e veias. As artérias são responsáveis por conduzir o sangue proveniente do coração para outros órgãos e à medida que as grande e elásticas artérias deixam o coração, elas se ramificam em artérias musculares menores até formarem as menores artérias, as arteríolas, que ao penetrarem nos diferentes tecidos irão se ramificar em vasos minúsculos chamados de capilares (VANPUTTE; REGAN;

RUSSO, 2016). Estes apresentam paredes bastante delgadas que permitem a troca de substâncias entre o sangue e os tecidos. Um conjunto de capilares irão se unir para formar as menores veias, as vênulas. A partir da união das vênulas, surgirão as veias, cuja função é transportar o sangue dos tecidos de volta ao coração (MOURÃO JÚNIOR; ABRAMOV, 2011).

A estrutura dos vasos sanguíneos será formada por três camadas de tecido, também chamadas de túnicas: íntima, média e adventícia (RIZZO, 2012). A túnica íntima é formada por um epitélio pavimentoso simples, suas células endoteliais são alongadas e achatadas, e revestem a luz dos vasos sanguíneos. Além disso, estas células também produzem e secretam colágeno dos tipos II, IV e V, endotelina, óxido nítrico e o fator de von Willebrand (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Logo abaixo da camada de células endoteliais existe uma camada subendotelial, que é composta de tecido conjuntivo frouxo e algumas células musculares lisas dispersas. Uma camada limitante elástica interna, composta por elastina, encontra-se imediatamente abaixo da camada subendotelial, apresenta-se mais desenvolvida em artérias musculares e separa a túnica íntima da média (GARTNER; HIATT, 2003). A túnica média é formada, principalmente por concêntricas camadas de células musculares lisas, dispostas helicoidalmente. Ela é a camada mais espessa entre as túnicas e apresenta ainda quantidades substanciais de fibras elásticas, colágeno do tipo III e proteoglicanos. Sua função é regular o diâmetro do lúmen. A túnica adventícia é o revestimento externo, cobrindo a superfície dos vasos, ela é composta por fibroblastos, fibras colágenas do tipo I e fibras elásticas dispostas longitudinalmente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Ela apresenta diversos nervos e em grandes vasos, como a artéria aorta, existem pequenos vasos que irrigam o tecido da parede do vaso, são chamados vasos dos vasos ou *vasa vasorum*. A túnica adventícia tem como função, além de fornecer nervos e a *vasa vasorum* à parede do vaso, ajudar a ancorar os vasos aos tecidos circundantes (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014).

Como principal artéria, a aorta origina-se do ventrículo esquerdo do coração ela será formada por regiões ou porções, são elas: ascendente, arco aórtico e descendente, que subdivide-se em uma porção torácica e em uma porção abdominal (GOSS, 1988). Da porção ascendente, que fica situada posteriormente e à direita do tronco pulmonar emergem as artérias coronárias, de grande importância para o suprimento sanguíneo do coração, das demais porções sairão os vasos que farão a irrigação dos tecidos por toda a circulação sistêmica (FRITSCH; KUHNEL, 2008).

2.2 Lactação

Durante o início da vida dos mamíferos, a principal fonte de nutrientes advém do leite materno. Segundo a Organização Mundial de Saúde, para a espécie humana, é recomendado o aleitamento materno exclusivo até o sexto mês de nascimento (WHO, 2002). Esse tempo varia entre as espécies de mamíferos. Em ratos, embora exista consumo de alimentos sólidos a partir do 14º dia de vida, o desmame só vem a acontecer entre o final da terceira semana até o trigésimo dia de vida (CRAMER et al., 1990). Entretanto, em condições de laboratório, esse desmame é realizado no vigésimo primeiro dia pós-nascimento. Por volta do 19º dia de vida pós-natal, os ratos começam a alterar seu comportamento alimentar influenciado pelos alimentos ingeridos pela mãe e que estão presentes no leite (GALEF; CLARK, 1972).

Mulheres que amamentam até no mínimo o sexto mês, apresentam maior rapidez na perda de peso pós-parto e menores chances de desenvolvimento de câncer de mama (KRAMER et al., 2004; SHEMA et al., 2007). Mesmo assim, os índices de desmame precoce, em especial no Brasil, continua alto. Dentre os principais fatores que contribuem para o desmame precoce estão a depressão materna (VITOLO et al., 2007), a escolaridade dos pais (SILVEIRA; LAMOUNIER, 2006; ESCOBAR et al., 2002) e as crenças populares (SANDRE-PEREIRA et al., 2000; RAMOS; ALMEIDA, 2003). Assim sendo, é necessário maior divulgação sobre os benefícios do aleitamento adequado tanto para mãe como para seus filhos.

A partir de estudos realizados com humanos na década de 80, ficou claro a importância do aleitamento materno exclusivo até o sexto mês de idade para o neonato, reduzindo os níveis de morbidades e mortalidade infantil (POPKIN et al., 1990; VICTÓRIA et al., 1987). Além disso, o aleitamento pelo tempo adequado promove redução de risco de desenvolvimento de doenças relacionadas a síndrome metabólica, além de ser importante para o desenvolvimento normal do comportamento alimentar do neonato (OLIVEIRA et al., 2011; QUITETE et al., 2015). Através da amamentação, a mãe promove ao lactente gorduras, vitaminas, ácidos graxos poli-insaturados, incluindo o ácido linoleico e alfa-linoleico, dentre outros compostos essenciais para o desenvolvimento (INNIS, 2003). A tabela 1 traz os quantidades médias dos componentes básicos do leite materno humano. Devido a essa importância, alterações impostas ao neonato durante o período da lactação são capazes de promover danos permanentes na

prole, incluindo o desmame precoce como um dos estímulos capazes de gerar a programação metabólica (OLIVEIRA et al., 2011).

TABELA 1: Composição Centesimal Média do Leite Materno.

Leite maduro (n=13)	Média ± desvio padrão (%)
Umidade	89,85 ± 0,73
Carboidratos	7,50 ± 0,66
Proteínas	1,12 ± 0,28
Lipídios	1,38 ± 0,60
Cinzas	0,24 ± 0,09

(adaptado de DA-SILVA et al., 2007)

2.3 Programação Metabólica

O período que se estende da gestação até por volta do quinto ano de vida, compreende a fase de maior crescimento, replicação e diferenciação neural (SIMMONS, 2009). Durante este período inicial de desenvolvimento, o organismo é capaz de se adaptar a diversos estímulos do meio, programando seu metabolismo para o ambiente pós-natal (BARKER, 2003; METCALF; MONAGHAN, 2001; REMMERS et al., 2011). Nesta fase, a interação mãe-filhote e a nutrição ganham destaques por serem fonte importante de subsídios energéticos e estruturais para o crescimento e desenvolvimento adequado das estruturas encefálicas em todos os níveis, por agirem como estimuladores para o desenvolvimento de redes neurais (WEAVER et al., 2004; GÓMEZ-PINILLA, 2008).

Para melhor compreensão da gênese das doenças no adulto, vários estudos experimentais vem sendo realizados utilizando manipulações de diversas variantes e analisando seus efeitos precoces e tardios sobre o comportamento, a morfologia e fisiologia de diferentes órgãos e sistemas (MACHO et al., 1995; AKAMATSU et al., 2011; TAPPIA et al., 2013; FRAGA et al., 2014; BARROS et al., 2015; MOGI et al., 2016; TARRY-ADKINS et al., 2017). Um dos primeiros estudos foi realizados por Barker (2003), que correlacionou o baixo peso ao nascer com o aumento da pré-disposição a diabetes tipo2, hipertensão e doenças cardiovasculares na vida adulta

(BARKER, 2003). Essa constatação foi inicialmente denominada programação metabólica, e em seguida renomeada para plasticidade do desenvolvimento - *developmental plasticity*- (GLUCKMAN; HANSON, 2007).

Em termos de pesquisas experimentais com comportamento alimentar, utiliza-se como padrão o número de oito filhotes por fêmea. Esse número é importante, uma vez que estudos demonstram que a hipernutrição da prole causada pela redução da ninhada é capaz de promover alterações sistêmicas nos filhotes (PEREIRA et al., 2006; MOREIRA et al., 2009). Além disso, sabe-se ainda que a saúde global do lactente tal como seu estado nutricional também são importantes para programação metabólica (MARTINI; MANDARIM-DE-LACERDA, 2005; TURDI et al., 2013; BERNARDO et al., 2016).

Em ratas, a hipertensão arterial materna promove o aumento da massa corporal e da massa cardíaca da prole (MARTINI; MANDARIM-DE-LACERDA, 2005). Já a obesidade e a desnutrição materna, pré-dispõe a prole a adquirir doenças cardiovasculares, aumentando os níveis de triglicerídeos no miocárdio (BERNARDO et al., 2016). Outro ponto importante a se destacar é que o estresse materno durante a lactação também é capaz de induzir estresse no lactente, uma vez que os glicocorticoides podem passar livremente para os filhotes através do leite materno (CATALANI et al., 2011). Atualmente diversos outros estímulos vem sendo utilizados para analisar os efeitos tardios da manipulação perinatal, dentre os quais se destacam a desnutrição perinatal e o desmame precoce.

2.3.1 Desnutrição Perinatal

Em ratos submetidos a desnutrição proteica perinatal, segundo pesquisas há redução do tamanho do coração (Figura 1) e da espessura ventricular esquerda ao nascer, seguida do aumento desta espessura após a oitava semana de vida pós-natal, quando comparado com animais controle (GAMA et al., 2007; TAPPIA et al., 2013). Além de alterações ventriculares, a desnutrição proteica perinatal promove ainda alterações nos átrios em ratos adultos. A parede atrial é responsável pela liberação de Peptídeo Atrial Natriurético. Esse hormônio está envolvido no controle do balanço eletrolítico e dos fluidos corporais, estando envolvido ainda no desenvolvimento da hipertensão arterial (TOYOSHIMA et al., 1996; DE BOLD et al., 1981; YOSHIHARA

et al., 1998). Os cardiomiócitos auriculares dos animais submetidos a desnutrição proteica durante a gestação não apresentaram redução no número de grânulos de peptídeo atrial natriurético, mesmo tendo o tamanho do coração reduzido em cerca de 50% (GAMA et al., 2007). Para maiores detalhes sobre as alterações morfofuncionais do sistema cardiovascular promovidas pela desnutrição proteica perinatal, vide o artigo de revisão com minha autoria “Perinatal Protein Malnutrition and Cardiovascular System: A systematic review” submetido para o *Journal of Morphological Sciences* que segue no anexo B.

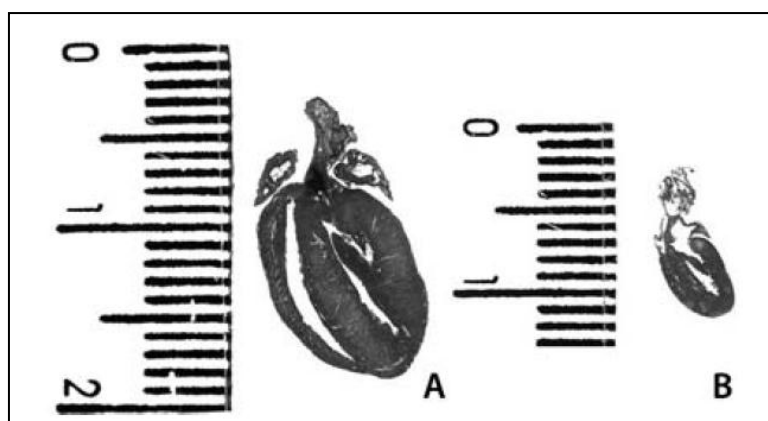


FIGURA 1 - Secções frontais do coração de ratos controle (A) e submetidos a desnutridos (B) no vigésimo primeiro dia de vida pós-natal (GAMA et al., 2007).

2.3.2 Desmame Precoce

Além da desnutrição proteica perinatal o desmame precoce também é uma agressão capaz de evocar alterações morfofuncionais em organismos adultos. Diversos modelos experimentais vem sendo utilizado para melhor compreensão das consequências do desmame precoce sobre o organismo. Existem basicamente três formas de se realizar o desmame precoce: a primeira, consiste em retirar a mãe da presença do filhote de forma precoce, normalmente durante o 14º dia de vida pós-natal (OLIVERIA et al., 2011 “A”). A segunda forma, consiste em bloquear a síntese de leite nas fêmeas através da manipulação farmacológica, como o uso da bromocriptina, um agonista do receptor dopaminérgico D2 (BONOMO et al., 2007, 2008; DE MOURA et al., 2009; YOUNES-RAPOZO et al., 2012). E a terceira é a utilização de bandagens no corpo da fêmea impedindo o acesso do lactente ao mamilo (LIMA et al., 2013).

Independentemente da forma de desmame utilizada, está claro que o desmame precoce promove obesidade, hiperleptinemia, resistência a leptina e insulina, dislipidemia, hipotireoidismo e aumento de glicocorticoides, e altera o ciclo circadiano de fome e saciedade na vida adulta (BONOMO et al., 2007, 2008; DE MOURA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011 “A”; LIMA et al., 2011).

O desmame precoce causa aumento de neurônios que expressam NPY e reduz a expressão de neurônios que expressam CART no núcleo paraventricular do hipotálamo de ratos (YOUNES-RAPOZO et al., 2012). Uma vez que o NPY é um peptídeo que estimula a fome e o CART a saciedade (SCHWARTZ et al., 2000; LUCAS et al., 1998), fica claro compreender um dos motivos que fazem com que o desmame precoce promova o atraso no ponto de saciedade (OLIVEIRA et al., 2011 “A”).

Ratos submetidos ao desmame precoce apresentam características fisiológicas de animais estressados, como a hiperatividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (PLOTSKY; MEANEY, 1993; LADD et al., 2000) e o aumento dos níveis de glicocorticoides (KIKUSUI et al., 2009). No sistema nervoso, o desmame precoce acarreta redução da massa encefálica absoluta em ratos quando comparados com o grupo controle com 21 dias de vida (PESSANHA et al., 2015). Além disso, animais desmamados precocemente apresentam redução na síntese de bainha de mielina (KIKUSUI et al., 2007), prejudicando funções cerebrais superiores tais como, os mecanismos de aprendizado e memória (LIU et al., 2000; HUOT et al., 2002). Deve-se destacar ainda que, quando o desmame ocorre antes do período normal, a prole fica mais vulnerável ao abuso de drogas, como pôde ser verificado por estudos (KIKUSUI et al., 2005).

No que concerne ao sistema cardiovascular, é possível verificar que ratos desmamados precocemente apresentam aumento das pressões sistólicas e diastólicas (FRANCO et al., 2013) e da frequência cardíaca em ratos submetidos a estresse (KIKUSUI et al., 2005). Embora nenhum artigo tenha sido encontrado correlacionando o desmame precoce com alterações morfológicas no sistema cardiovascular, é provável que animais desmamados precocemente apresentem hipertrofia ventricular e fibrose miocárdica, uma vez que a hipertensão arterial provoca aumento da massa muscular do coração em decorrência de uma hipertrofia do miocárdio, promovendo ainda a chamada fibrose miocárdica devido ao acúmulo de colágeno no parênquima do órgão (BRILLA et al., 1993).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do desmame precoce sobre a morfologia e morfometria do coração e da artéria aorta de ratos adultos.

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar a área nuclear dos cardiomiócitos de ambos os grupos;
- Verificar a quantidade de núcleos por fotomicrografia dos grupos experimentais;
- Verificar, através de análise histomorfométrica, a espessura total das três túnicas da artéria aorta e isoladamente da túnica média.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos Éticos

Todos os procedimentos foram avaliados e aprovados de acordo com a Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (Protocolo 17/2017).

4.2 Animais

Foram utilizadas ratas albinas (200-250g de peso corporal) da linhagem *Wistar* provenientes do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. As ratas (n=20) foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para um macho. A prenhez foi diagnosticada pela presença de espermatozoide no esfregaço vaginal e confirmada pelo ganho de peso corporal (DAMASCENO et al.; 2002). A partir do diagnóstico as ratas prenhas foram transferidas para gaiolas individuais, e durante a gestação e lactação receberam água e dietas padrão de biotério (Labina, Presence ®, *ad libitum*). Após o nascimento dos filhotes foi realizada a sexagem para a formação das ninhadas com 8 filhotes por mãe. Durante todo o experimento, os animais foram mantidos em condições padrão de biotério (temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, sob ciclo claro/escuro invertido de 12 horas, luz acesa às 18 horas).

4.3 Desmame Precoce

O dia do nascimento da ninhada foi considerado dia zero. No primeiro dia pós-natal, foi realizada a sexagem dos animais com o objetivo de manter 8 filhotes machos em cada ninhada (as ninhadas que não obtiveram esse número foram complementadas por fêmeas). Os grupos experimentais foram formados de acordo com o período do desmame de cada ninhada (D15 (n=8); C30 (n=8)). As ninhadas pertencentes ao grupo D15 foram desmamadas no 15º dia pós-natal e ao grupo C30 foram desmamadas no 30º dia pós-natal que é considerado período natural de desmame. As nutrizes dos animais D15 foram separadas de seus filhotes que foram submetidas a pequenos *paletes* de dieta padrão de biotério. A partir do 30º dia, todos os grupos foram submetidos a dieta padrão de biotério.

4.3.1 Grupos Experimentais

Inicialmente, os animais foram separados de acordo com o dia do desmame:

- Grupo desmamado precocemente (D15), n=8 – animais desmamados no 15º dia pós-natal;
- Grupo desmamado no período natural (C30), n=8 - animais desmamados no 30º dia pós-natal;

Após o desmame precoce, os animais pertencentes a ambos os grupos foram separados em gaiolas individuais até o 100º dia pós-natal.

4.4 Eutanásia

Os animais foram anestesiados profundamente com uma combinação de ketamina (1ml/Kg) e xilazina (0,1ml/kg), seguido da abertura da cavidade torácica para acesso ao ventrículo esquerdo do coração e introdução da cânula para perfusão. Esta cânula ficou acoplada a uma bomba peristáltica em velocidade compatível com a manutenção da integridade dos vasos sanguíneos. Inicialmente foi infundido 150 mL de solução salina (NaCl, 0,9%) a temperatura ambiente para remoção do sangue dos vasos. Este procedimento previne a formação de coágulos e propicia a correta penetração do fixador nos tecidos. Esta foi seguida de infusão de 400 mL solução fixadora (4% de paraformaldeído, pH 7,4, em 4º C). Ao final da passagem do fixador, o coração e a porção ascendente da artéria aorta foram cuidadosamente dissecados e retirados da cavidade torácica e foram fixados, durante 24 horas, em formalina a 10% neutra tamponada (NBF) (SILVA et al.; 2016).

4.5 Microscopia de Luz

Foi realizada a clivagem dos órgãos, onde, no coração foi realizado um corte frontal na região média e na artéria aorta um corte transverso na porção ascendente. Em seguida, os fragmentos foram desidratados em soluções de álcool etílico com concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59°C e incluídos em parafina. Os blocos foram cortados no micrótomo em cortes seriados com espessura de 4µm. Os cortes obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de MAYER, e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37°C durante 24 horas. As lâminas

histológicas produzidas foram coradas por Hematoxilina – Eosina e analisadas em microscópio óptico (BEHMER et al., 2003).

4.6 Análise Histomorfométrica

A análises das variáveis deste estudo foram realizadas a partir de fotomicrografias adquiridas por meio de uma câmera de captura digital (Moticam 2300) de 3,0 megapixels, acoplada a um microscópio óptico (Nikon E-200), e um computador. A aquisição das imagens foi realizada utilizando a objetiva 10X para artéria aorta e a objetiva de 40X para coração, com o auxílio do software Motic Images Plus Versão 2.0. Após a captura das imagens, as mesmas foram salvas no formato JPEG. Para analisar as fotomicrografias foi utilizado o software ImageJ Versão 1.43.

4.6.1 Análise do Coração

Para a avaliação do número de núcleos por fotomicrografia, foram retiradas aleatoriamente 10 fotomicrografias de cada lâmina da parede lateral do ventrículo esquerdo num aumento de 40X. Em seguida, foram mensuradas as áreas de 80 núcleos celulares dos cardiomiócitos por animal (Figura 2). Os Dados obtidos foram inseridos num planilha do Excel 2013.

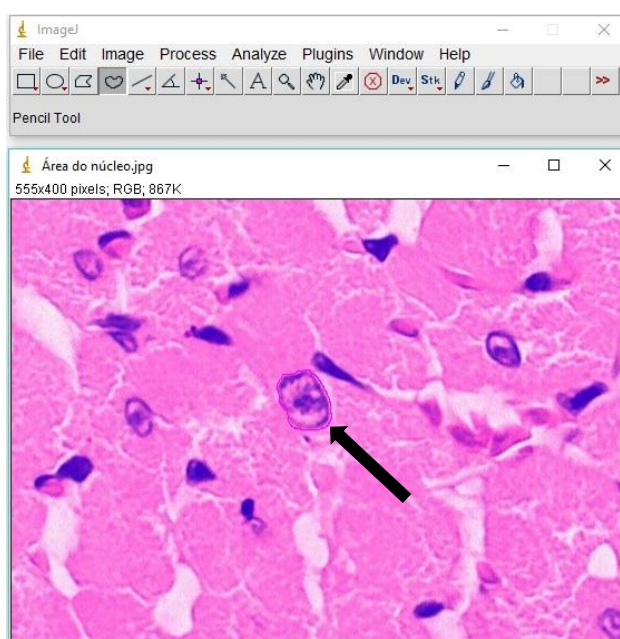


FIGURA 2 - Mensuração da área nuclear de secção frontal do cardiomiócito. Fotomicrografia ilustrativa do ventrículo esquerdo do coração. H.E. Aumento 400x.

4.6.2 Análise da Artéria Aorta

Para a avaliação da espessura total e da túnica média foram retiradas 10 fotomicrografias de cada lâmina da porção ascendente da artéria aorta num aumento de 10X e foi mensurada a espessura de 10 regiões escolhidas aleatoriamente por corte (Figura 3).

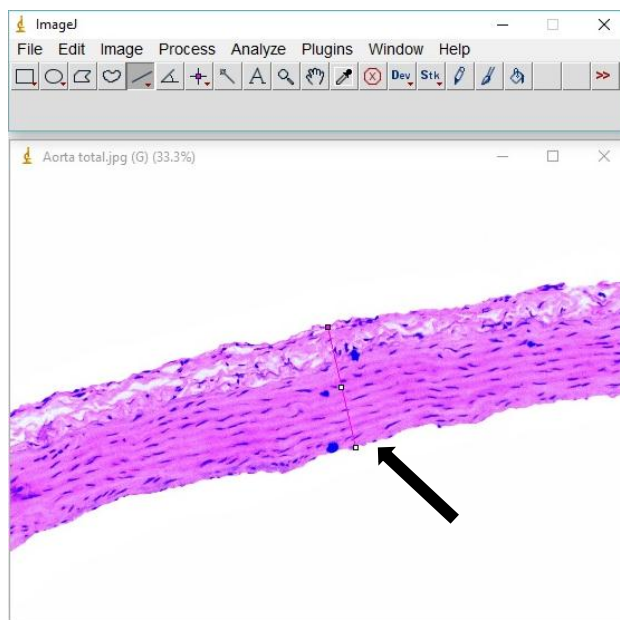


FIGURA 3 – Mensuração da espessura de secção transversal das três túnicas da artéria aorta. Fotomicrografia ilustrativa da artéria aorta. H.E. Aumento 100x.

Os Dados obtidos das análises realizadas foram inseridos numa planilha do Excel 2013.

4.7 Análise Estatística

Os resultados, inicialmente, foram submetidos ao teste de normalidade e em seguida aos testes ANOVA, U de Mann-Whitney e Correlação de Pearson. Os dados foram tabulados e processados pelo programa estatístico SPSS (Statistical Package for Social Science, 2001), adotando-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 Área do Núcleo do Cardiomiócito

A análise dos núcleos dos cardiomiócitos revelou que o desmame precoce promove a redução da área nuclear dos animais desmamados precocemente quando comparado com animais controle (C: $16,77\mu\text{m} \pm 5,95$; DP: $12,48\mu\text{m} \pm 7,03$, $p \leq 0,05$) (Figura 4).

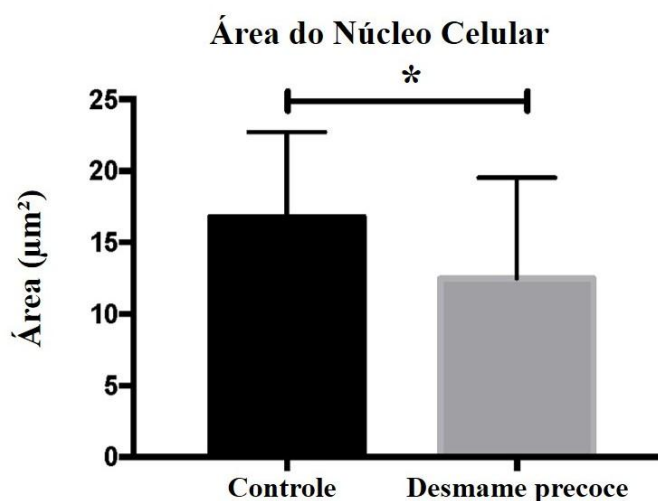


FIGURA 4 – Efeitos do desmame precoce sobre a área nuclear dos cardiomiócitos de ratos aos 100 dias de vida pós-natal. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$.

5.2 Número de Núcleos

Em relação a quantidade de núcleos observados em cada fotomicrografia, verificou-se que o desmame precoce promoveu hiperplasia dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo ($p \leq 0,05$) dos animais desmamados precocemente (DP: $48,87\mu\text{m} \pm 13,62$) quando comparado com animais controle (C: $30,42\mu\text{m} \pm 11,38$) (Figura 5 e 6).

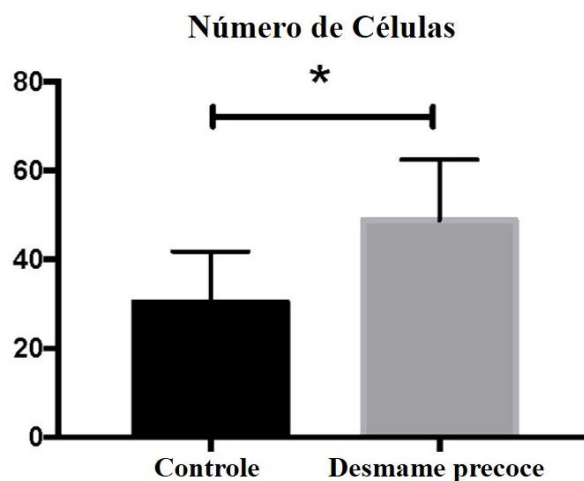


FIGURA 5 – Efeitos do desmame precoce sobre a quantidade de núcleos por fotomicrografia do coração de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$.

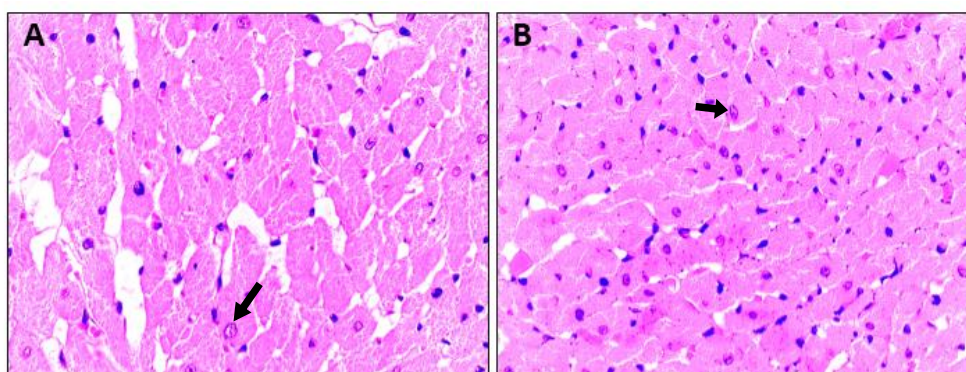


FIGURA 6 – Fotomicrografias do coração de ratos. Em “A” animais controle e “B” animais submetidos ao desmame precoce, com 100 dias de vida pós-natal. Observar a quantidade de núcleos em ambos os grupos. H.E. Aumento 400x.

5.3 Espessura Total e da Túnica Média da Artéria Aorta

Quanto a análise da espessura total da artéria aorta, pode-se observar que o desmame precoce promoveu uma diminuição significativa na espessura da parede do vaso (C: $168,56\mu\text{m} \pm 46,61$; DP: $113,81\mu\text{m} \pm 28,01$, $p \leq 0,05$) (Figura 7 e 8), fato que se repetiu na análise da espessura da túnica média, onde também houve uma diminuição significativa na espessura da camada muscular (C: $130,69\mu\text{m} \pm 40,75$; DP: $81,62\mu\text{m} \pm 19,89$, $p \leq 0,05$) (Figura 9).

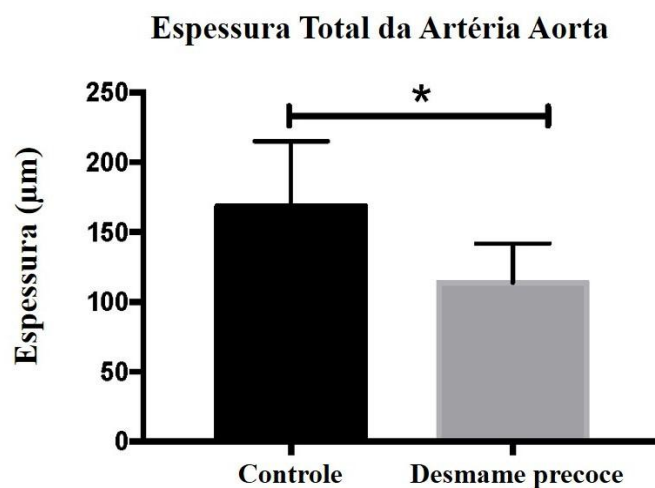


FIGURA 7 – Efeitos do desmame precoce sobre a espessura total da artéria aorta de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$.

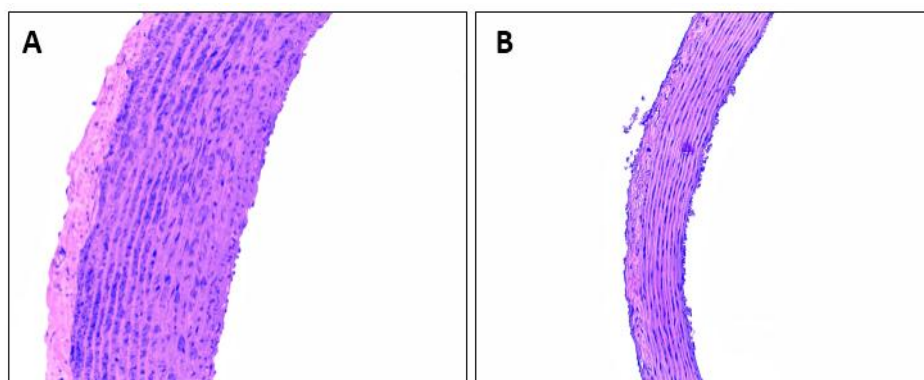


FIGURA 8 – Fotomicrografias da artéria aorta (porção ascendente) de ratos. Em “A” animais controle e “B” animais submetidos ao desmame precoce, com 100 dias de vida pós-natal. Observar a espessura da artéria em ambos os grupos. H.E. Aumento 100x.

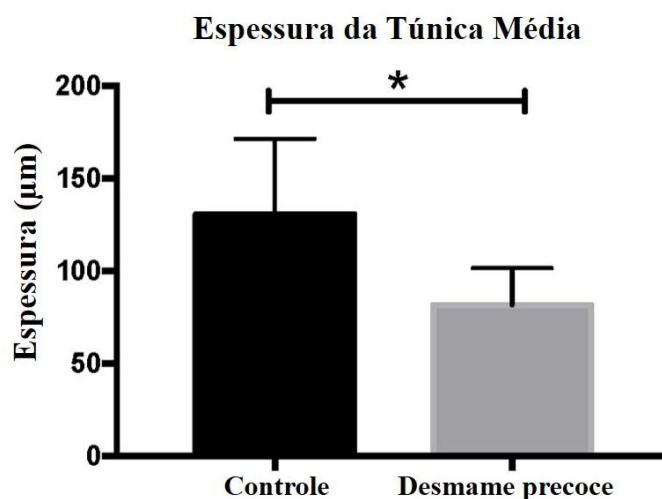


FIGURA 9 – Efeitos do desmame precoce sobre a túnica média da artéria aorta de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $\leq 0,05$.

O Teste de Correlação de Spearman (Figura 10) demonstra a relação do resultado das duas últimas análises, onde a espessura total da artéria aorta do grupo de animais desmamados precocemente se relaciona de forma diretamente proporcional com a espessura da túnica média.

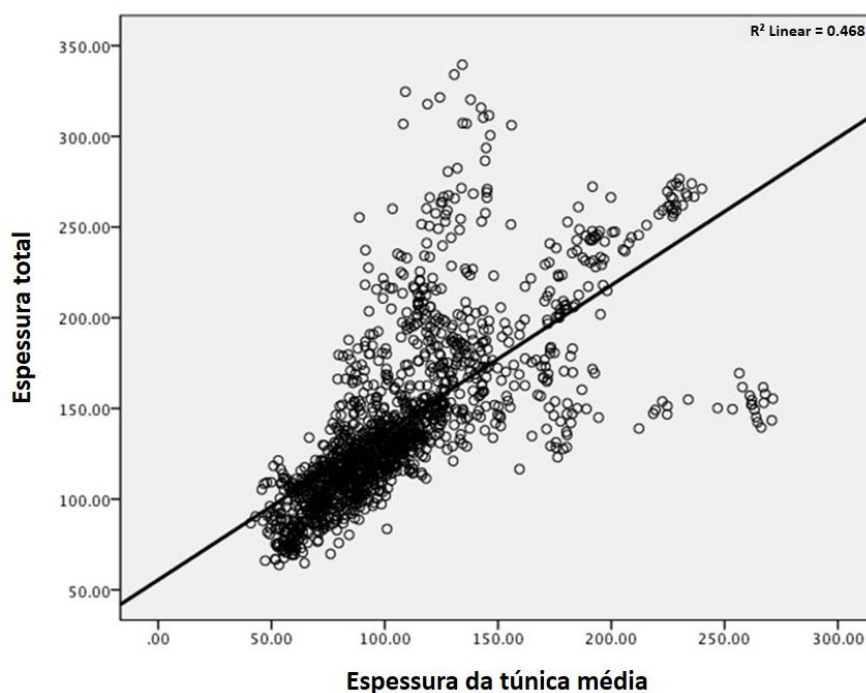


FIGURA 10 – Teste de Correlação de Spearman sobre os resultados das análises da espessura total e da túnica média da artéria aorta de ratos que sofreram o desmame precoce aos 100 dias. Nível de significância $p \leq 0,05$.

6 DISCUSSÃO

Diversos estudos vêm sendo realizados na última década identificando as alterações promovidas pelo desmame precoce na vida adulta. O desmame precoce está associado com distúrbios nutricionais, tais como a obesidade infantil (SLOAN et al., 2008), aumento nos níveis de triglicerídeos circulantes, hipotireoidismo, hiperleptinemia e resistência central a leptina e insulina (BONOMO et al., 2007, 2008; DE MOURA et al., 2009; LIMA et al., 2011; LIMA et al., 2013). Em termos gerais, esses sintomas sugerem que animais desmamados precocemente apresentam alterações fisiológicas que os enquadram na síndrome metabólica. De fato, o aleitamento materno durante o período adequado, está associado com o menor risco de obesidade, uma vez que o leite materno causa hipoinsulinemia, o que diminui o armazenamento de gordura e evita a adipogênese precoce excessiva (ODDY et al., 2012). Entretanto, embora estes estudos tenham verificado as alterações fisiológicas globais promovidas pelo desmame precoce, não está claro ainda quais são as consequências do desmame precoce sobre o sistema cardiovascular.

O desmame precoce é uma agressão perinatal que prejudica o aporte de nutrientes do lactente, forçando-o a modificar seu padrão alimentar de forma abrupta (OLIVEIRA et al., 2011). O período perinatal apresenta grande importância no desenvolvimento neurocomportamental e metabólico do animal (BARKER et al., 2003; SIMMONS, 2009). Durante este período, diversos mecanismos celulares e moleculares ainda estão em curso. Devido a isso, as agressões durante a lactação podem provocar danos permanentes (KIKUSUI et al., 2009; YOUNES-RAPOZO et al., 2012; PESSANHA et al., 2015). Um dos sistemas que ainda está concluindo seu desenvolvimento durante a lactação é o sistema cardiovascular.

Embora o sistema cardiovascular inicie seu desenvolvimento durante o período fetal, ele continua a se modificar após o nascimento. Os cardiomiócitos fetais, diferentemente dos cardiomiócitos dos mamíferos adultos, apresentam alto potencial de proliferação, que vai se atenuando após o nascimento por inibidores do ciclo celular (AHUJA et al., 2007; IKENISHI et al., 2012). A proliferação celular e a hipertrofia dos cardiomiócitos são as responsáveis pelo aumento do tamanho do coração, tanto no período da gestação como nos primeiros dias após o nascimento (IKENISHI et al., 2012). Durante a primeira e segunda semana de vida pós-natal, os cardiomiócitos podem sofrer mitose sem realizar a citocinese, formando desta forma células

binucleadas (SOONPA et al., 1996). Nossos resultados, sugerem que o desmame precoce promove a hiperplasia dos cardiomiócitos na parede ventricular nos ratos com 100 dias de vida. Uma vez que o desmame precoce realizado em nosso estudo foi imposto no décimo quinto de vida, é provável que a mudança abrupta no padrão alimentar do lactente tenha agido como um estímulo agressor para o coração ainda em desenvolvimento.

Em termos gerais, há um consenso na literatura afirmando que as células musculares cardíacas em indivíduos adultos estacionam em G₀, não entrando em mitose. Entretanto, estudos apontam que os cardiomiócitos podem retornar a divisão celular caso o coração seja acometido por algum tipo de insulto (REISS et al., 1994; BELTRAMI et al., 1997; LIU et al., 1995). Em humanos, a insuficiência cardíaca congestiva é uma agressão capaz de fazer com que os cardiomiócitos retomem o processo de divisão celular (QUAINI et al., 1994). Essa constatação também pôde ser verificada em ratos, comprovando que agressões cardíacas podem fazer os cardiomiócitos entrem novamente em mitose (REISS et al., 1994). Dessa forma, é provável que o aumento no número de cardiomiócitos verificados em nosso estudo, pode ser a consequência do aumento no número de mitoses sofrida pelas células musculares cardíacas, considerando dessa forma, o desmame precoce como um insulto ao coração.

Ainda correlacionado nossos achados com outros tipos de agressões perinatal, é possível verificar que o ratos desnutridos durante o período perinatal apresentam o tamanho do coração reduzido, em relação a animais controle, no vigésimo primeiro dia de vida (GAMA et al., 2007). Entretanto após a quarta semana de vida, pode-se notar o aumento da espessura do ventrículo esquerdo (TAPPIA et al., 2013). O aumento da espessura ventricular esquerda, foi associado com o aumento da expressão de genes que codificam proteínas relacionadas com o metabolismo da glicose, sugerindo que o aumento ventricular é decorrente do maior uso da glicose pelas células cardíacas (TAPPIA et al., 2013). Desta forma, é possível que o maior uso da glicose pelos cardiomiócitos observado em animais submetidos a desnutrição perinatal possa ser encontrado também nos animais desmamados precocemente, justificando o efeito hiperplásico obtido. Por outro lado, não foram encontrados na literatura estudos que correlacionassem a redução do volume nuclear com o aumento da pré-disposição de doenças cardiovasculares.

Já em relação a artéria aorta, levantou-se a hipótese de que o desmame precoce promoveria o aumento da espessura da parede arterial. Esta hipótese foi levantada baseada nos achados da literatura que utilizaram outros tipos de manipulações perinatal. Animais desmamados precocemente, por apresentarem alterações condizentes com a síndrome metabólica (DE MOURA et al., 2009; LIMA et al., 2013), são mais susceptíveis a desenvolver hipertensão arterial. A hipertensão arterial está diretamente associada com o aumento da espessura da parede arterial que, por sua vez, está diretamente relacionada com o envelhecimento (LAKATTA et al., 2003; SKILTON et al., 2005; LAKATA et al., 2013). Aumento da espessura da parede da artéria aorta foi verificado em ratos submetidos a restrição de crescimento intrauterino (SKILTON et al., 2005; DODSON et al., 2017).

A restrição de crescimento intrauterino é caracterizada pela dificuldade fetal em alcançar seu tamanho normal, seja por fatores genéticos, seja por alterações no ambiente intrauterino (BATTAGLIA; LUBCHENCO, 1967). A principal causa da restrição de crescimento intrauterino é vascularização insuficiente da placenta, que acomete 75% dos casos (CREASY; RESNIK, 2008; NEERHOF, 1995). Ratos submetidos a este tipo de insulto apresentam maior espessamento da parede arterial ao nascer (SKILTON et al., 2005), além de desenvolvem rigidez da aorta por redução da quantidade de fibras elásticas e aumento da deposição de fibras colágenas (DODSON et al., 2017). O aumento da rigidez arterial está diretamente associado com a maior propensão ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (KOBBS et al., 2006; SAFAR et al., 2003; SHADWICK et al., 1999). Por tanto, o aumento da espessura da artéria aorta, pode estar relacionado com o aumento da rigidez vascular. Entretanto, nossos dados apontam para uma situação oposta: a redução da espessura arterial nos animais desmamados precocemente.

Em ratos submetidos a desnutrição proteica perinatal, também foi possível verificar a redução da espessura da artéria aorta (SKILTON et al., 2006). Essa redução na espessura vascular ocorreu concomitantemente com a redução na deposição de fibras elásticas neste vaso. Essas alterações sugerem que uma parede arterial menos espessa possa pré-dispor a hipertensão arterial e doenças cardiovasculares futuras através de alteração na complacência vascular e das propriedades elásticas. Com isso, acreditamos que as alterações observadas em nosso estudo promoveram modificações semelhantes a estas verificadas através da desnutrição perinatal (SKILTON et al., 2006).

Desta forma, pôde-se constatar que o desmame precoce realizado no décimo quinto dia de vida promoveu alterações morfológicas e morfométricas em órgãos importantes do sistema cardiovascular, tanto aumentando o número de cardiomiócitos como reduzindo a espessura vascular da artéria aorta.

7 CONCLUSÕES

Baseado em nossos resultados, podemos concluir que o desmame precoce em ratos é um tipo de agressão perinatal capaz de provocar alterações morfológicas e morfométricas no sistema cardiovascular de ratos. Dentre estas alterações temos o aumento no número de cardiomiócitos, a redução do volume nuclear e a diminuição da espessura da artéria aorta ascendente.

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

A análise da deposição de fibras colágenas e elásticas no coração e nos vasos sanguíneos, são variáveis que podem explicar melhor as consequências dos resultados obtidos. Entretanto, uma vez que este trabalho tratou-se de uma dissertação de mestrado e, levando-se em consideração o curto período de tempo para conclusão e a redução de verbas para custeio de pesquisas, não foi possível realizar estas análises. Entretanto, todo o material obtido foi preservado para análises futuras.

REFERÊNCIAS

- AHUJA, P.; SDEK, P.; MACLELLAN, W. R. Cardiac myocyte cell cycle control in development, disease, and regeneration. **Physiol Rev**, 87, 2, 521–544, 2007.
- AKAMATSU, F. E.; GAMA, E. F.; ANDRADE, M.; DE SOUZA, R. R.; JACOMO, A. L. Effects of protein deprivation and refeeding on the subepicardial neurons of rat: subepicardial neurons and low-protein diet. **J Morphol Sci**, 28, 2, 120-128, 2011.
- BARKER, D. J. The developmental origins of adult disease. **Eur J Epidemiol**, 18, 8, 733–736, 2003.
- BARROS, M. A. V.; ALVES, J. L. B.; NOGUEIRA, V. O.; WANDERLEY, A. G.; COSTA-SILVA, J. H. Maternal low-protein diet induces changes in the cardiovascular autonomic modulation in male rat offspring. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, 25, 1, 123-130, 2015.
- BATTAGLIA, F. C.; LUBCHENCO, L. O. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. **J Pediatr**, 71, 2, 159–163, 1967.
- BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A. G. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. 2. ed. Barueri – SP: Editora Manole, 2003. p. 331.
- BELTRAMI, C. A.; DI LORETO, C.; FINATO, N.; et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), DNA synthesis and mitosis in myocytes following cardiac transplantation in man. **J Mol Cell Cardiol**, 29, 2, 789-802, 1997.
- BERNARDO, A. F.; CORTEZ, E.; NEVES, F. A.; et al. Overnutrition during lactation leads to impairment in insulin signaling, up-regulation of GLUT1 and increased mitochondrial carbohydrate oxidation in heart of weaned mice. **The Journal of nutritional biochemistry**, 29, 124-132, 2016.
- BIVOLARSKI, B. L.; VACHKOVA, E. G. Morphological and functional events associated to weaning in rabbits. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, 98, 1, 9-18, 2014.

BONOMO, I. T.; LISBOA, P. C.; PASSOS, M. C.; ALVES, S. B.; REIS, A. M.; DE MOURA, E. G. Prolactin inhibition at the end of lactation programs for a central hypothyroidism in adult rat. **J Endocrinol**, 198, 2, 331-337, 2008.

BONOMO, I. T.; LISBOA, P. C.; PEREIRA, A. R.; PASSOS, M. C.; DE MOURA, E. G. Prolactin inhibition in dams during lactation programs for overweight and leptin resistance in adult offspring. **J Endocrinol**, 192, 2, 339-344, 2007.

BRAND, T. Heart development: Molecular insights into cardiac specification and early morphogenesis. **Dev Biol**, 258, 1, 1-19, 2003.

BRILLA, C. G.; MAISCH, B.; WEBER, K. T. Renin-angiotensin system and myocardial collagen matrix remodeling in hypertensive heart disease: in vivo and in vitro studies on collagen matrix regulation. **The clinical investigator**, 71, 5, 35-41, 1993.

CATALANI, A.; ALEMÀ, G. S.; CINQUE, C.; ZUENA, A. R.; CASOLINI, P. Maternal corticosterone effects on hypothalamus-pituitary-adrenal axis regulation and behavior of the offspring in rodents. **Neurosci Biobehav**, 35, 7, 1502-1517, 2011.

CRAMER, C. P.; THIELS, E.; ALBERTS, J. R. Weaning in rats: I. Maternal behavior. **Dev Psychobiol**, 23, 6, 479-493, 1990.

CREASY, R. K.; RESNIK, R. Intrauterine growth restriction. In: **Maternal-Fetal Medicine: Principles and Practice**. Philadelphia: Saunders, 2008. p. 635-650.

DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T., PERSON, O. C.; YOSHIDA, A.; RUDGE, M. V. C.; CALDERON, I. D. M. P. Efeito do ácido acetilsalicílico na performance reprodutiva e na prole de ratas wistar. **Rev Assoc Med Bras**, 48, 4, 312-316, 2002.

DA-SILVA, R. C.; ESCOBEDO, J. P.; GIOIELLI, L. A. Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físicoquímicas de sua gordura. **Quim Nova**, 30, 7, 1535-1538, 2007.

DE BOLD, A. J.; BORENSTEIN, H. B.; VERESS, A. T.; SONNENBERG, H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rat. **Life Sci**, 28, 1, 89-94, 1981.

DE MOURA, E. G.; BONOMO, I. T.; NOGUEIRA-NETO, J. F.; DE OLIVEIRA, E.; TREVENZOLI, I. H.; REIS, A. M.; et al. Maternal prolactin inhibition during lactation programs for metabolic syndrome in adult progeny. **J Physiol**, 587, 20, 4919–4929, 2009.

DODSON, R. B.; MILLER, T. A.; POWERS, K.; YANG, Y.; YU, B.; ALBERTINE, K. H.; ZINKHAN, E. K. Intrauterine growth restriction influences vascular remodeling and stiffening in the weanling rat more than sex or diet. **J Physiol Heart Circ Physiol**, 312, 2, 250–264, 2017.

ESCOBAR, A. M. U.; OGAWA, A. R.; HIRATSUKA, M.; KAWASHITA, M. Y.; et al. Aleitamento materno e condições sócio-econômico-culturais: fatores que levam ao desmame precoce. **Rev Bras Saúde Matern Infant**, 2, 3, 253-261, 2002.

FRAGA, M. C.; DE MOURA, E. G.; DA SILVA, L. N.; LISBOA, P. C.; DE OLIVEIRA, E.; et al. Anxiety-like, novelty-seeking and memory/learning behavioral traits in male Wistar rats submitted to early weaning. **Physiol Behav**, 30, 124, 100-106, 2014.

FRANCO, J. G.; LISBOA, P. C.; LIMA, N. S.; AMARAL, T. A.; PEIXOTO-SILVA, N.; et al. Resveratrol attenuates oxidative stress and prevents steatosis and hypertension in obese rats programmed by early weaning. **The Journal of nutritional biochemistry**, 24, 6, 960-966, 2013.

FRITSCH, H.; KUHNEL, W. Sistema Circulatório. In: _____. **Anatomia Esplancnologia - Texto e Atlas – 2**, 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p. 22-57.

GALEF, B. G.; HENDERSON, P. W. Mother's milk: a determinant of the feeding preferences of weaning rat pups. **J Comp Physiol Psychol**, 78, 2, 213-219, 1972.

GAMA, E. F.; LIBERTI, E. A.; DE-SOUZA, R. R. Effects of pre- and postnatal protein deprivation on atrial natriuretic peptide- (ANP-) granules of the right auricular cardiocytes. An ultrastructural morphometric study. **Eur J Nutr**, 46, 5, 245–250, 2007.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. Sistema Circulatório. In: _____. **Tratado de Histologia em Cores**, 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2003. p. 205-220.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Developmental plasticity and human disease: research directions. **J Intern Med**, 261, 5, 461-471, 2007.

GOMEZ-PINILLA, F. Brain foods: the effects of nutrients on brain function. **Nat Rev Neurosci**, 9, 7, 568-578, 2008.

GOSS, C. M. O Coração | Artérias. In: _____. **Gray Anatomia**, 29. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p. 433-551.

HUOT, R. L.; PLOTSKY, P. M.; LENOX, R. H.; MCNAMARA, R. K. Neonatal maternal separation reduces hippocampal mossy fiber density in adult Long Evans rats. **Brain Res**, 950, 1, 52–63, 2002.

IKENISHI, A.; IWAMOTO, O. H.; YOSHITOME, N.; TANE, S.; NAKAMURA, S.; OBAYASHI, K.; HAYASHI, T.; TAKEUCHI, T. Cell cycle regulation in mouse heart during embryonic and postnatal stages. **Dev Growth Differ**, 54, 8, 731–738, 2012.

INNIS, S. M. Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. **J Pediatr**, 143, 4, 1-8, 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Sistema Circulatório. In: _____. **Histologia Básica**, 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. p. 206-222.

KIKUSUI, T.; FACCIDOMO, S.; MICZEK, K. A. Repeated maternal separation: differences in cocaine-induced behavioral sensitization in adult male and female mice. **Psychopharmacology**, 178, 2-3, 202–210, 2005.

KIKUSUI, T.; KIYOKAWA, Y.; MORI, Y. Deprivation of mother–pup interaction by early weaning alters myelin formation in male, but not female, ICR mice. **Brain research**, 1133, 115-122, 2007.

KIKUSUI, T.; MORI, Y. Behavioural and neurochemical consequences of early weaning in rodents. **Journal of neuroendocrinology**, 21, 4, 427-431, 2009.

KOBS, R. W.; CHESLER, N. C. The mechanobiology of pulmonary vascular remodeling in the congenital absence of eNOS. **Biomech Model Mechanobiol**, 5, 4, 217–225, 2006.

KOEFOED, K.; VELAND, I. R.; PEDERSEN, L. B.; LARSEN, L. A.; CHRISTENSEN, S. T. Cilia and coordination of signaling networks during heart development. **Organogenesis**, 10, 1, 108–125, 2014.

KRAMER, M. S.; KAKUMA, R. The optimal duration of exclusive breastfeeding: a systematic review. **Adv Exp Med Biol**, 554, 63-77, 2004.

LADD, C. O.; HUOT, R. L.; THRIVIKRAMAN, K. V.; NEMEROFF, C. B.; MEANEY, M. J.; PLOTSKY, P. M. Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. **Prog Brain Res**, 122, 3, 81–103, 2000.

LAKATTA, E. G. The reality of aging viewed from the arterial wall. **Artery Res**, 7, 2, 73–80, 2013.

LAKATTA, E. G.; LEVY, D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease. **Circulation**, 107, 1, 139–146, 2003.

LI, F.; WANG, X.; CAPASSO, J. M.; GERDES, A. M. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. **J Mol Cell Cardiol**, 28, 8, 1737–1746, 1996.

LIMA, N. D. A. S.; DEMOURA, E. G.; PASSOS, M. C.; NOGUEIRA NETO, F. J.; REIS, A. M.; DE OLIVEIRA, E.; et al. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. **Br J Nutr**, 105, 9, 1405–1413, 2011.

LIMA, N. S.; DE MOURA, E. G.; FRANCO, J. G.; PINHEIRO, C. R.; PAZOS-MOURA, C. C.; CABANELAS, A.; et al. Developmental plasticity of endocrine disorders in obesity model primed by early weaning in dams. **Horm Metab Res**, 45, 1, 22-30, 2013.

LIU, D.; DIORIO, J.; DAY, J. C.; FRANCIS, D. D.; MEANEY, M. J. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. **Nat Neurosci**, 3, 8, 799–806, 2000.

LIU, Y.; CIGOLA, E.; CHENG, W.; et al. Myocyte nuclear mitotic division and programmed myocyte cell death characterize the cardiac myopathy induced by rapid ventricular pacing in dogs. **Lab Invest**, 73, 6, 771-787, 1995.

LUCAS, J. J.; YAMAMOTO, A.; SCEARCE-LEVIE, K.; SAUDOU, F.; HEN, R. Absence of fenfluramine-induced anorexia and reduced c-fos induction in the hypothalamus and central amygdaloid complex of serotonin 1B receptor knock-out mice. **J Neurosci**, 18, 14, 5537–5544, 1998.

MACHO, L.; FICKOVA, M.; ZORAD, S. The effect of early weaning on insulin receptors in rat liver. **Endocr Regul**, 29, 3, 157-162, 1995.

MARTINI, V. C. V.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Offspring myocardium alteration from dams submitted to nitric oxide synthesis inhibition during pregnancy. **International Journal of Cardiology**, 100, 3, 377– 382, 2005.

METCALFE, N. B.; MONAGHAN, P. Compensation for a bad start: grow now, pay later?. **Trends Ecol Evol**, 16, 5, 254–260, 2001.

MOGI, K.; ISHIDA, Y.; NAGASAWA, M.; KIKUSUI, T. Early weaning impairs fear extinction and decreases brain-derived neurotrophic factor expression in the prefrontal cortex of adult male C57BL/6 mice. **Dev Psychobiol**, 58, 8, 1034-1042, 2016.

MOORE, K. L.; DALLEY, A. F.; AGUR, A. M. R. Tórax. In: _____. **Anatomia Orientada para a Clínica**, 7. ed. Rio de Janeiro: Koogan, 2014. p. 135-160.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. O Sistema Cardiovascular. In: _____. **Embriologia Clínica**, 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p. 289-341.

MOREIRA, A. S. B.; TEIXEIRA, M. T.; OSSO, F. S.; PEREIRA, R. O.; SILVA-JUNIOR, G. O.; GARCIA-DE-SOUZA, E. P.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; SANCHEZ-MOURA, A. Left ventricular hypertrophy induced by overnutrition early in life. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, 19, 11, 805-810, 2009.

MOURÃO JÚNIOR, C. A.; ABRAMOV, D. M. Sistema Circulatório. In: _____. **Fisiologia Essencial**, 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 269-302.

NEERHOF, M. G. Causes of intrauterine growth restriction. **Clin Perinatol**, 22, 2, 375–385, 1995.

ODDY, W. H. Infant feeding and obesity risk in the child. **Breastfeed Rev**, 20, 2, 7–12, 2012.

OLIVEIRA, L. D. S.; SOUZA, S. L. D.; CASTRO, R. M. Behavioral satiety sequence: an experimental model for studying feeding behavior. **Revista de Nutrição**, 24, 4, 619–628, 2011 “B”.

OLIVEIRA, L. S.; SILVA, L. P.; SILVA, A. I.; MAGALHÃES, C. P.; SOUZA, S. L.; CASTRO, R. M. Effects of early weaning on the circadian rhythm and behavioral satiety sequence in rats. **Behavioural processes**, 86, 1, 119–124, 2011 “A”.

PEREIRA, R. O.; MOREIRA, A. S. B.; CARVALHO, L.; MOURA, A. S. Overfeeding during lactation modulates insulin and leptin signaling cascade in rats' hearts. **Regulatory Peptides**, 136, 1, 117–121, 2006.

PESSANHA, C. R.; BOUERI, B. F. C.; COSTA, L. R.; FERREIRA, M. R.; MELO, H. S.; ABREU, M. D. C.; et al. Brain development in male rats subjected to early weaning and treated with diet containing flour or flaxseed oil after 21 days until 60 days. **Journal of developmental origins of health and disease**, 6, 4, 268–271, 2015.

PLAUT, S. M.; DAVIS, J. M. Effects of mother-litter separation on survival, growth, and brain amino acid levels. **Physiol Behav**, 8, 1, 43–51, 1972.

PLOTSKY, P. M.; MEANEY, M. J. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. **Mol Brain Res**, 18, 3, 195–200, 1993.

POPKIN, B. M.; ADAIR, L.; AKIN, J. S.; BLACK, R.; BRISCOE, J.; FLIEGER, W. Breast-feeding and diarrheal morbidity. **Pediatrics**, 86, 6, 874–882, 1990.

QUAINI, F.; CIGOLA, E.; LAGRASTA, C.; et al. End-stage cardiac failure in humans is coupled with the induction of proliferating cell nuclear antigen and nuclear mitotic division in ventricular myocytes. **Circ Res**, 75, 6, 1050–1063, 1994.

QUITETE, F. T.; NOBRE, J. L.; PEIXOTO-SILVA, N.; MOURA, E. G.; et al. Anti-obesogenic effects of calcium prevent changes in the GLP-1 profile in adult rats primed by early weaning. **Mol Nutr Food Res**, 59, 4, 773–783, 2015.

RAMOS, C. V.; ALMEIDA, J. A. G. Alegações maternas para o desmame: estudo qualitativo. **J Ped**, 79, 5, 385-390, 2003.

REISS, K.; KAJSTURA, J.; ZHANG, X.; et al. Acute myocardial infarction leads to upregulation of the IGF-1 autocrine system, DNA replication, and nuclear mitotic division in the remaining viable cardiac myocytes. **Exp Cell Res**, 213, 2, 463-472, 1994.

REMMERS, F.; DELEMARRE-VAN DE WAAL, H. A. Developmental programming of energy balance and its hypothalamic regulation. **Endocr Rev**, 32, 2, 272–311, 2011.

RIZZO, D. C. O Sistema Cardiovascular. In. _____. **Fundamentos da Anatomia e Fisiologia**, 3. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012. p. 306-324.

SAFAR, M. E.; LEVY, B. I.; STRUIJKER-BOUDIER, H. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. **Circulation**, 107, 22, 2864–2869, 2003.

SANDRE-PEREIRA, S.; COLARES, L. G. T.; DO CARMO, M. G. T.; SOARES, E. A. Conhecimentos maternos sobre amamentação entre puérperas inscritas no programa de pré-natal. **Cad Saúde Públ**, 16, 2, 457-466, 2000.

SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE D, J. R.; SEELEY, R. J.; BASKIN, D. G. Central nervous system control of food intake. **Nature**, 404, 6778, 661-671, 2000.

SHADWICK, R. E. Mechanical design in arteries. **J Exp Biol**, 202, 23, 3305–3313, 1999.

SHEMA, L.; ORE, L.; BEN-SHACHAR, M.; HAJ, M.; LINN, S. The association between breastfeeding and breast cancer occurrence among Israeli Jewish women: a case control study. **J Cancer Res Clin Oncol**, 133, 8, 539-546, 2007.

SILVA, M. C.; ARANDAS, M. J.; LIMA-JUNIOR, N. B.; AGUIAR-JÚNIOR, F. C.; SANTOS, K. R. Análise histomorfométrica dos cardiomiócitos e deposição de colágeno

no músculo cardíaco de ratas ooforectomizadas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36, 3, 216-220, 2016.

SILVEIRA, F. J. F.; LAMOUNIER, J. A. Fatores associados à duração do aleitamento materno em três municípios da região do Alto Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Cad Saúde Públ**, 22, 1, 69-77, 2006.

SIMMONS, R. A. Developmental origins of adult disease. **Pediatr Clin North Am**, 56, 3, 449-466, 2009.

SKILTON, M. R.; EVANS, N.; GRIFFITHS, K. A.; HARMER, J. A; CELERMAJER, D. S. Aortic wall thickness in newborns with intrauterine growth restriction. **Lancet**, 365, 9469, 1484–1486, 2005.

SKILTON, M. R.; GOSBY, A. K.; WU, B. J.; HO, L. M.; STOCKER, R.; CATERSON, I. D.; CELERMAJER, D. S. Maternal undernutrition reduces aortic wall thickness and elastin content in offspring rats without altering endothelial function. **Clinical Science**, 111, 4, 281-287, 2006.

SLOAN, S.; GILDEA, A.; STEWART, M.; SNEDDON, H.; IWANIEC, D. Early weaning is related to weight and rate of weight gain in infancy. **Child Care Health**, 34, 1, 59–64, 2008.

SOONPAA, M. H.; KIM, K. K.; PAJAK, L.; FRANKLIN, M.; FIELD, L. J. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. **J Physiol**, 271, 5, 2183–2189, 1996.

SOUZA, S. L. D.; CASTRO, R. M. D.; NOGUEIRA, M. I. Comportamento alimentar neonatal. **Rev bras saúde matern infant**, 3, 3, 241-246, 2003.

STANFIELD, C. L. Sistema Cardiovascular. In. _____. **Fisiologia Humana**, 5. ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2013. p. 418-523.

TAPPIA, P.S.; GUZMAN, C.; DUNN, L.; AROUTIOUNOVA, N. Adverse cardiac remodeling due to maternal low protein diet is associated with alterations in expression of genes regulating glucose metabolismo. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, 23, 2, 130-135, 2013.

TARRY-ADKINS, J. L.; MARTIN-GRONERT, M. S.; FERNANDEZ-TWINN, D. S.; HARGREAVES, I.; ALFARADHI, M. Z.; LAND, J. M.; AIKEN, C. E.; OZANNE, S. E. Poor maternal nutrition followed by accelerated postnatal growth leads to alterations in DNA damage and repair, oxidative and nitrosative stress, and oxidative defense capacity in rat heart. **The FASEB Journal**, 27, 1, 379-390, 2017.

TOLOSA, E. M.C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; NETO, A. G. F. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. 2. ed. Barueri – SP: Editora Manole, 2003. p. 331.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. Sistema Circulatório | O Coração. In. _____. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**, 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 693-734.

TOYOSHIMA, Y.; SUZUKI, S.; AWAL, M. A.; MATSUMOTO, M.; NISHINAKAGAWA, H.; MIFUNE, H.; HONDA, J. Atrial natriuretic peptide (ANP)-granules of auricular cardiocytes in dehydrated and rehydrated mice. **Exp Anim**, 45, 135–140, 1996.

TURDI, S.; GE, W.; HU, N.; BRADLEY, K. M.; WANG, X.; REN, J. Interaction between maternal and postnatal high fat diet leads to a greater risk of myocardial dysfunction in offspring via enhanced lipotoxicity, IRS-1 serine phosphorylation and mitochondrial defects. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, 55, 117–129, 2013.

VAN DE GRAAFF, K. M. Sistema Circulatório. In. _____. **Anatomia Humana**, 6. ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 537-586.

VANPUTTE, C. L.; REGAN, J. L.; RUSSO, A. F. Sistema Circulatório. In. _____. **Anatomia e Fisiologia de Seeley**, 10. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016. p. 637-768

VICTORA, C. G.; SMITH, P.G.; VAUGHAN, J. P.; NOBRE, L.C.; LOMBARDI, C.; TEIXEIRA, A. M.; et al. Evidence for protection by breast-feeding against infant deaths from infectious diseases in Brazil. **The Lancet**, 330, 8554, 319-322, 1987.

VITOLO, M. R.; BENETTI, S. P. C.; BORTOLINI, G. A.; GRAEFF, A.; DRACHLER, M. L. Depressão e suas implicações no aleitamento materno. **Rev Psiq**, 29, 1, 28-34, 2007.

WEAVER, I. C.; DIORIO, J.; SECKL, J. R.; SZYF, M.; MEANEY, M. J. Early environmental regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene expression: characterization of intracellular mediators and potential genomic target sites. **Ann NY Acad Sci**, 1024, 1, 182–212, 2004.

WEAVER, L. T. Milk and the neonatal gut: comparative lessons to be learnt. **Equine veterinary journal**, 18, 6, 427-429, 1986.

WEAVER, L. T.; LAKER, M. F.; NELSON, R.; LUCAS, A. Milk feeding and changes in intestinal permeability and morphology in the newborn. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, 6, 3, 351-358, 1987.

WEAVER, L. T.; LANDYMORE-LIM, L.; HUDSON, G. J. The guinea pig as a model for the study of the effects of milk on growth and development. **Growth Dev Aging**, 52, 2, 91-96, 1988.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Infant and young child nutrition. **54th World Health Assembly**. (WHA 54.2). Geneva: WHO, 2001.

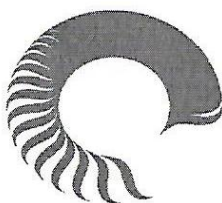
YOSHIHARA, F.; NASHIKIMI, T.; KOSAKAI, Y.; ISOBE, F.; MATSUOKA, H.; TAKISHITA, S.; KAWASHIMA, Y.; SAITO, Y.; MATSUO, H.; KANGAWA, K. Atrial natriuretic peptide secretion and body fluid balance after bilateral atrial appendectomy by the maze procedure. **J Thorac Cardiovasc Surg**, 116, 2, 213–219, 1998.

YOUNES-RAPOZO, V.; DE MOURA, E. G.; LIMA, N. S.; BARRADAS, P. C.; MANHÃES, A. C.; OLIVEIRA, E.; LISBOA, P. C. Early weaning is associated with higher neuropeptide Y (NPY) and lower cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) expressions in the paraventricular nucleus (PVN) in adulthood. **British Journal of Nutrition**, 108, 12, 2286–229, 2012.

YOUNES-RAPOZO, V.; MOURA, E. G.; MANHAES, A. C.; PEIXOTO-SILVA, N.; OLIVEIRA, E.; LISBOA, P. C. Early weaning by maternal prolactin inhibition leads to

higher neuropeptide Y and astrogliosis in the hypothalamus of the adult rat offspring.
British Journal of Nutrition, 113, 3, 536-545, 2015.

**ANEXO A: PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS –
CEUA**



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 23 de março de 2017.

Ofício nº 17/17

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Juliana Pinto de medeiros**

Departamento de Histologia e Embriologia

Centro de Biociências

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº **23076.010343/2016-70**

Certificamos que a proposta intitulada **“Efeitos do desmame precoce sobre o sistema cardiovascular.”**, registrada com o nº **23076.010343/2016-70** sob a responsabilidade de Prof.ª **Juliana Pinto de medeiros** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 08/03/2017.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/05/2016 a 01/05/2017
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogêneo (Wistar)
Nº de animais	24
Peso/Idade	220-300g 1-150 dias
Sexo	Machos e fêmea
Origem	Biotério do Detpa de Nutrição

Atenciosamente



Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584

ANEXO B: Artigo “PERINATAL PROTEIN MALNUTRITION AND CARDIOVASCULAR SYSTEM: A systematic review” submetido a revista Journal of Morphological Science.



Emerson Xavier <joseemersonxavier@gmail.com>

Journal of Morphological Sciences - submissao completa

1 mensagem

Journal of Morphological Sciences <no-reply@editoracubo.com.br>

29 de agosto de 2017 às 14:58

Responder a: efgama@profaeliane.net

Para: joseemersonxavier@gmail.com

Prezado(a) Prof. José Emerson Xavier,

Seu artigo foi submetido com sucesso!

Os dados do artigo submetido são:

Código: 1224-17

Título: PERINATAL PROTEIN MALNUTRITION AND CARDIOVASCULAR SYSTEM: A Systematic Review

Autores: José Emerson Xavier, Erivaldo Alves Antonio, Lisiane dos Santos Oliveira, Sandra Lopes Souza, Juliana Pinto de Medeiros, Lavínia Calmon Lima, Carlos Alberto de Carvalho Fraga, Rafael Danylo da Silva Miguel,

Submetido por: Prof. José Emerson Xavier

O artigo será encaminhado para avaliação de consultores e, assim que obtivermos os pareceres, eles lhe serão informados por este mesmo e-mail.

Para acessar sua conta diretamente, sem login e senha, favor entrar no link:

<http://jms.submitcentral.com.br/bot/login.php?hash=3430770rT946005bY9r12240740033h5gf80041e29261282c47c04b7cba203be157c89&mktUsR=1504029503>Em caso de dúvidas, solicitamos-lhe entrar em contato com: efgama@profaeliane.net

Agradecendo-lhe a colaboração, enviamos cordiais saudações.

Cordialmente,

Journal of Morphological Sciences

Journal of Morphological Sciences

ISSN: 2177-0298

Tel.: (55) (11) 3091-7978

PERINATAL PROTEIN MALNUTRITION AND CARDIOVASCULAR SYSTEM: A systematic review

Abstract

This study is a systematic review of the literature which aimed to characterize the profile in animal models used to study perinatal protein malnutrition correlating with the cardiovascular system and the implications promoted in the heart by malnutrition. Therefore, an extensive search was conducted in the following databases: PUBMED, BVS and SCIELO, using combinations of the descriptors “protein malnutrition”, “pregnancy”, “heart”, “lactation” and “Cardiovascular System”. 247 articles were found, but after excluding duplicities and applying the inclusion/exclusion criteria, 12 papers remained. The analysis of the results shows that the diet used in the studies has the protein content between 17% and 22% for the control animals and between 0% and 9% for the animals submitted to perinatal protein malnutrition. The main morphofunctional changes observed in the cardiovascular system are related to high blood pressure, increased apoptosis of cardiomyocytes and reduction in the absolute size of the heart, among other ultrastructural and molecular changes.

Key-words: cardiovascular diseases, heart, offspring, undernourished

INTRODUCTION

During the period of gestation and lactation the developing organism is more vulnerable to external stimuli, being able to adapt to those stimuli to survive. Although these adaptations are evolutionarily beneficial to the organism, it is the main responsible for the emergence of diseases in adult life as well, if the environment in adult life is different from the perinatal environment (Barker, 2003).

The cardiovascular system is the first system to develop during the embryonic period. However, the cardiomyocytes continue to proliferate for a while in the postnatal period (Li *et al.*, 1996). Several elements are important to maintain the integrity of this system, such as zinc, which is necessary for cardiac development (Tomat *et al.*, 2013), and the tryptophan, that is important for the development of the cardiorespiratory center

in the medulla oblongata (Penatti et al., 2011). Thus, a balanced diet for pregnant women is essential to promote healthy development of the fetus.

In experimental models with the number of offspring of Wistar rats adjusted in 3 pups per female, there was an induction of obesity in offspring, promoting several consequences in the cardiovascular system. Among those alterations it is possible to identify the increase in myocardial sympathetic tone (Barros et al., 2015), left ventricular hypertrophy (Moreira et al., 2009) and cardiac hypertrophy and increased risk of developing ischemia (Vieira et al., 2015). At molecular levels, the hypernutrition during the lactation period is still capable of promoting damage to insulin signaling pathway and increased expression of GLUT-1 (Bernardo et al., 2016), Increased expression of receptors for insulin and leptin in the myocardium and translocation of GLUT-4 to the plasma membrane (Pereira et al., 2006).

On the other hand, protein malnutrition during the perinatal period is also capable of promoting morphological and functional damage to the cardiovascular system (Brito-Alves et al., 2016; Moussa et al., 2017; Braz et al., 2017). Experimental models that restrict the amount of casein in the food of rats and mice are quite widespread in the scientific literature. However, the protein content used in diet of pregnant females and the sex of their offspring are very variable. Starting from this point, the objective were: 1 - To characterize the animal models used in studies that relate perinatal protein malnutrition and the cardiovascular system, identifying the sex of the animals and the casein content of their diets and 2 - To analyze the morphofunctional implications caused by perinatal protein malnutrition on the heart of rats.

METHODS

This study is a systematic review of the literature performed by two researchers individually in double-blind procedure between June 22 and 25, 2017. The literature search was carried out in the following databases: PUBMED, BVS and SCIELO using the descriptors “protein malnutrition”, “pregnancy”, “heart”, “lactation” and “Cardiovascular System”, all present in the list of Health Sciences Descriptors (DeCS).

All articles were placed in an Excel spreadsheet (Microsoft Office 2017) and then the titles and summaries of each article were analyzed. Therefore, to characterize

the model of animal submitted to perinatal protein malnutrition associated with changes in the cardiovascular system, the following inclusion criteria were used: a) Original articles that exclusively used perinatal protein malnutrition in rats and b) those that approached morphofunctional alterations of the cardiovascular system. The use of the first criteria allowed characterizing the animal model used in the studies that correlated perinatal protein malnutrition and cardiovascular system, corresponding to the first objective of this study. On the other hand, the second criteria enable the analysis of morphofunctional changes in the heart, specifically, in rats, which correspond to the second objective.

RESULTS

In total, 247 articles were found in the three analyzed databases. The numbers of articles found in each database according to respective the combination of the descriptors are shown in table 1. However, after excluding duplicities and applying the inclusion/exclusion criteria, just 12 articles remained.

Table 1: Number of articles found in each database according to the combination of the descriptors

COMBINATION OF DESCRIPTRS	PUBMED	BVS	SCIELO
protein malnutrition AND pregnancy AND heart	62	62	1
protein malnutrition AND lactation AND heart	17	19	1
protein malnutrition AND lactation AND cardiovascular System	14	8	0
protein malnutrition AND pregnancy AND cardiovascular System	46	17	0

The protein content of the animals from the control group varied between 17 and 22%. Whereas, the protein content of malnourished animals ranged from 0% to 9%. Among all the articles found, eight used only male rats (66%), one (8.5%) used both

sexes, one (8.5%) used only female rats and the remaining two (17%) did not report the sex of the animals. The summary of the main results obtained are described in Table 2.

Table 2: Summary of the main results found in the selected articles related to perinatal protein malnutrition and the cardiovascular system of offspring of rats. NP - Normal Protein; LP - Low Protein.

AUHTORS	DIET	SEX	MAIN RESULTS
Tappia et al., 2013	NP: 18%; LP 9%	Male	Perinatal protein malnutrition stimulated an increase in the ventricular wall in rats from the fourth week of life. Furthermore, the internal diameter of the left ventricle is greater in malnourished animals as well. These findings were associated with increased gene expression that decodes proteins involved in glucose transport and metabolism.
Gama et al., 2007	NP: 18.7%; LP: 5%	Untold	In the 21st day of life, the hearts of animals submitted to perinatal malnutrition were smaller than the control animals. Moreover, it was observed the presence of polymorphic cardiomyocytes, numerous vacuoles, irregular microfilaments, polymorphic mitochondria with disorganized cristae, and it has been verified that even the heart size being reduced by about 50%, the number of granules of atrial natriuretic peptide did not reduce.
Brawley et al., 2003	NP: 18%; LP: 9%	Male	The animals submitted to perinatal protein malnutrition showed an increase in blood pressure during the 130th day of life and reduced vasodilatory activity (Between the 87th and 164th day of life) when compared to the control group.
Holness et al., 1998	NP: 20%; LP: 8%	Untold	Animals subjected to perinatal protein malnutrition and remained with poor protein diet in adulthood did not present significant differences in glucose

			utilization compared to the control group. On the other hand, rats that were submitted to perinatal protein malnutrition and then receive a normoproteic diet exhibited reduced glucose utilization.
Akamatsu et al., 2011	NP: 20%; LP: 5%	Male	Animals that have been subjected to protein malnutrition during pregnancy and up to the 21st day postnatal life and then receive a normoproteic diet for another 21 days showed an increase in ribosome density on the endoplasmic reticulum in comparison with animals that remained on a hypoproteic diet. However, the number of ribosomes in the endoplasmic reticulum was lower in animals that always received a normoproteic diet. In addition, the animals that changed the diet of hypo to normoproteic on the 21st day of life showed intermediate density of chromatin and mitochondria with oblique cristae, while in the animals that maintained the malnutrition and in the animals that always received normal diet these cristae were irregular and transverse, respectively.
Moura et al., 2004	NP: 22%; LP: 0%	Both sexes	Perinatal protein malnutrition promoted the relative increase of the heart in both sexes (heart/body) on the 8th day of life. Furthermore, in the same period, the heart of females showed a larger growth when compared to the heart of males, but in the second month of life there are no significant differences between these groups.
Akamatsu et al., 2009	NP: 20%; LP: 5%	Male	Perinatal protein malnutrition decreased the number of neurons in the subepicardial ganglia of male rats.
Barros et al., 2015	NP: 17%; LP: 8%	Male	Perinatal protein malnutrition elevates the level of sympathetic tone in the heart of Wistar rats and

Cheema et al., 2005	NP: 18%; Male LP: 9%	contributes to the increase in blood pressure. The fraction of blood ejection is lower in the animals that were submitted to perinatal protein malnutrition when compared to the control group. In addition, it was verified that this reduction in blood ejection is a result of cardiomyocyte loss due to increased apoptosis.
Augustyniak et al., 2010	NP: 18%; Male LP: 6%	Animals submitted to perinatal protein malnutrition showed an increase in blood pressure when compared to control group after feeding for five weeks on a high-salt diet (4%).
Torrens et al., 2002	NP: 18%; Female LP: 9%	Female rats that were submitted to perinatal protein malnutrition presented vasodilator dysfunction in the arteries during gestation.
Akamatsu et al., 2010	NP: 20; Male LP: 5%	The rough endoplasmic reticulum of animals submitted to perinatal protein malnutrition exhibited a lower density of ribosomes. Moreover, the chromatin density in malnourished animals was lower than in the control group as well. The mitochondrial cristae folds were irregular, while in the control group these cristae were transversal.

DISCUSSION

The analysis of results observed in all articles it is possible to identify that the casein content used in most studies was 18% for the control group and 9% for the undernourished group. In general, although perinatal protein malnutrition promotes a reduction in the body weight of animals absolute reduction of size of the heart (Gama et al., 2007), the relative size of the heart (heart weight/body weight) is higher in animals submitted to protein deficiency in the perinatal period, in both sexes (Moura et al., 2004).

The comparison between the absolute thicknesses of the left ventricle of animals which their mothers received a normoproteic and hypoproteic diet, indicate that malnutrition reduces the ventricular thickness in the animals during the period between the first 24 hours of life until the eighth week, when there is a significant increase in thickness of the ventricular wall in malnourished offspring (Tappia et al., 2013). The observed hypertrophy of the ventricle was correlated with the increased expression of proteins related to glucose metabolism, which suggests that the cardiac remodeling observed in those animals may be due to an increase in myocardial glucose uptake (Tappia et al., 2013).

On the other hand, the internal diameter of the left ventricle in malnourished animals was higher since the first 24hrs of postnatal life, staying higher up to eighth week (Tappia et al., 2013). During the first two weeks of life, it was observed reduced ejection fraction occurring in the same period that there was a higher degree of cardiomyocyte apoptosis (Cheema et al., 2004).

In addition to ventricular changes, alterations in the atria were also verified. The atrial wall is responsible for the release of atrial natriuretic peptide. This hormone is involved in the control of electrolyte balance and body fluids, being involved in development of hypertension (Toyoshima et al., 1996; De Bold et al., 1981; Yoshihara et al, 1998). The atrial cardiomyocytes of animals submitted to protein malnutrition during pregnancy did not present a reduction in the number of granules of atrial natriuretic peptide, even the heart size being reduced by about 50% (Gama et al., 2007). In ultrastructure analysis of these cells, it can be verified that the perinatal protein malnutrition promotes the appearance of numerous cytoplasmic vacuoles, associated with irregular microfilaments, *polymorphism at the cardiomyocytes and polymorphic mitochondria containing disorganized mitochondrial cristae* (Gama et al., 2007).

Morphological changes in the heart of malnourished rats were not restricted to cardiomyocytes. It was observed that the perinatal protein malnutrition further damages the development of subepicardial neurons (Akamatsu et al, 2009; Akamatsu et al., 2010; Akamatsu et al., 2011). In these neurons were verified the reduction of number of ribosomes in the rough endoplasmic reticulum, reducing the distribution of chromatin and altering the morphology of the mitochondrial cristae, from transverse to irregular

All morphological alterations in the heart associated with increased sympathetic tone (Barros et al., 2015) and with vascular changes (Torrens et al., 2002; Brawley et al., 2003) also lead to an increase in blood pressure in animals that suffered perinatal protein malnutrition. Furthermore, the offspring subjected to perinatal malnutrition are more vulnerable to increasing blood pressure after intake of high-sodium diet for a given period (Augustyniak et al., 2010).

CONCLUSIONS

The results show that most of the protein malnutrition model used to verify morphological changes in the cardiovascular system uses a normoproteic diet with a protein content of 18% and a hypoproteic diet of 5% or 9%. Furthermore, it was possible to verify that perinatal protein malnutrition provoke an increase in blood pressure due to both morphological and ultrastructural alterations of cardiomyocytes and subendocardial neurons.

REFERÊNCIAS

AKAMATSU, FE, et al. Effect of prenatal low-protein diet in subepicardial neuron of rat: a morphological study. *J Morphol Sci*, 2010, vol. 27, n. 2, p. 82-87.

AKAMATSU, FE, et al. Effects of protein deprivation and refeeding on the subepicardial neurons of rat: subepicardial neurons and low-protein diet. *J Morphol Sci*, 2011, vol. 28, n. 2, p. 120-128.

AKAMATSU, FE, et al. Low protein diet during perinatal period decreases the number of subepicardial neurons in rats. *Braz J Morphol Sci*, 2009, vol. 26, n. 3-4, p. 181-185.

AUGUSTYNIAK, RA, et al. Maternal protein restriction leads to hyperresponsiveness to stress and salt-sensitive hypertension in male offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2010, vol. 298, n. 5, p. 1375–1382, 2010.

BARKER, DJ. The developmental origins of adult disease. *Eur J Epidemiol*, vol. 18, n. 8, p. 733–736, 2003.

BARROS, MAV, et al. Maternal low-protein diet induces changes in the cardiovascular autonomic modulation in male rat offspring. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 2015, vol. 25, n. 1, p. 123-130.

BERNARDO, AF, et al. Overnutrition during lactation leads to impairment in insulin signaling, up-regulation of GLUT1 and increased mitochondrial carbohydrate oxidation in heart of weaned mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016, vol. 29, p. 124–132.

BRAWLEY, L, et al. Dietary Protein Restriction In Pregnancy Induces Hypertension And Vascular Defects In Rat Male Offspring. *Pediatr Res*, 2003, vol. 54, n. 1, p. 83–90.

BRAZ, GRF, et al. Maternal low-protein diet in female rat heart: possible protective effect of estradiol. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 2017, vol. 8, n. 3, p. 322-330.

BRITO ALVES, JL, et al. Maternal protein restriction induced- hypertension is associated to oxidative disruption at transcriptional and functional levels in the medulla oblongata. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 2016, vol. 43, n. 12, p. 1177-1184.

CHEEMA, KK, et al. Prenatal exposure to maternal undernutrition induces adult cardiac dysfunction. *British journal of nutrition*, 2005, vol. 93, n. 4, p. 471-477.

DE BOLD, AJ, et al. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life sciences*, 1981, vol. 28, n. 1, p. 89-94.

GAMA, EF; LIBERTI, EA; DE SOUZA, RR. Effects of pre-and postnatal protein deprivation on atrial natriuretic peptide-(ANP-) granules of the right auricular cardiocytes. *European journal of nutrition*, 2007, vol. 46, n. 5, p. 245-250.

HOLNESS, MJ; PRIESTMAN, DA; SUGDEN, MC. Impact of protein restriction on the regulation of cardiac carnitine palmitoyltransferase by malonyl-CoA. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 1998, vol. 30, n. 7, p. 1381-1390.

LI, F, et al. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 1996, vol. 28, n. 8, p. 1737-1746.

MOREIRA, ASB, et al. Left ventricular hypertrophy induced by overnutrition early in life. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2009, vol. 19, n. 11, p. 805-810.

MOURA, AS; PEREIRA, FG; MANDARIM-DE-LACERDA, CA. Gender determines long-lasting effects on adult offspring heart after early-life malnourishment. *Neonatology*, 2004, vol. 85, n. 4, p. 256-262.

MOUSSA, YY, et al. Disturbed nitric oxide and homocysteine production are involved in the increased risk of cardiovascular diseases in the F1 offspring of maternal obesity and malnutrition. *Journal of endocrinological investigation*, 2017, vol. 40, n. 6, p. 611-620.

PENATTI, EM, et al. Maternal dietary tryptophan deficiency alters cardiorespiratory control in rat pups. *Journal of Applied Physiology*, 2011, vol. 110, n. 2, p. 318-328.

PEREIRA, RO, et al. Overfeeding during lactation modulates insulin and leptin signaling cascade in rats' hearts. *Regulatory peptides*, 2006, vol. 136, n. 1, p. 117-121.

TAPPIA, PS, et al. Adverse cardiac remodeling due to maternal low protein diet is associated with alterations in expression of genes regulating glucose metabolism. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 2013, vol. 23, n. 2, p. 130-135.

TOMAT, AL, et al. Morphological and functional effects on cardiac tissue induced by moderate zinc deficiency during prenatal and postnatal life in male and female rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2013, vol. 305, n. 11 p. 1574-1583.

TORRENS, C, et al. Atorvastatin restores endothelial function in offspring of protein-restricted rats in a cholesterol-independent manner. *Hypertension*, 2009, vol. 53, n. 4, p. 661-667.

TOYOSHIMA, Y, et al. Atrial natriuretic peptide (ANP)-granules of auricular cardiocytes in dehydrated and rehydrated mice. *Experimental animals*, 1996, vol. 45, n. 2, p. 135-140.

VIEIRA, AKG, et al. Overnourishment during lactation induces metabolic and haemodynamic heart impairment during adulthood. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2015, vol. 25, n. 11, p. 1062-1069.

YOSHIHARA, F, et al. Atrial natriuretic peptide secretion and body fluid balance after bilateral atrial appendectomy by the maze procedure. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 1998, vol. 116, n. 2, p. 213-219.