



REGINA DA SILVA SANTOS

**NUTRIÇÃO, HIPERTIROIDISMO
PRECOCE E DESENVOLVIMENTO
CEREBRAL: ESTUDO EM RATOS
RECÉM-DESMAMADOS.**

**RECIFE
2000**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**

**NUTRIÇÃO, HIPERTIROIDISMO
PRECOCE E DESENVOLVIMENTO
CEREBRAL: ESTUDO EM RATOS
RECÉM-DESMAMADOS.**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da
Saúde da Universidade Federal de Pernambuco
para obtenção do grau de Mestre em Nutrição –
Área de concentração: Bases experimentais da
Nutrição.

**RECIFE
2000**

FICHA CATALOGRÁFICA

Santos, Regina da Silva

Nutrição, hipertiroidismo precoce e desenvolvimento cerebral: estudo em ratos recém-desmamados / Regina da Silva Santos. – Recife: O Autor, 2000.

Xiii, 62 folhas: il., fig., tab., gráf.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2000.

Inclui bibliografia.

1. Nutrição – Estudo Experimental. 2. Hipertiroidismo - Desenvolvimento cerebral. 3. Depressão alastrante. I Título.

612.39

CDU (2.ed.)

UFPE

612.3

CDD (21. ed.)

BC2001-037

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**

**NUTRIÇÃO, HIPERTIROIDISMO PRECOCE
E DESENVOLVIMENTO CEREBRAL:
ESTUDO EM RATOS RECÉM-
DESMAMADOS.**

ORIENTADOR:

Dr. RUBEM CARLOS ARAÚJO GUEDES

**Prof. Titular do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.
Área: Bases Experimentais da Nutrição**

Banca examinadora:

Efetivos:

Prof. Dr. Egberto Gaspar de Moura (UERJ)

Prof. Dr. Raul Manhães de Castro (UFPE)

Prof^a. Dr^a. Maria Teresa Jansem de Almeida Catanho (UFPE)

Suplentes:

Prof. Dr. José Audísio Costa (UFPE)

Prof^a. Dr^a.Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa (UFPE)

Aprovada com nota 10,0 com distinção por unanimidade

**RECIFE
2000**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio (**LAFINNT**) da Universidade Federal de Pernambuco, sob orientação do Professor **Dr. RUBEM CARLOS ARAÚJO GUEDES** e contou com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Contou também com a inestimável colaboração dos Professores **Dr. JOSÉ FIGUÊREDO DA SILVA** (Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami-LIKA) e **Dra. MARIA TERESA JANSEM DE ALMEIDA CATANHO** (Departamento de Biofísica Celular da UFPE). A todas essas pessoas e instituições, nossos sinceros agradecimentos.

“O caminho que preenche o Universo não é o caminho estreito que limita a liberdade do homem. É o caminho amplo e livre que dá acesso para todos os lados”.

(Maraharu Taniguchi)

“Eu também tomei um caminho... tomei vários caminhos: a profissão, a conquista de mim mesmo, o serviço do próximo... Quantas “partidas” marcaram minha vida, partidas na alegria, no entusiasmo, no propósito de chegar! Pus-me a caminho... Mas na terra todo caminho é uma ascensão. E também depressa conheci a estafa das subidas... a rigidez das trilhas... a força do vento contrário...”

(Ludovic Giraud)

À memória de meu pai

Pela voz erguida na selva escura, pela autenticidade patriótica e amor à Terra Berço. Pelo exemplo de educador, homem público, pela força que foste.

À minha mãe que sempre esteve em meu pensamento, onde através das reflexões pude perceber que a minha identidade existe, pois tenho Família Graças a Deus.

AGRADECIMENTOS

Ao final desses anos, percebi que a construção de um trabalho como este não se realiza só. Esta Dissertação não é um fruto de apenas dois anos de trabalho. Nela estão refletidos meus anos de existência e não seria a mesma se não tivesse vivido a minha história. Hoje seria injusto listar todos a quem agradeceria, pois certamente deixaria de citar alguém que compartilhou de alguma maneira desse momento. Não nomeando, mas tentando contemplar a todos nos diversos momentos vividos. Dirijo meus agradecimentos àqueles: que acreditaram na minha capacidade; que deram sugestões e orientações, construindo, modificando e reconstruindo conceitos e formas de percepção; que tentaram dirimir dúvidas com palavras experientes; que institucionalmente apoiaram a execução do estudo; que ajudaram na utilização de instrumentos e aportes tecnológicos; que incentivaram com palavras e gestos; que, preocupados com o andamento dos trabalhos, insistiram em perguntar em todos os encontros: “e aí já terminou?”; que se mostraram disponíveis em tornar a dissertação o assunto em destaque em todos os encontros; que surpreenderam com bibliografias e discussões pertinentes ao estudo; que se propuseram a ler e criticar o trabalho; que dividiram comigo as horas de estudo e os poucos momentos de distração; que mostraram a necessidade de buscar o prazer de estar mestranda, nas horas em que o desânimo apontava; que compreenderam a pouca atenção que pude dispensar, durante esses dois últimos anos, a tudo que não fosse este trabalho; entretanto, não poderia deixar de fazer um agradecimento especial ao meu orientador, Dr. RUBEM CARLOS ARAÚJO GUEDES, possuidor de admirável dinamismo, interesse, inteligência que honra e enobrece o nosso Departamento, abrilhantando e refletindo o engrandecimento da Ciência e da Pesquisa, pela orientação, paciência, apoio e confiança, será sempre para mim um referencial; e sobretudo a Deus, por ter enviado ao meu encontro todas estas pessoas. E por fim, a você que busca nesta obra construir alguma idéia, também agradeço, pois, quando se dispõe a consultá-la, reconhece o tamanho do meu esforço;

A todos o meu muito obrigada..

LISTA DE TABELAS

	Página
01. Constituintes da dieta “Labina”	11
02. Composição da “Dieta Básica Regional” (DBR)	14
03. Evolução ponderal das proles de ratas lactantes, tratadas com tiroxina ou com solução salina.	23
04. Evolução do eixo látero-lateral do crânio (ELLC) das proles de ratas lactantes, tratadas com tiroxina ou com solução salina, ou sem qualquer tipo de tratamento.	25
05. Evolução do eixo antero-posterior do crânio (EAPC) de ratos provenientes de mães lactantes tratadas com tiroxina ou com solução salina, ou sem qualquer tipo de tratamento.	26
06. Evolução do eixo longitudinal do corpo (ELCO) de ratos provenientes de mães, tratadas com tiroxina ou com solução salina, ou sem qualquer tipo de tratamento.	28
07. Velocidades de propagação da depressão alastrante (mm/min), em ratos provenientes de mães tratadas com tiroxina ou com solução salina, ou sem qualquer tipo de tratamento.	32
08. Pesos corporais e encefálicos de proles de ratas lactantes, injetadas com tiroxina ou com solução salina, ou sem qualquer tipo de tratamento.	34
09. Concentrações séricas de T_3 e T_4 totais das proles de ratas lactantes, injetadas com tiroxina ou com solução salina, ou sem qualquer tipo de tratamento.	36

LISTA DE FIGURAS

		Página
01.	Esquema demonstrativo dos grupos estudados nesse trabalho	13
02.	Procedimentos para avaliação dos parâmetros de crescimento somático.....	17
03.	Curvas Padrão representativas da determinação dos níveis séricos de T ₃ (A) e T ₄ (B) totais.	21
04.	Registro eletrofisiológico de ratos, provenientes de mães tratadas com T ₄ ou com solução salina.	29
05.	Registro eletrofisiológico de ratos, provenientes de mães tratadas com T ₄ ou com solução salina, ou sem ter recebido qualquer tipo de tratamento.	30
06.	Velocidades de propagação da depressão alastrante cortical (mm/min), de ratos provenientes de mães tratadas com T ₄ ou com solução salina, ou sem ter recebido qualquer tipo de tratamento.	33
07.	Peso dos encéfalos úmidos e secos de ratos, provenientes de mães tratadas com T ₄ ou com solução salina, durante a gestação ou lactação.....	35
08.	Fotomicrografias de preparações histológicas de tireóides de ratos jovens provenientes de mães bem nutridas, sem qualquer tipo de tratamento.....	38
09.	Fotomicrografias de preparações histológicas de tireóides de ratos provenientes de mães bem nutridas, tratadas com T ₄ ou com solução salina, durante a gestação ou 1ª semana da lactação.	39
10.	Fotomicrografias de preparações histológicas de tireóides de ratos, recém-desmamados, provenientes de mães bem nutridas ou desnutridas, tratadas com T ₄ ou com solução salina, durante a 3ª semana do aleitamento.	40

LISTA DE ABREVIATURAS

^{131}I	radioisótopo do iodo
5' - DI	5' - desidase tipo I
5' - DII	5' - desidase tipo II
5' - DIII	5' - desidase tipo III
DA	depressão alastrante da atividade elétrica cortical
DBR	dieta básica regional
DNA	ácido desoxirribonucléico
EAPC	eixo antero-posterior do crânio
ECoG	eletrocorticograma
ELCO	eixo longitudinal do corpo
ELLC	eixo látero-lateral do crânio
H.E	hematoxilina-eosina
H_2O_2	peróxido de hidrogênio
i.p.	intra-peritonal
KCl	cloreto de potássio
LIKA	Laboratório de Immunopalogia Keizo Asami
MB	dieta de manutenção do biotério
PTU	Propiltiouracil
RIE	radioimunoensaio
RNA	ácido ribonucléico
rpm	rotações por minuto
rT_3	3,3', 5 – triiodotironina (T_3 reverso)
SNC	sistema nervoso central
T_3	3,5,3' - triiodotironina
T_4	3,5,3',5' – tetraiodotironina (tiroxina)

TBG	globulina ligadora de tironina
Tg	Tireoglobulina
TPO	peroxidase tiroideana
TRH	hormônio liberador de tireotrofina
TSH	tireotrofina
TTR	transtirretina
VLV	variação lenta de voltagem

SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
SUMÁRIO	xi
RESUMO	xiii
1.0. INTRODUÇÃO	1
1.1. Biossíntese e metabolismo dos hormônios tiroideanos	2
1.2. Hormônios tiroideanos e desenvolvimento cerebral	3
1.3. Hormônios tiroideanos e desenvolvimento fetal	4
1.4. Nutrição e depressão alastrante	6
2.0. OBJETIVOS	9
2.1. Objetivo geral	9
2.2. Objetivos específicos	9
3.0. METODOLOGIA	10
3.1. Animais	10
3.2. Verificação da prenhez	12
3.3. Dieta básica regional (DBR)	12
3.4. Restrição nutricional	12
3.5. Indução do hipertireoidismo	15
3.6. Indicadores de crescimento somático	15
3.6.1. Peso e dimensões corporais	15
3.6.1.1. Eixo látero-lateral do crânio (ELLC)	15
3.6.1.2. Eixo antero-posterior do crânio (EAPC)	16
3.6.1.3. Eixo longitudinal do corpo (ELCO)	16
3.7. Procedimento cirúrgico	16
3.8. Estimulação cortical e registro eletrofisiológico	18
3.9. Peso encefálico	19
3.10. Análise histológica da tireóide	19
3.11. Dosagens hormonais	20
3.12. Análise estatística	20
4.0. RESULTADOS	22
4.1. Indicadores de crescimento somático	22
4.1.1. Peso corporal	22
4.1.2. Eixo látero-lateral do crânio (ELLC)	24
4.1.3. Eixo antero-posterior do crânio (EAPC)	24
4.1.4. Eixo longitudinal do corpo (ELCO)	27
4.2. Velocidade de propagação da DA	27
4.3. Peso encefálico	31
4.4. Concentração sérica de T ₃ e T ₄ totais	31

4.5. Análise histológica da tireóide	37
5.0. DISCUSSÃO	41
6.0. CONCLUSÕES	50
7.0. PERSPECTIVAS	51
8.0. ABSTRACT	52
9.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

RESUMO

Sabe-se que alterações precoces da função tiroideana interferem com o desenvolvimento e funções cerebrais. Neste trabalho investigou-se os efeitos do tratamento precoce com tiroxina (T_4) sobre a propagação da depressão alastrante (**DA**) no córtex cerebral de ratos recém-desmamados. Ratas Wistar, alimentadas com a dieta de manutenção do biotério (MB, com 23% de proteínas) receberam 20 μ g/kg de T_4 em dose única diária, via intraperitoneal (i.p), nos 3 seguintes períodos: 1) gestação (do 14^o dia ao dia do parto; GRUPO **MBH-G**); 2) 1^a semana do aleitamento (GRUPO **MBH-AL₁**) e 3) 3^a semana do aleitamento (GRUPO **MBH-AL₃**). Esses grupos foram comparados a 3 grupos controles, tratados da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**). Adicionalmente um grupo, desnutrido durante o aleitamento, foi tratado com tiroxina na última semana da lactação (**DBRH-AL₃**), para verificar se a desnutrição alteraria o impacto do tratamento hormonal nesse período. Um grupo (**INGÊNUO**), sem qualquer tipo de tratamento, foi também estudado para avaliar a influência do estresse da aplicação das soluções. Os pesos e algumas dimensões corporais (eixo látero-lateral e antero posterior do crânio e eixo longitudinal do corpo) foram obtidos no 2^o, 5^o, 10^o, 15^o, 20^o e 25^o dias do aleitamento. Após o desmame (25 dias de idade), os filhotes foram submetidos ao registro da DA, entre 25 e 35 dias de vida. A DA foi deflagrada por aplicação de KCl e sua propagação acompanhada, em 2 pontos do córtex parietal, através do eletrocorticograma (ECoG) e da variação lenta de voltagem (VLV) que acompanha o fenômeno. Ao final do registro foram determinados os pesos dos encéfalos úmidos e secos, análise histológica da tireóide e níveis sanguíneos de T_3 e T_4 . Os animais hipertiroideanos apresentaram diminuição no peso corporal e cerebral. Os níveis séricos de T_3 mostraram-se diminuídos no grupo tratado na gestação e aumentados no grupo tratado na lactação. As alterações nos níveis séricos de T_3 foram observadas também nos desnutridos. Alterações contrárias foram observadas nos níveis séricos de T_4 . O grupo desnutrido (**DBRH-AL₃**) apresentou pesos cerebrais absolutos (úmido e seco) menores e pesos relativos maiores, comparados aos do grupo bem nutrido (**MBH-AL₃**). A associação entre desnutrição e hipertiroidismo resultou em velocidades médias da DA mais altas, mas a diferença para o grupo bem nutrido e tratado com T_4 (**MBH-AL₃**) não foi significativa. O prejuízo no crescimento, associado ao tratamento com T_4 durante a gestação ou 3^a semana da lactação, ocorreu de modo não uniforme, sendo verificados graus de comprometimentos variados entre os parâmetros de crescimento do crânio e do corpo. Os resultados indicam que o tratamento com T_4 no início da vida pode alterar os parâmetros ponderais, hormonais e eletrofisiológicos cerebrais. Entretanto, a magnitude de tais alterações parece depender do período em que foi realizado o tratamento, bem como do estado nutricional dos indivíduos. Esses dados: 1) evidenciam que o hipertiroidismo torna o córtex mais susceptível ao fenômeno da DA, a julgar pelas suas velocidades de propagação aumentadas; 2) indicam que as duas condições (desnutrição e hipertiroidismo), quando associadas, não anulam seus efeitos sobre a DA, mas também não os potenciam, 3) alertam para a relevância do estudo do hipertiroidismo em crianças, visando o tratamento precoce, necessário para se evitar danos ao sistema nervoso.

Keywords: nutricao, hipertiteoidismo, depressao alastrante.

1.0. - INTRODUÇÃO

Os efeitos da desnutrição sobre a função tiroideana têm sido bem documentados em seres humanos (Lo Presti, 1991) e em animais experimentais adultos (Harris *et al.*, 1978; Moura *et al.*, 1987; Ramos *et al.*, 1997; Ribeiro, 1997), sendo, em geral, reversíveis quando da normalização da dieta. No entanto, sabe-se que a gestação e o período neonatal são críticos para o desenvolvimento do organismo e os hormônios tiroideanos exercem um papel fundamental na maturação e desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC), bem como no crescimento iniciado no período gestacional (De Groot *et al.*, 1996). A ausência do hormônio durante este período produz múltiplas alterações morfológicas, bioquímicas e comportamentais e, em seres humanos, leva também a um retardo mental (Dussault e Ruel, 1987; Aniello *et al.*, 1991). A grande vantagem de se estudar os efeitos dos hormônios tiroideanos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso no rato é que este animal, ao nascer, apresenta um sistema nervoso ainda imaturo comparado com o recém-nato a termo da espécie humana. Assim, mantidas as diferenças próprias das espécies, é possível fazer-se uma correlação entre os eventos que ocorrem no último trimestre da gravidez e aqueles que se verificam em ratos com 2 a 3 semanas de vida (De Groot *et al.*, 1996).

A diferenciação e maturação do cérebro seguem uma história ontogenética característica de cada elemento celular neuronal. O desenvolvimento das células neurais inclui eventos específicos, tais como, crescimento neuronal, sinaptogênese, desenvolvimento da atividade elétrica, especificação da secreção de neurotransmissores e mielinogênese (Takeuchi *et al.*, 1998).

A série de eventos sequenciais apresentada pelo sistema nervoso durante o desenvolvimento pré e pós-natal determina a composição neuroquímica e a estrutura morfofuncional definitivas, presentes no adulto (Morgane *et al.*, 1978; 1993). Entretanto a estrutura do sistema nervoso não é homogênea. Assim, a proliferação celular varia em intensidade, de acordo com a região, o tipo celular e a etapa do desenvolvimento (Winick, 1972; Morgane *et al.*, 1978; 1993).

Em animais desnutridos, particularmente durante o aleitamento, é freqüente a ocorrência de mudanças estruturais, tais como: modificação da espessura do córtex cerebral, da arborização dendrítica e do número de seus segmentos, do calibre

dendrítico, das espículas dendríticas, da proliferação glial, do diâmetro axonal e da mielinização (Morgane *et al.*, 1978; 1993). Há redução do peso do cérebro e do cerebelo, porém comparavelmente menor do que a redução ocorrida em outros órgãos (Morgane *et al.*, 1978; 1993). A reversão das alterações do tamanho e composição dos cérebros de animais desnutridos depende da intensidade da desnutrição (Levitski *et al.*, 1972; Morgane *et al.*, 1978; 1993).

1.1. - BIOSÍNTESE E METABOLISMO DOS HORMÔNIOS TIROIDEANOS

A glândula tireóide consiste de folículos de vários tamanhos, cada folículo é formado por uma única camada de células epiteliais foliculares circundando o colóide. As células foliculares da tireóide captam iodeto, sintetizam a proteína chamada tireoglobulina (Tg) e os hormônios tiroideanos tiroxina (T_4) e triiodotironina (T_3) (De Groot, 1996).

Esses hormônios são sintetizados na glândula tireóide sob estímulo da tireotrofina hipofisária (TSH) (De Groot *et al.*, 1996). O T_4 é produzido somente pela glândula tireóide, enquanto o T_3 é produzido pela tireóide e pela desiodação do T_4 em tecidos extratiroideanos (Utiger, 1995).

Os hormônios tiroideanos necessitam, para sua síntese, da entrada de iodo na glândula, da presença da enzima peroxidase tireoideana (TPO), de cofatores para produção de peróxidos de hidrogênio e da proteína aceptora do iodo, a tireoglobulina (De Groot, 1996). O transporte de iodo para a tireóide se dá por um processo ativo, dependente de energia (Carrasco, 1993). Nos primeiros 10 a 20 minutos após o transporte, a maior parte do iodo se encontra sob a forma livre. A partir daí é oxidado pela TPO e ligado a uma molécula de tirosina, que faz parte da tireoglobulina, que é secretada para a região do colóide do folículo tiroideano, sendo esta última etapa denominada de organificação. No estado de equilíbrio, apenas 1% do iodeto encontra-se sob a forma livre (De Groot *et al.*, 1996).

Os hormônios tiroideanos são metabolizados periféricamente, sendo a desiodação o processo mais importante. Esta reação ocorre principalmente no fígado, mas outros tecidos como rins, tireóide, hipófise, músculo e placenta também desiodam os hormônios tiroideanos. Existem dois tipos de reações de desiodação: a desiodação do anel externo, a 5'-desiodação que transforma T_4 em T_3 , sendo considerada uma via de ativação do hormônio, e a desiodação do anel interno, a 5

desiodação que gera rT_3 e por isso dita inativadora (Utiger, 1995). Existem 3 isoenzimas diferentes que catalizam as reações de desiodação, a iodotironina desiodase tipo I e II (5'DI e 5'DII) que realizam a 5' desiodação e a tipo III (5 DIII) que realiza a 5 desiodação juntamente com a tipo I. Estas isoenzimas são selenocisteínas que diferem entre si por suas características cinéticas, substratos preferenciais, sensibilidade à inibição pelo agente anti-tiroideano, propiltiouracil (PTU) e localização tecidual (De Groot *et al.*, 1996). Os hormônios tiroideanos agem nos tecidos, através de suas interações com receptores específicos localizados no núcleo de suas células alvo. Através deste mecanismo os hormônios tiroideanos têm múltiplas funções no organismo, destacando-se seu efeito sobre o crescimento corporal e desenvolvimento do sistema nervoso central (Utiger, 1995).

Quando as concentrações séricas de hormônios tiroideanos diminuem na circulação, por um mecanismo de retroalimentação negativa ("feedback" negativo) ocorre um aumento na secreção hipofisária de TSH. Este hormônio liga-se a receptores na membrana da célula folicular tiroideana. Através deste mecanismo estimula o transporte de iodo, a atividade da TPO, a síntese de tireoglobulina, a geração de H_2O_2 pela glândula, a captação de glicose, lipídios e aminoácidos, o metabolismo energético, a síntese protéica, os processos de replicação e transcrição do DNA, as etapas pós-transcricionais e secreção hormonal (Rapoport e Spaulding, 1996).

No soro humano, os hormônios tiroideanos, são transportados na circulação ligados principalmente a três proteínas, a globulina ligadora de tironina (TBG), a transtirretina (TTR) e a albumina (De Groot *et al.*, 1996). A TBG transporta cerca de 70% do T_4 e T_3 circulantes, enquanto a TTR transporta apenas 10 a 15% e a albumina 15 a 20%. (Savu *et al.*, 1991).

1.2. - HORMÔNIOS TIROIDEANOS E DESENVOLVIMENTO CEREBRAL

Os hormônios tiroideanos exercem importantes funções no desenvolvimento do cérebro. A falta ou deficiência desses hormônios ou seus receptores leva a defeitos severos na morfologia e função desse órgão (Schwegler, 1995). A diminuição moderada dos níveis de T_3 , sem alterações nos níveis de T_4 , pode ser suficiente para modificar a excitabilidade neuronal (Sawitzke *et al.*, 1988). O hipotireoidismo produz uma deficiência na mielinização, um enfraquecimento da proliferação e migração de

células, uma hiperplasia da arborização de dendritos e axônios e um retardamento da formação de sinapses em diferentes áreas cerebrais. Estas alterações neuronais são acompanhadas de déficit comportamental (Schwegler, 1995).

O efeito do hipertireoidismo neonatal no processo de mielinização tem sido estudado em ratos jovens (Balázs, 1971; Nicholson e Altman, 1972; Pelton *et al.*, 1973; Timiras, 1986; Adamo *et al.*, 1990; para uma revisão, vide Pasquine e Adamo, 1994). Quando a condição de hipertireoidismo é mantida por longo tempo, os animais passam a apresentar deficiência de mielina, envelhecimento precoce e morrem mais cedo que os animais normais. (Pasquini *et al.*, 1991; Marta *et al.*, 1998). A manutenção do hipertireoidismo neonatal leva ao hipermetabolismo e estresse oxidativo no cérebro (Adamo *et al.*, 1989) e os níveis elevados de oxigênio e radicais peróxidos contribuem para o envelhecimento e para a diminuição da expectativa de vida (Marta *et al.*, 1998).

A secreção do TSH é diminuída durante a suplementação com T_4 . Adicionalmente, a conversão do T_4 intratiroideo a T_3 é influenciada pela diminuição do TSH, diminuição das desidases tiroideanas tipo I e tipo II e aumento da concentração da desidase tipo III, aumentando assim a concentração de rT_3 . Então, o aumento do T_4 e a diminuição da concentração de T_3 explica o aumento da razão T_4/T_3 . Acredita-se que o T_3 é responsável pelas alterações metabólicas e funcionais que ocorrem na transição da vida fetal para a extra-uterina (Van Wassenae *et al.*, 1998).

1.3. - HORMÔNIOS TIROIDEANOS E DESENVOLVIMENTO FETAL

A tireóide fetal funciona, ao término gestacional com autonomia em muitas espécies de mamíferos, incluindo o homem e o rato, sem, contudo, excluir a participação de hormônios tiroideanos maternos na economia fetal (Obregon *et al.*, 1984; Ruiz de Onã *et al.*, 1991). Segundo Nataf e Stez (1988), o início da função tiroideana fetal, em ratos, se dá em torno de 17 a 18 dias depois da concepção.

Nos filhotes de ratas normais, é conhecido que o nível de T_4 no plasma aumenta gradualmente do 2º a aproximadamente o 16º dia de vida pós-natal. No rato, a idade crítica para os hormônios tiroideanos influenciarem o desenvolvimento do cérebro está restrita às duas primeiras semanas de vida pós-natal (Takeuchi *et al.*, 1998).

Os filhotes de ratas submetidas à desnutrição protéica durante a lactação apresentam hipotiroidismo, apesar da possível adaptação do organismo materno em produzir mais T_3 na tentativa de manter o processo de lactação e transferir mais T_3 para o lactente. É possível que a transferência de hormônios tiroideanos maternos, através do leite, seja uma importante fonte destes hormônios para o lactente, principalmente quando desnutrido (Koldovsky, 1980).

A presença de T_3 e T_4 no leite foi observada em ratas (Strbak *et al.*, 1974; Oberkotter e Tenore, 1983) e em seres humanos (Sack *et al.* 1977; Varman *et al.*, 1978; Jansson *et al.*, 1983; Oberkotter e Tenore, 1983). A presença desses hormônios pode ter um significado fisiológico importante que não foi ainda devidamente comprovado. Alguns autores (Hays, 1968; Bode *et al.*, 1978; Tenore *et al.*, 1980) sugerem que esses hormônios sejam absorvidos pelo trato gastrointestinal do lactente e possam prevenir o hipotiroidismo neonatal.

O desenvolvimento do sistema hipotálamo-hipófise-tireóide fetal é livre da influência materna, segundo Fisher e Klein (1981). Isto parece ser devido ao fato de que a placenta é impermeável a iodotironina, T_4 , T_3 , rT_3 e TSH. Wilson e Foster, (1988), afirmaram que o TSH presente no feto tem sua origem necessariamente fetal, uma vez que a placenta é impermeável ao TSH materno.

A partir do 17º dia de gestação e/ou após o nascimento, além da redução do peso corporal, fetos ou recém-natos, de ratas submetidas à dieta hipoprotéica durante a gestação e lactação, apresentam redução no peso tiroideano (Shrader *et al.*, 1977a) e hipofisário (Stephan *et al.*, 1971), apesar da relação peso hipofisário/peso corporal estar aumentada (Friedman e Zeman, 1979).

Pelos dados descritos na literatura (Ramos *et al.*, 1997), ainda há dúvidas de como o *status* nutricional influencia o desempenho lactacional. A importância deste fato decorre das implicações no crescimento e no *status* nutricional do recém-nato. Há um consenso de que o período gestacional é crítico para o desenvolvimento cerebral e que a desnutrição pode trazer conseqüências graves para o indivíduo se for iniciada durante aquela fase. Sabemos que o período neonatal também é importante, pois nele a maturação e o desenvolvimento do sistema nervoso se completam. No entanto observamos poucos relatos a respeito dos efeitos da desnutrição apenas no período lactacional sobre a função tiroideana.

A desnutrição leva a uma redução no peso do cerebelo, do DNA cerebelar da proliferação celular e da atividade da timidina quinase (Weichsel e Dawson, 1976).

No kwashiorkor ocorrem mudanças no metabolismo do T_4 tanto ao nível central como periférico. O efeito central é documentado como uma diminuição basal no nível sérico de TSH, conseqüente a um retardo na resposta do TSH à estimulação pelo TRH. Este efeito é atribuído a distúrbios no eixo hipotálamo-hipófise-tireóide. Como conseqüência, a secreção de T_3 e T_4 na circulação periférica está reduzida (Makawiti *et al.*, 1994). A secreção de TSH também é inibida pelo estresse, e em animais experimentais é aumentada pelo frio e diminuída pelo calor (Marta *et al.*, 1998).

1.4. - NUTRIÇÃO E DEPRESSÃO ALASTRANTE

Dietas inadequadas consumidas habitualmente por certas populações humanas podem levar à desnutrição. Através de inquéritos de consumo alimentar realizados na Zona da Mata de Pernambuco pelo setor de Nutrição Humana do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, foram identificados aqueles alimentos mais freqüentemente consumidos na alimentação diária da população estudada (Batista Filho *et al.*, 1968; Batista Filho *et al.*, 1971; Coelho *et al.*, 1972; Lucena e Martins, 1972; Coelho e Bazante, 1972; Melo *et al.*, 1973). Utilizando-se estes alimentos, nas proporções em que são consumidas pela população, confeccionou-se uma dieta experimental denominada **Dieta Básica Regional (DBR)**, que é multideficiente (proteínas, lipídios, vitaminas e minerais), contendo em torno de 8% de proteína, dos quais a maior proporção é de origem vegetal, ou seja, de baixo valor biológico (Coutinho, 1976; Teodósio *et al.*, 1990).

Em animais de laboratório, a DBR provoca alterações clínicas e bioquímicas, associadas à redução do desenvolvimento somático. Fetos e lactentes de ratas desnutridas pela DBR apresentaram alterações de desenvolvimento do fígado, do diafragma e do encéfalo, detectáveis através da determinação do teor de DNA, RNA e proteínas (Teodósio *et al.*, 1981; 1983; 1990). Em ratos adultos submetidos cronicamente à DBR, ocorre diminuição da velocidade de condução do impulso no nervo ciático (Costa *et al.*, 1983; Silva *et al.*, 1987) e aumento na susceptibilidade à convulsão induzida por drogas (Cabral-Filho *et al.*, 1986).

A desnutrição durante o período pré e pós-natal acarreta um retardo na maturação reflexa e somática (Smart e Dobbinng, 1971; Pereira-da-Silva, 1996). Esse retardo é mais severo em animais que sofreram desnutrição no período de aleitamento (Smart e Dobbinng, 1971). Ocorre também um retardo da maturação do

neocórtex aferido pela extinção da imobilidade reflexa (hipnose animal) (Costa *et al.*, 1983).

As alterações da função cortical provocadas pela desnutrição vêm sendo estudadas, do ponto de vista eletrofisiológico, em nosso laboratório, utilizando-se como modelo experimental, o fenômeno da **Depressão Alastrante da Atividade Elétrica Cortical (DA)**.

A DA foi descrita pela primeira vez por Aristides Leão (1944), quando realizava estudos sobre “epilepsia experimental”, na superfície do córtex cerebral de coelhos anestesiados. Ele observou que estímulos elétricos, químicos ou mecânicos locais provocaram uma resposta do córtex cerebral caracterizada por acentuada depressão da atividade elétrica espontânea do ponto cortical estimulado, durante um a dois minutos. Essa depressão se propagava de forma concêntrica por todo o córtex. À medida que a DA se propagava para regiões cada vez mais afastadas, a atividade elétrica começava a se recuperar no ponto estimulado, também de forma concêntrica e ao final de cerca de 10 a 15 minutos todo o tecido cortical achava-se recuperado. Acompanhando a depressão da atividade elétrica espontânea, foi observada uma variação lenta de voltagem (VLV) na região cortical onde estava ocorrendo a DA. O córtex tornava-se negativo em relação a um ponto de voltagem fixa (geralmente no osso nasal). Esta variação negativa, cuja amplitude situava-se entre 5 e 20 mV, era geralmente seguida e ocasionalmente precedida de uma fase positiva de menor amplitude (Leão, 1947; 1951).

Nosso laboratório, bem como outros de diversos países (da América do Norte, da Europa e da Ásia), têm demonstrado que algumas condições de interesse clínico podem modificar a susceptibilidade cortical ao fenômeno da DA. Dentre elas tem-se: a diminuição da concentração extracelular de cloreto; a privação de sono paradoxal; o consumo de álcool e a deficiência nutricional, que aumentam a velocidade de propagação da DA (de Luca *et al.*, 1977; Guedes e Do Carmo, 1980; Guedes, 1984; Guedes e Frade, 1993). Já o envelhecimento, o tratamento dietético com lítio, a administração aguda intraperitoneal de triptofano ou de D-fenfluramina, a administração aguda intraperitoneal ou tópica de naloxone, o uso de anestésico e a estimulação ambiental diminuem a velocidade de propagação (Guedes *et al.*, 1988, 1989; Guedes e Barreto, 1992; Guedes e Pereira-da-Silva, 1993; Santos-Monteiro *et al.*, 2000). Ratos desnutridos pelo uso da DBR apresentam maior susceptibilidade à

DA, a julgar pelas velocidades de propagação significativamente maiores que de animais controles (Guedes, 1984).

Uma condição que tem particular interesse para este estudo refere-se ao tratamento precoce com PTU (Propiltiouracil) que levou a deficiência da função tiroideana (Pereira-da-Silva, 1996). Em ratos tornados hipotiroideanos pelo tratamento precoce pelo PTU, observou-se retardo na maturação reflexa e somática, reduções nos pesos corporais e encefálicos, alterações histológicas da tireóide indicativos de hipofunção dessa glândula e alterações comportamentais. Nessas condições, o córtex cerebral mostrou-se menos susceptível à DA, inclusive em animais desnutridos (Guedes e Pereira-da-Silva, 1993; Pereira-da-Silva, 1996). Por outro lado, os efeitos do hipertiroidismo, associado ou não à desnutrição, sobre a DA, não foram ainda investigados de forma sistemática. A partir dessas indagações decidiu-se estudar neste trabalho os efeitos do hipertiroidismo sobre o fenômeno da depressão alastrante da atividade elétrica cortical, em ratos bem nutridos e desnutridos, com os objetivos descritos a seguir.

2.0. – OBJETIVOS

2.1. - OBJETIVO GERAL

Investigar no rato os efeitos do tratamento precoce com Tiroxina (T_4), associado ou não à desnutrição pela DBR, sobre a **Depressão Alastrante da Atividade Elétrica Cortical (DA)**.

2.2. - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Averiguar os efeitos da desnutrição e do hipertiroidismo precoce sobre a evolução do peso corporal ao longo do desenvolvimento do animal.
- Investigar, no rato recém-desmamado, se o tratamento com o hormônio tiroideano no início da vida afeta ou não a DA e, nesse caso, verificar qual o período mais crítico para a ocorrência desse efeito.
- Analisar se a desnutrição altera o efeito do tratamento hormonal sobre a DA.
- Verificar se o tratamento precoce com tiroxina determina alterações nos níveis séricos de T_3 e de T_4 , no rato recém-desmamado.

3.0. – METODOLOGIA

3.1. – ANIMAIS

Ratas Wistar, provenientes da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, foram mantidas em biotério com temperatura ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e ciclo claro-escuro (luz presente das 6:00 às 18:00h) controlados. Aos 3 meses de idade estes animais foram acasalados na proporção de 2 fêmeas para 1 macho. Receberam dieta comercial de manutenção do biotério (**MB**), contendo 23% de proteínas, denominada comercialmente “Labina” (Purina do Brasil Ltda), (**Tabela 1**) até o nascimento dos filhotes. Este foi definido como dia 1 (D1), e a ninhada ajustada em 6 filhotes de ambos os sexos. Este número de filhotes foi escolhido, pois, segundo Fishbeck e Rasmussen (1987), parece ser o número de animais que confere o maior potencial lactotrófico.

Os filhotes com suas respectivas mães foram designados para um dos seguintes grupos, tratados com o hormônio (**H**) tiroxina (ver descrição adiante):

- 1-Grupo **MBH-G** (n=19); tratado na gestação;
- 2-Grupo **MBH-AL₁** (n=19); tratado na 1ª semana do aleitamento;
- 3-Grupo **MBH-AL₃** (n=13); tratado na 3ª semana do aleitamento.

Os três grupos acima, com livre acesso à água e à **MB** foram comparados a três respectivos grupos controles, mantidos nas mesmas condições e injetados, nos respectivos períodos, com solução salina:

- 4-Grupo **MBS-G** (n=17) controle do grupo MBH-G.
- 5-Grupo **MBS-AL₁** (n=20) controle do grupo MBH-AL₁.
- 6-Grupo **MBS-AL₃** (n=14) controle do grupo MBH-AL₃.

Uma vez determinado o período em que a **DBR** produziu efeito mais evidente sobre a **DA**, 3ª semana do aleitamento, (Rocha de Melo e Guedes, 1997) foi então estudado um sétimo grupo, tratado com T₄ no mesmo período porém submetido à desnutrição.

- 7-Grupo **DBRH-AL₃** (n=17), com livre acesso à água e a **DBR**.

8-Grupo **INGÊNUO** (n=17), com livre acesso à água e à **MB**. Nesse grupo não foi realizado qualquer tipo de tratamento, nem farmacológico, nem mesmo injeção de solução salina, no propósito de avaliar a influência do estresse, pela aplicação das soluções, sobre a velocidade de propagação da **DA**.

TABELA 1 - Composição da dieta “Labina” (Purina do Brasil)* .

COMPOSIÇÃO BÁSICA: Milho, Farelo de Trigo, Farelo de Soja, Farinha de Carne, Farelo de Arroz Cru, Carbonato de Cálcio, Fosfato Bicálcico, Sal, Pré-Mix.

ENRIQUECIMENTO POR KG DE PRODUTO

Vitamina A	20. 000 UI
Vitamina D3	6. 000
Vitamina E	30 UI
Vitamina K	6 mg
Vitamina B12	10 mcg
Vitamina B	28 mg
Pantotenato de Cálcio	24 mg
Niacina	95 mg
Tiamina	4 mg
Colina	2.000 mg
Piridoxina	6 mg
Biotina	0,1 mg
Ácido Fólico	0,5 mg
Manganês	50 mg
Iodo	2 mg
Ferro	65 mg
Zinco	35 mg
Cobre	26 mg
Antioxidante	100 mg

NÍVEIS DE GARANTIA

Unidade (máx)	13,0%
Proteína (mín)	23,0%
Extrato Etéreo (mín)	2,5%
Matéria fibrosa (máx)	9,0%
Matéria mineral (máx)	8,0%
Cálcio (Ca) (máx)	1,8%
Fósforo (P)	0,8%

* Segundo Purina do Brasil.

Os grupos assim delineados (**Figura 1**) foram avaliados conforme os procedimentos para os estudos descritos adiante.

3.2. - VERIFICAÇÃO DA PREENHEZ

Nos grupos tratados durante a gestação (**H-G** e **S-G**) as ratas foram submetidas a esfregaços vaginais com posterior leitura das lâminas ao microscópio, para confirmação da existência ou não de espermatozóides. Se afirmativo considerava-se a prenhez a partir desta data, caso contrário mantinha-se o acasalamento até posterior confirmação. Assim sendo, as ratas foram separadas dos machos e alojadas individualmente em gaiolas-maternidade. Este procedimento era necessário para se determinar o 14^o dia da gestação, quando deveria se iniciar o tratamento com hormônio (grupo **H-G**) ou com solução salina (**S-G**).

3.3. - DIETA BÁSICA REGIONAL (DBR)

A **DBR** é uma dieta desbalanceada, apresentando baixo teor protéico (8%), sendo grande parte de suas proteínas de origem vegetal. Possui 0,8% de lipídios e 69% de glicídios. É constituída qualitativamente de quatro alimentos: FEIJÃO MULATINHO (*Phaseolus vulgaris*), FARINHA DE MANDIOCA (*Manioc esculenta*), BATATA DOCE (*Ipomoea batatas*), e CHARQUE (carne bovina salgada e prensada). Os alimentos foram cozidos, secados em estufa (60-70°C), moídos (exceto a farinha de mandioca) e misturados na mesma proporção encontrada em inquéritos alimentares (**Tabela 2**).

3.4. - RESTRIÇÃO NUTRICIONAL

A desnutrição foi induzida pelo uso da **DBR** por todo o período de lactação, do 1^o ao 25^o dia de vida pós-natal. Ao final deste, os animais foram desmamados e instituída a dieta comercial de manutenção do biotério (**MB**).

FIGURA 1 – Esquema demonstrativo dos 8 grupos de ratos estudados neste trabalho, submetidos, no início da vida, a duas situações nutricionais: Bem Nutridos, provenientes de mães alimentadas com a Dieta de Manutenção do Biotério (**MB**), com 23% de proteína, da gestação ao desmame (25^o dia) e desnutridos, provenientes de mães alimentadas com a “Dieta Básica Regional” (**DBR**), durante o aleitamento. Os bem nutridos foram submetidos a três diferentes condições experimentais e os desnutridos a apenas uma condição experimental. O grupo **INGÊNUO** não recebeu qualquer tipo de tratamento. As letras à frente da dieta designam o tipo de tratamento que foi imposto: **H** = hormônio tiroideano (T₄), **S** = salina. As letras após o hífen representam o período em que o tratamento foi aplicado: **G** = gestação, **AL** = aleitamento, e os números representam: **1** = primeira semana do aleitamento (1^o ao 7^o dia) e **3** = última semana do aleitamento (19^o ao 25^o dia). Os números entre parênteses indicam a quantidade de animais em cada grupo.

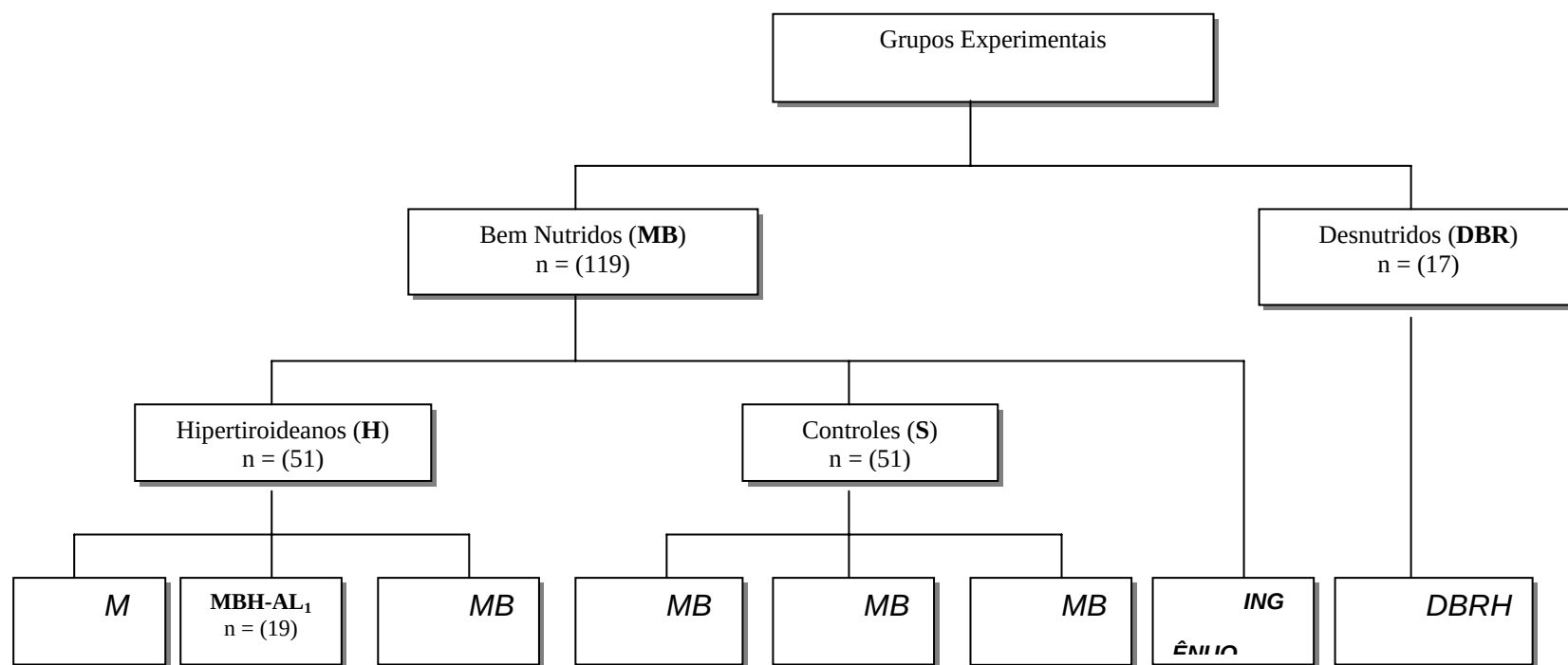


TABELA 2 – Composição Centesimal da “Dieta Básica Regional” (DBR) ^a

Ingredientes	g%	Composição Centesimal					
		Proteínas	Carboi- dratos	Lipídios	Cinzas	Fibras	Kcal%
Feijão							
Mulatinho ^b	18,34	3,99	10,66	0,24	0,57	1,09	60,76
Farinha de							
Mandioca	64,81	0,84	48,59	0,12	0,43	5,64	198,80
Carne de							
Charque ^b	3,74	2,74	-	0,06	0,06	-	11,50
Gordura (da							
charque)	0,35	-	-	0,35	-	-	3,15
Batata Doce ^b							
	12,76	0,30	9,99	0,03	0,20	0,48	41,43
TOTAL	100,00	7,87	69,24	0,80	1,26	7,21	315,64

a = segundo Teodósio *et al.*, 1990.

b = cozido, desidratado e moído.

3.5. - INDUÇÃO DO HIPERTIREOIDISMO

O hipertireoidismo foi induzido nos filhotes bem nutridos, tratando-se as mães com 20µg/kg de peso corporal de T₄ (2ml/kg de peso corporal) em dose única diária via intraperitoneal (i.p) (Silveira *et al*, 1999), nos 3 seguintes períodos: **1)** do 14^o dia de gestação, aproximadamente início da função tiroideana, ao dia do parto, (GRUPO **MBH-G**); **2)** do 1^o ao 7^o dia pós-natal (GRUPO **MBH-AL₁**) e **3)** do 19^o ao 25^o dia pós-natal (GRUPO **MBH-AL₃**), alimentados com a dieta **MB**.

Cada grupo experimental foi comparado a um grupo controle, tratado da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**).

Adicionalmente um grupo, desnutrido durante o aleitamento, foi tratado com tiroxina apenas na última semana da lactação (**DBRH-AL₃**). O estudo deste grupo teve a finalidade de verificar se a desnutrição alteraria o impacto do tratamento hormonal nessa última semana do aleitamento (vide discussão).

3.6. - INDICADORES DE CRESCIMENTO SOMÁTICO

As avaliações dos indicadores abaixo relacionados foram obtidas durante o 2^o, 5^o, 10^o, 15^o, 20^o e 25^o dia do aleitamento, entre 12:00 e 14:00 horas:

3.6.1. - PESO E DIMENSÕES CORPORAIS

Os animais foram pesados em balança eletrônica (Marte, Modelo S-000 com capacidade para 4 kg e sensibilidade até 0,1g), em diversas ocasiões ao longo da vida, para se avaliar o impacto do tratamento com tiroxina e da desnutrição precoce sobre a curva ponderal.

3.6.1.1. – EIXO LÁTERO-LATERAL DO CRÂNIO (ELLC)

Considerou-se este eixo como a linha imaginária perpendicular ao eixo do crânio, passando pelo centro dos pavilhões auriculares. O animal foi contido com uma das mãos do pesquisador, prendendo-se a cabeça deste entre os dedos indicador e polegar. A medida (em cm) do ELLC foi então realizada com auxílio de um paquímetro de aço inoxidável (marca Régulus), (**Figura 2A**).

3.6.1.2. – EIXO ANTERO POSTERIOR DO CRÂNIO (EAPC)

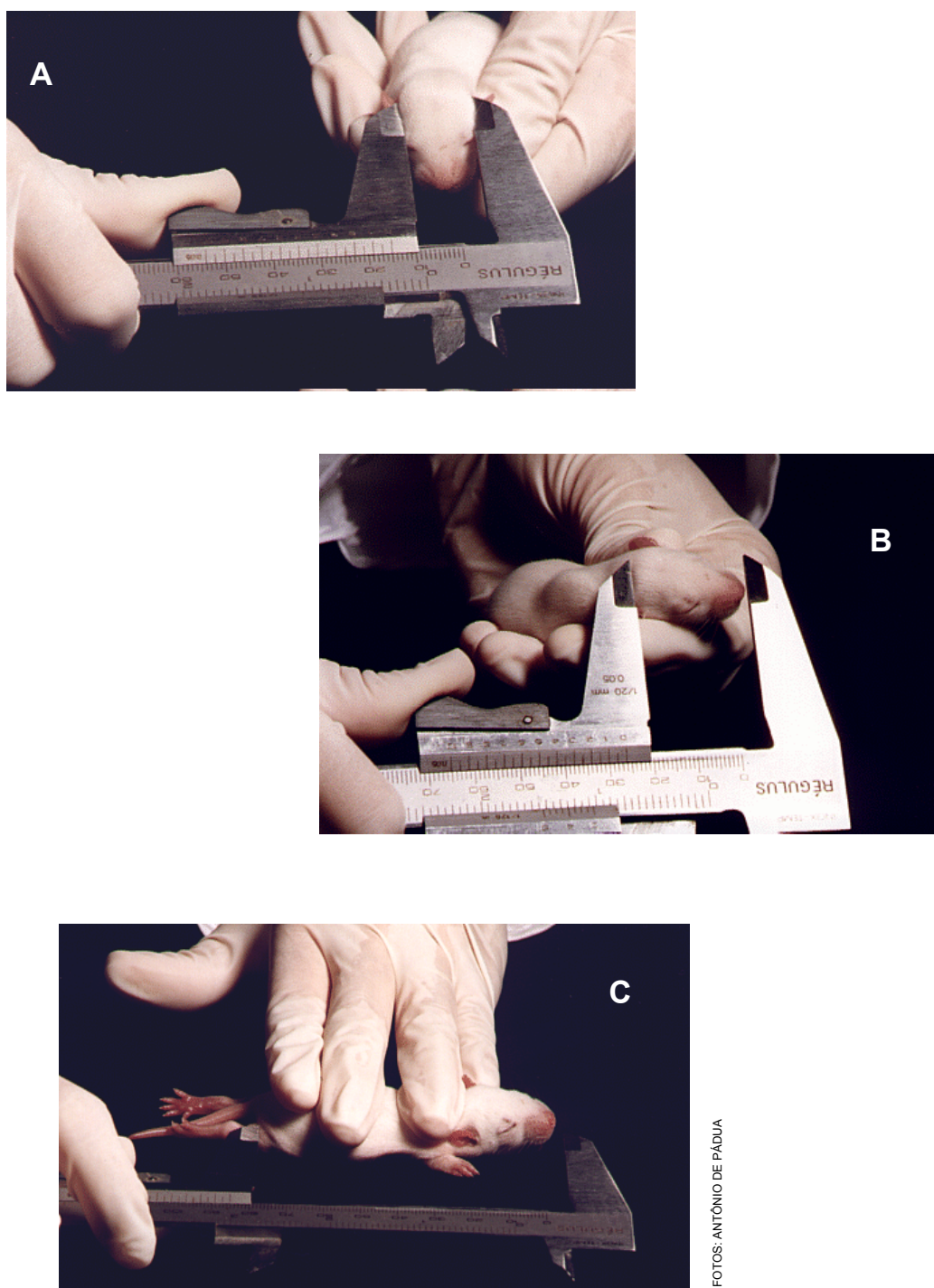
Para esta medida (em cm), foi tomada como referência uma linha média que vai da extremidade do focinho até o ponto de interseção com outra linha perpendicular imaginária. Essa última tangencia as extremidades posteriores dos pavilhões auriculares. O pesquisador continha o animal com uma das mãos, mantendo a cabeça do mesmo entre os dedos indicador e polegar, aferindo a medida com auxílio do paquímetro (**Figura 2B**).

3.6.1.3. – EIXO LONGITUDINAL DO CORPO (ELCO)

Para esta medida, o animal foi contido em decúbito ventral com os dedos anular, médio e indicador do pesquisador, comprimindo respectivamente as regiões dorso-anterior e dorso-posterior do corpo à superfície plana da mesa. Em seguida, marcava-se na mesa, com uma caneta de ponta porosa, pontos coincidentes com o focinho (P_1) e a base da cauda (P_2) do animal. Com ajuda do paquímetro media-se então a distância (em cm) entre P_1 e P_2 (**Figura 2C**).

3.7. - PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Os filhotes foram desmamados aos 25 dias de idade. Entre os dias 25 e 35, os animais foram anestesiados com uma solução contendo uretana a 10,0% e cloralose a 0,4%, na dose de 1,0g/kg e 40mg/kg, respectivamente, por via intraperitoneal. O procedimento cirúrgico foi iniciado com a traqueostomia e canulação da traquéia. Em seguida, o animal foi colocado em decúbito ventral, sobre um aquecedor elétrico. A temperatura retal foi monitorada continuamente e mantida em torno de $37,5 \pm 1^\circ\text{C}$, ajustando-se o aquecimento, quando necessário. A cabeça do animal foi fixada à base de um aparelho estereotáxico (modelo 900, David Kopf). Foi feita uma incisão na pele da cabeça ao nível da linha média, sendo retirado o perióstio, ficando exposta a calota craniana, onde foram feitos 3 orifícios, usualmente ao nível do hemisfério direito. Esses orifícios foram alinhados no sentido antero-posterior e paralelos à linha média do crânio. O primeiro orifício (de 2mm de diâmetro) situado no osso frontal foi utilizado para estimulação. Os outros dois (de 3mm de diâmetro),



FOTOS: ANTÔNIO DE PÁDUA

FIGURA 2 – Procedimentos para avaliação dos parâmetros de crescimento somático, avaliados no 2º, 5º, 10º, 15º, 20º e 25º dias da lactação, com auxílio de um paquímetro de aço inoxidável. **A** – Eixo látero-lateral do crânio (ELLC). **B** – Eixo antero-posterior do crânio (EAPC). **C** – Eixo longitudinal do corpo (ELCO). (Fotos cedidas por Barros, 1999).

situados no osso parietal, foram usados para colocação de dois eletrodos que permitiram o registro eletrofisiológico da **DA**.

3.8. - ESTIMULAÇÃO CORTICAL E REGISTRO ELETROFISIOLÓGICO

A **DA** foi provocada, a intervalos de 20 a 25 minutos, através de estimulação química (solução de KCl a 2%). Uma bolinha de algodão (1 a 2mm de diâmetro) embebida em solução de KCl foi colocada no orifício de estimulação, ficando em contato com a superfície cortical durante um minuto. Após esse tempo, o estímulo foi retirado e a região enxugada com algodão para remover o resíduo de KCl. Com essa estimulação na região frontal, provocou-se usualmente uma única “onda” de **DA** que, ao se propagar, foi registrada pelos 2 eletrodos colocados na região parietal (vide descrição do registro, abaixo). Quando, ocasionalmente, surgia uma onda de **DA**, sem que houvesse estímulo intencional (chamada **DA** “espontânea”), eram dados 20 minutos a partir do aparecimento dessa onda antes de se proceder uma nova estimulação.

Foram registrados, em 2 pontos da superfície do córtex parietal, por um período contínuo de pelo menos 4 horas, a Atividade Elétrica Cortical (Eletrocorticograma; ECoG) e a variação lenta de voltagem (VLV) que acompanha a **DA**. Foram utilizados 3 eletrodos, sendo 2 para o registro e um como referência comum, colocado sobre o osso nasal. Estes eletrodos eram do tipo “prata-cloreto de prata”, obtidos, por eletrólise, através da formação de uma fina camada de cloreto de prata em um delgado fio do mesmo metal. Dois desses fios, após serem “cloretados”, eram imersos em duas pipetas de plástico, (5cm de comprimento, diâmetro inferior de 1mm e superior de 5mm) cheias de solução de Agar-Ringer a 0,5%. Elas eram fixadas entre si por cola de ciano-acrilato, constituindo um par. A distância entre as pontas das pipetas era fixa, para cada par. O par assim formado era fixado em uma haste de madeira que, por sua vez, estava conectada a um sistema de alavanca. Este sistema era acionado pelo avanço e recuo de um parafuso, que permitia o deslocamento vertical dos eletrodos. Dessa forma, o contato com a superfície cortical podia se fazer de modo suave, evitando-se pressão excessiva sobre o córtex.

Os registros foram realizados utilizando-se um polígrafo, da marca “Grass” (modelo 7D, Grass Medical Instruments).

A velocidade de propagação da **DA** foi calculada dividindo-se a distância entre os dois eletrodos de registro (distância fixa para cada experimento) pelo tempo gasto para que uma “onda” da **DA** percorresse essa distância.

3.9. - PESO ENCEFÁLICO

Imediatamente após a punção cardíaca para coleta do sangue, o encéfalo foi removido mediante 2 incisões: uma anterior, no limite entre os hemisférios cerebrais e o bulbo olfatório, excluindo-o; a outra incisão foi realizada posteriormente, tangenciando a borda inferior do cerebelo, incluindo-o. Após ter sido retirado, foi pesado imediatamente, obtendo-se o chamado PESO DO ENCEFALO ÚMIDO. Em seguida, foi colocado em estufa (FANEM) a 100°C e pesado a cada 1 ou 2 dias, até atingir peso constante, considerado o PESO DO ENCEFALO SECO. Os pesos dos encéfalos foram obtidos em balança analítica (Bosh, S-2000) com sensibilidade até 0,1mg.

O peso relativo do encéfalo foi calculado através da razão entre o peso (g) desse órgão úmido e o peso corporal (g), multiplicada por 100, segundo a expressão abaixo:

$$([\text{Peso do encéfalo úmido} / \text{Peso corporal}] \times 100).$$

3.10. - ANÁLISE HISTOLÓGICA DA TIREÓIDE

Após a retirada do encéfalo, as tireóides foram retiradas em bloco com a traquéia, fixadas em solução a 10% de formalina tamponada. Fragmentos transversais incluindo istmo, ambos os lobos tiroideanos e traquéia foram processados rotineiramente e incluídos em parafina. Cortes histológicos de 5µm foram obtidos, corados pela hematoxilina-eosina (H.E), examinados em microscópio Olympus BH-2 e fotografados em sistema Olympus PM-10 AD (Japão). Os procedimentos histológicos foram realizados no Setor de Patologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (**LIKA**).

3.11. - DOSAGENS HORMONAIS

Ao final do experimento, com os animais anestesiados, foi coletado o sangue por punção cardíaca e centrifugado por 15 minutos a 3.000 rpm e o soro individualmente armazenado a -20°C , com exceção do soro dos animais desnutridos. Neste caso formou-se um *pool* do soro de 3 animais, para posterior dosagens hormonais. Os níveis séricos de T_3 e T_4 totais foram determinados por radioimunoensaio (RIE) usando kit comercial (Coat-A-Count[®], DPC, Los Angeles, USA), no **Laboratório de Biofísica Celular**, do Departamento de Biofísica da UFPE.

O RIE é um método competitivo de fase sólida, que se baseia na reação imunológica de ligação antígeno-anticorpo, onde o hormônio-não marcado (amostras e padrões) compete com traçador (^{125}I -hormônio) para um número limitado de sítios do anticorpo fixados covalentemente na parede interna de tubos de polipropileno. Na fase final do método, os antígenos livres foram decantados, permanecendo no tubo apenas os ligados aos anticorpos citados. A contagem do número de pulsos por minuto no tubo de polipropileno, ou seja, a emissão de radiação gama (σ) do ^{125}I , foi realizada em contador de cintilação gama.

Nesta reação de competição, quanto maior a concentração do hormônio frio ou não marcado, menor a ligação do ^{125}I -hormônio ao anticorpo específico com consequente redução na formação do complexo radioativo. Com base nesta proporção inversa, foi calculado o complexo ^{125}I -hormônio-anticorpo e, assim, dosado o hormônio não-marcado através da construção de uma curva padrão, por interpolação em relação à contagem $B/B_0\%$ em função da concentração de T_3 e T_4 totais (abscissas), em gráfico semilogarítmico (**Figuras 3A e 3B**).

3.12. - ANÁLISE ESTATÍSTICA

A ANOVA foi empregada para analisar os dados das velocidades de propagação da DA, dos pesos encefálicos, dos níveis hormonais de T_3 e T_4 , bem como dos indicadores de crescimento somático: peso corporal, EAPC, ELLC e ELCO, quando se queria comparar grupos entre si, tratados com tiroxina em diferentes períodos de crescimento fisiológico. Nas comparações em que ANOVA apontava diferenças significantes foi então aplicado o teste para comparação múltipla de Tukey (Montgomery, 1984).

Em todos os casos, o nível de significância considerado para rejeição da hipótese nula foi de 5%.

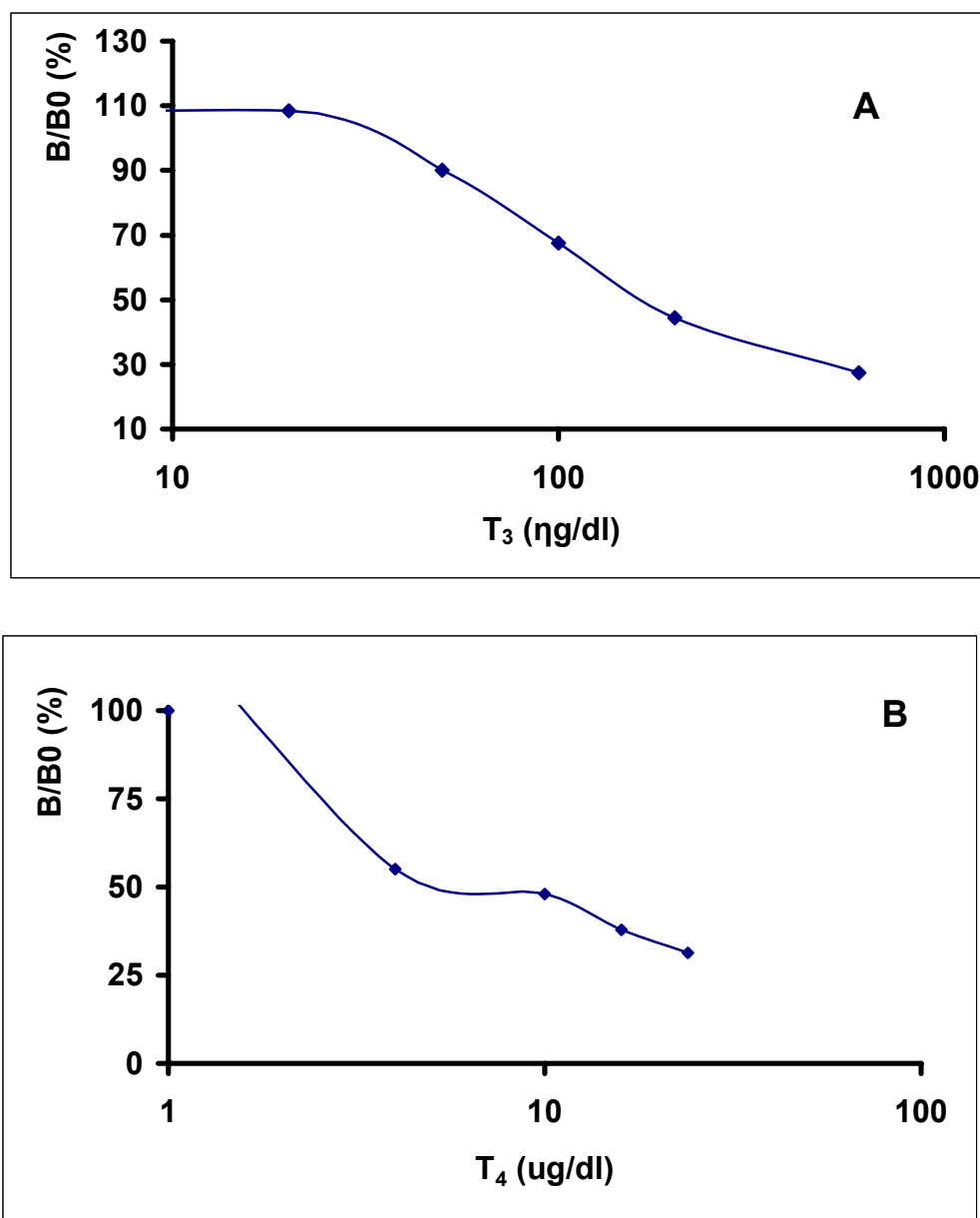


FIGURA 3 – Curvas Padrão representativas da determinação dos níveis séricos de T_3 (A) e T_4 (B) totais.

4.0. – RESULTADOS

4.1. - INDICADORES DE CRESCIMENTO SOMÁTICO

4.1.1. – PESO CORPORAL

O grupo proveniente de mães tratadas com T_4 durante a gestação (**MBH-G**) apresentou pesos corporais significativamente menores no 2º dia de vida comparado ao grupo controle (**MBS-G**). Quando esse tratamento foi imposto na 1ª semana do aleitamento, nenhuma diferença significativa foi observada, mas quando realizado durante a 3ª semana de vida, o peso corporal foi significativamente menor no 10º e 25º dias da lactação (**Tabela 3**).

Os pesos corporais do grupo proveniente de mães desnutridas durante a lactação e tratadas com T_4 na 3ª semana do aleitamento (**DBRH-AL₃**) foram significativamente maiores no 2º dia de vida quando comparado ao grupo bem nutrido e tratado da mesma forma e em igual período com T_4 (**MBH-AL₃**). Do 10º ao 25º dia da lactação, dia do desmame, apresentaram-se significativamente menores (**Tabela 3**).

Quando comparados ao grupo **INGÊNUO**, que não recebeu qualquer tipo de tratamento, o grupo tratado com salina durante a gestação apresentou peso corporal significativamente maior do 2º ao 15º dia de vida. Quando esse tratamento foi realizado na 1ª semana do aleitamento, o grupo assim tratado apresentou maior peso corporal no 10º e 15º dia da lactação. Resultado semelhante foi observado no 5º, 10º, 15º e 25º dia do aleitamento no grupo tratado na 3ª semana da lactação (**MBS-AL₃**) (**Tabela 3**).

Os pesos corporais, obtidos no dia do registro eletrofisiológico, do grupo **MBH-G**, foram significativamente maiores do que os do grupo proveniente de mães tratadas com salina (**MBS-G**). Quando o tratamento com T_4 foi realizado na 1ª semana da lactação (**MBH-AL₁**), os pesos apresentaram-se menores quando comparados aos do grupo controle (**MBS-AL₁**). Resultado semelhante foi observado no grupo desnutrido durante a lactação e tratado com tiroxina na 3ª semana do aleitamento (**DBRH-AL₃**), quando comparado ao grupo bem-nutrido também tratado com T_4 nesse mesmo período (**MBH-AL₃**) (**Tabela 8**).

TABELA 3 – Evolução ponderal de ratos, durante o aleitamento, provenientes de mães tratadas com T_4 (20 μ g/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo **H-G**), 1^a ou 3^a semana do aleitamento (**H-AL₁** e **H-AL₃**), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou a Dieta Básica Regional (**DBR**). O grupo ingênuo, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem injeção de solução salina.

GRUPO	EVOLUÇÃO PONDERAL (g)					
	DIAS DA LACTAÇÃO					
	2º D	5º D	10º D	15º D	20º D	25º D
INGÊNUO (a)	7,08 ± 0,52 (17)	10,56 ± 1,16 (17)	18,04 ± 1,80 (17)	26,54 ± 2,27 (17)	39,12 ± 4,83 (17)	56,84 ± 5,62 (17)
MBS-G (b)	7,85 ^a ± 0,89 (17)	12,42 ^a ± 1,14 (17)	20,95 ^a ± 1,21 (17)	30,29 ^a ± 2,12 (17)	37,61 ± 4,92 (17)	57,89 ± 5,06 (17)
MBH-G (c)	6,81 ^b ± 0,74 (13)	12,59 ± 2,01 (19)	21,94 ± 1,90 (19)	31,11 ± 1,97 (19)	39,65 ± 5,94 (19)	58,21 ± 8,13 (19)
MBS-AL₁ (d)	7,26 ± 1,07 (20)	11,10 ± 1,82 (20)	20,27 ^a ± 2,45 (20)	30,39 ^a ± 3,83 (20)	41,00 ± 5,19 (20)	58,18 ± 7,81 (20)
MBH-AL₁ (e)	7,06 ± 0,53 (19)	10,56 ± 1,28 (19)	19,45 ± 3,24 (19)	29,42 ± 4,60 (19)	40,26 ± 5,12 (19)	58,95 ± 6,56 (19)
MBS-AL₃ (f)	7,75 ± 0,47 (14)	12,75 ^a ± 0,94 (14)	22,34 ^a ± 1,24 (14)	30,14 ^a ± 3,15 (14)	42,69 ± 3,90 (14)	63,24 ^a ± 5,67 (14)
MBH-AL₃ (g)	7,25 ± 0,91 (13)	11,87 ± 2,09 (13)	20,01 ^f ± 1,89 (13)	29,42 ± 2,18 (13)	40,04 ± 3,81 (13)	57,88 ^f ± 6,38 (13)
DBRH-AL₃ (h)	8,28 ^g ± 0,67 (17)	11,76 ± 0,64 (17)	15,18 ^g ± 0,80 (17)	16,54 ^g ± 0,98 (17)	17,75 ^g ± 1,75 (17)	21,45 ^g ± 2,60 (17)

Os valores representam a média ± desvio-padrão. O número de medidas é dado entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra, na coluna da esquerda (ANOVA e teste de Tukey).

4.1.2. - EIXO LÁTERO-LATERAL DO CRÂNIO (ELLC)

O grupo desnutrido durante a lactação, tratado com T₄ na 3ª semana do aleitamento (**DBRH-AL₃**), apresentou, do 2º ao 5º dia de vida, valores médios maiores que os do grupo bem nutrido, tratados da mesma forma e em igual período (**MBH-AL₃**), mas as diferenças não foram significantes. Esse grupo apresentou redução significativa do ELLC do 10º ao 25º dia do aleitamento (**Tabela 4**).

O **ELLC** dos grupos controles, ao serem comparados aos do grupo **INGÊNUO**, apresentou-se significativamente diminuído no 15º dia de vida no grupo **MBS-G**, aumentado no 2º e 20º dia da lactação no grupo **MBS-AL₁** e no 2º, 20º e 25º dia do aleitamento no grupo **MBS-AL₃** (**Tabela 4**).

4.1.3. - EIXO ANTERO-POSTERIOR DO CRÂNIO (EAPC)

Em relação aos seus respectivos controles, os animais do grupo **MBH-G** apresentaram redução significativa do **EAPC** no 2º, 5º e 20º dia de vida; os do grupo **MBH-AL₁** apresentaram redução desse eixo no 2º e do 15º ao 25º dia da lactação, e os animais do grupo **MBH-AL₃** apresentaram o **EAPC** significativamente diminuído no 10º dia de vida. Vale ressaltar que o tratamento hormonal, nos animais desse grupo, era iniciado somente a partir do 19º dia da lactação (**Tabela 5**).

O grupo desnutrido durante a lactação, tratado com T₄ na 3ª semana do aleitamento (**DBRH-AL₃**), apresentou redução significativa do **EAPC** do 1º ao 5º dia da lactação e aumento desse eixo do 20º ao 25º dia de vida, comparado ao grupo bem-nutrido (**MBH-AL₃**), tratado da mesma forma e em igual período (**Tabela 5**). Comparado ao grupo **INGÊNUO**, os animais do grupo **MBS-G** apresentaram aumento no **EAPC** no 10º e 15º dia de idade; nos animais do grupo **MBS-AL₁**, esse eixo apresentou-se aumentado no 15º dia do aleitamento, sem alterações significativas nos demais dias estudados. Nos do grupo **MBS-AL₃**, o **EAPC** do 2º dia da lactação apresentou-se diminuído, sem diferença nos outros dias avaliados (**Tabela 5**).

TABELA 4 – Evolução do eixo látero-lateral do crânio (**ELLC**) de ratos, durante o aleitamento, provenientes de mães tratadas com T₄ (20µg/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo **H-G**), 1^a ou 3^a semana do aleitamento (**H-AL₁**, **H-AL₃**), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou a Dieta Básica Regional (**DBR**). O grupo ingênuo, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem injeção da solução salina.

GRUPO	ELLC (cm)					
	DIAS DA LACTAÇÃO					
	2 ^o D	5 ^o D	10 ^o D	15 ^o D	20 ^o D	25 ^o D
INGÊNUO (a)	1,01 ± 0,04 (17)	1,30 ± 0,10 (17)	1,53 ± 0,07 (17)	1,61 ± 0,05 (13)	1,66 ± 0,05 (17)	1,70 ± 0,05 (17)
MBS-G (b)	1,04 ± 0,04 (17)	1,26 ± 0,07 (17)	1,56 ± 0,05 (17)	1,67 ^a ± 0,05 (17)	1,69 ± 0,05 (17)	1,74 ± 0,05 (17)
MBH-G (c)	1,03 ± 0,04 (13)	1,23 ± 0,05 (13)	1,52 ± 0,06 (13)	1,65 ± 0,11 (19)	1,76 ^b ± 0,11 (19)	1,81 ^b ± 0,07 (19)
MBS-AL₁ (d)	1,05 ^a ± 0,05 (20)	1,24 ± 0,05 (20)	1,49 ± 0,06 (20)	1,61 ± 0,06 (20)	1,72 ^a ± 0,06 (20)	1,74 ± 0,05 (20)
MBH-AL₁ (e)	1,00 ^d ± 0,00 (16)	1,26 ± 0,09 (16)	1,48 ^d ± 0,08 (16)	1,67 ± 0,20 (19)	1,76 ± 0,09 (19)	1,80 ± 0,13 (19)
MBS-AL₃ (f)	1,06 ^a ± 0,05 (14)	1,29 ± 0,04 (14)	1,53 ± 0,04 (14)	1,61 ± 0,04 (14)	1,75 ^a ± 0,10 (14)	1,80 ^a ± 0,10 (14)
MBH-AL₃ (g)	1,06 ± 0,05 (13)	1,24 ± 0,09 (13)	1,48 ^f ± 0,07 (13)	1,65 ± 0,12 (13)	1,70 ± 0,09 (13)	1,75 ± 0,38 (13)
DBRH-AL₃ (h)	1,09 ± 0,03 (17)	1,25 ± 0,03 (17)	1,42 ^g ± 0,03 (17)	1,48 ^g ± 0,04 (17)	1,51 ^g ± 0,04 (17)	1,55 ^g ± 0,06 (17)

Os valores representam a média ± desvio-padrão. O número de medidas é dado entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores significativamente diferentes (p<0,05) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra, na coluna da esquerda (ANOVA e teste de Tukey).

TABELA 5 – Evolução do eixo antero-posterior do crânio (**EAPC**) de ratos, durante o aleitamento, provenientes de mães tratadas com T_4 (20µg/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo **H-G**), 1ª ou 3ª semana do aleitamento (**H-AL₁**, **H-AL₃**), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou a Dieta Básica Regional (**DBR**). O grupo ingênuo, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem injeção de solução salina.

GRUPO	EAPC (cm)					
	DIAS DA LACTAÇÃO					
	2º D	5º D	10º D	15º D	20º D	25º D
INGÊNUO (a)	1,73 ± 0,10 (17)	2,14 ± 0,19 (17)	2,47 ± 0,16 (17)	2,90 ± 0,25 (13)	3,32 ± 0,21 (17)	3,64 ± 0,11 (17)
MBS-G (b)	1,84 ± 0,04 (17)	2,23 ± 0,06 (17)	2,72 ^a ± 0,09 (17)	3,12 ^a ± 0,15 (17)	3,46 ± 0,17 (17)	3,53 ± 0,20 (17)
MBH-G (c)	1,77 ^b ± 0,12 (13)	2,00 ^b ± 0,20 (19)	2,66 ± 0,24 (13)	3,13 ± 0,21 (19)	3,23 ^b ± 0,20 (19)	3,50 ± 0,20 (19)
MBS-AL₁ (d)	1,74 ± 0,13 (20)	2,09 ± 0,16 (20)	2,57 ± 0,25 (20)	3,22 ^a ± 0,16 (20)	3,45 ± 0,12 (20)	3,68 ± 0,12 (20)
MBH-AL₁ (e)	1,62 ^d ± 0,15 (16)	1,69 ± 0,11 (19)	2,60 ± 0,07 (16)	2,73 ^d ± 0,30 (19)	3,09 ^d ± 0,24 (19)	3,62 ^d ± 0,19 (19)
MBS-AL₃ (f)	1,50 ^a ± 0,31 (14)	2,05 ± 0,15 (14)	2,56 ± 0,24 (14)	2,96 ± 0,22 (14)	3,29 ± 0,22 (14)	3,56 ± 0,29 (14)
MBH-AL₃ (g)	1,64 ± 0,10 (13)	1,98 ± 0,15 (13)	2,40 ^f ± 0,20 (13)	3,02 ± 0,15 (13)	3,24 ± 0,20 (13)	3,65 ± 0,13 (13)
DBRH-AL₃ (h)	1,92 ^g ± 0,06 (17)	2,19 ^g ± 0,06 (17)	2,60 ^g ± 0,08 (17)	2,81 ^g ± 0,14 (17)	2,92 ^g ± 0,11 (17)	3,09 ^g ± 0,14 (17)

Os valores representam a média ± desvi o-padrão, com o número de animais entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores médios significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra, na coluna da esquerda (ANOVA e teste de Tukey)

4.1.4. - EIXO LONGITUDINAL DO CORPO (ELCO)

Em relação ao grupo controle, os valores médios do **ELCO** do grupo **MBH-G** apresentaram-se significativamente menores no 2º dia do aleitamento e maiores, mas não estatisticamente significantes, do 5º ao 25º dia da lactação. O **ELCO** do grupo **MBH-AL₃** apresentou-se significativamente diminuído apenas no 10º dia do aleitamento, comparado ao grupo **MBS-AL₃**. Os animais do grupo **MBH-AL₁** não apresentaram diferença estatisticamente significativa do **ELCO** quando comparados aos animais do grupo controle (**MBS-AL₁**) (**Tabela 6**).

O **ELCO** do grupo desnutrido na lactação e tratado com T₄, na 3ª semana do aleitamento (**DBRH-AL₃**) mostrou-se significativamente maior no 2º, 5º, 15º, 20º e 25º dias de vida, comparado ao grupo bem nutrido (**MBH-AL₃**), tratado da mesma forma e em igual período (**Tabela 6**).

Comparado ao grupo **INGÊNUO**, os valores médios do **ELCO** dos animais do grupo **MBS-G** apresentaram-se significativamente diminuídos no 5º dia da lactação; significativamente aumentados no 10º dia de vida no grupo **MBS-AL₁** e no 5º e 10º dia do aleitamento no grupo **MBS-AL₃** (**Tabela 6**).

4.2. - VELOCIDADE DE PROPAGAÇÃO DA DA

A aplicação tópica de KCl a 2%, com uma bolinha de algodão, por 1 minuto, em um ponto da região frontal, provocava uma única “onda” de **DA**, a qual se propagava normalmente e era registrada por dois eletrodos, localizados posteriormente ao ponto estimulado. A redução da atividade elétrica cortical, característica da **DA**, levava 5 -10 min para ser completamente recuperada. Geralmente aguardava-se um intervalo de 20 min entre duas estimulações consecutivas, durante um período contínuo de 4 horas de registro. Isso aconteceu em 100% dos casos, em todos os grupos.

Exemplos dos registros eletrofisiológicos da **DA**, dos 8 grupos experimentais, são mostrados nas **figuras 4 e 5**.

TABELA 6 – Evolução do eixo longitudinal do corpo (**ELCO**) de ratos, Durante o aleitamento, provenientes de mães tratadas com T₄ (20µg/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo **H-G**), 1^a ou 3^a semana do aleitamento (**H-AL₁**, **H-AL₃**), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou a Dieta Básica Regional (**DBR**). O grupo ingênuo, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem injeção de solução salina.

GRUPO	ELCO (cm)					
	DIAS DA LACTAÇÃO					
	2º D	5º D	10º D	15º D	20º D	25º D
INGÊNUO (a)	5,41 ± 0,28 (17)	6,10 ± 0,23 (17)	7,47 ± 0,39 (17)	9,00 ± 0,36 (13)	10,37 ± 0,62 (17)	12,12 ± 0,66 (17)
MBS-G (b)	5,61 ± 0,17 (17)	6,6 ^a ± 0,28 (17)	7,73 ± 0,22 (17)	9,41 ± 0,43 (17)	10,22 ± 0,41 (17)	11,96 ± 0,48 (17)
MBH-G (c)	5,24 ^b ± 0,34 (13)	6,36 ± 0,38 (13)	7,74 ± 0,25 (13)	9,29 ± 0,37 (19)	10,46 ± 0,60 (19)	12,21 ± 0,99 (19)
MBS-AL₁ (d)	5,53 ± 0,29 (20)	6,34 ± 0,31 (20)	7,82 ^a ± 0,44 (20)	9,30 ± 0,42 (20)	10,43 ± 0,73 (20)	12,02 ± 0,67 (20)
MBH-AL₁ (e)	5,08 ± 0,25 (16)	6,26 ± 0,15 (16)	7,88 ± 0,29 (16)	9,23 ± 0,69 (19)	10,60 ± 0,37 (19)	12,27 ± 0,38 (19)
MBS-AL₃ (f)	5,51 ± 0,18 (14)	6,43 ^a ± 0,29 (14)	7,94 ^a ± 0,28 (14)	9,00 ± 0,56 (14)	10,36 ± 0,34 (14)	12,06 ± 0,66 (14)
MBH-AL₃ (g)	5,36 ± 0,25 (13)	6,32 ± 0,31 (13)	7,48 ^f ± 0,43 (13)	9,29 ± 0,19 (13)	10,34 ± 0,38 (13)	12,04 ± 0,72 (13)
DBRH-AL₃ (h)	5,80 ^g ± 0,14 (17)	6,67 ^g ± 0,12 (17)	7,36 ± 0,25 (17)	8,12 ^g ± 0,22 (17)	8,48 ^g ± 0,33 (17)	9,15 ^g ± 0,33 (17)

Os valores representam a média ± desvio-padrão. O número de medidas é dado entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores significantemente diferentes ($p < 0,05$) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra na coluna da esquerda (ANOVA e teste de Tukey).

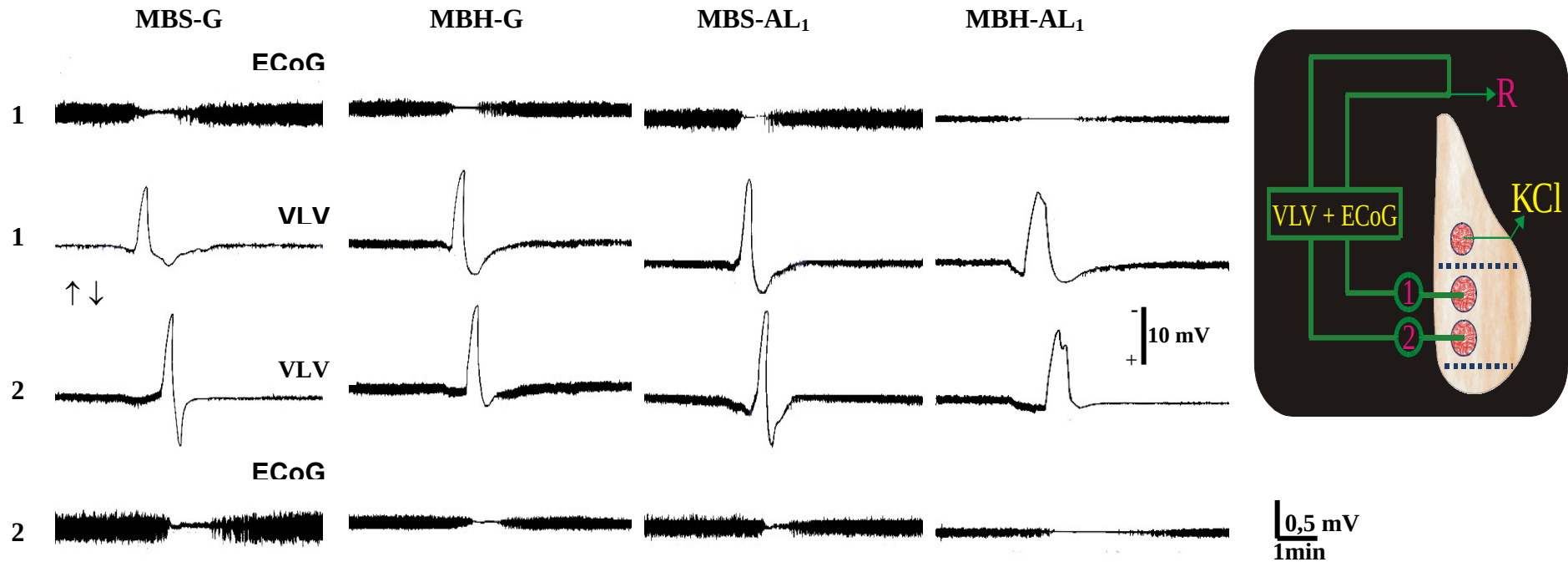


FIGURA 4 – Registro eletrofisiológico na região parietal direita do córtex cerebral de 4 ratos com idade entre 25 e 35 dias, provenientes de mães tratadas com T_4 ($20\mu\text{g/Kg}$ de peso corporal, i.p), durante a gestação (**MBH-G**) e 1^a semana do aleitamento (**MBH-AL₁**), ou tratadas da mesma forma e por igual período com solução salina (**MBS-G** e **MBS-AL₁** respectivamente), alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**). Os registros mostram a deflagração da depressão alastrante (**DA**) pela aplicação de **KCl** a 2% na região frontal do mesmo hemisfério, no tempo delimitado pelas setas. **ECoG** = eletrocorticograma; **VLV** = variação lenta de voltagem que acompanha a DA. Os pontos de registro estão marcados no desenho direito pelos números 1 e 2, que também aparecem junto aos respectivos registros à esquerda dos mesmos. O desenho mostra também o eletrodo de referência (**R**), sobre os ossos nasais. A distância entre os pontos de registro foi de 4.4mm nos 4 animais. No registro do animal **MBH-G** e **MBH-AL₁** o tempo gasto pela DA para percorrer a distância entre os dois eletrodos foi menor que nos registros dos seus respectivos controles, **MBS-G** e **MBS-AL₁**.

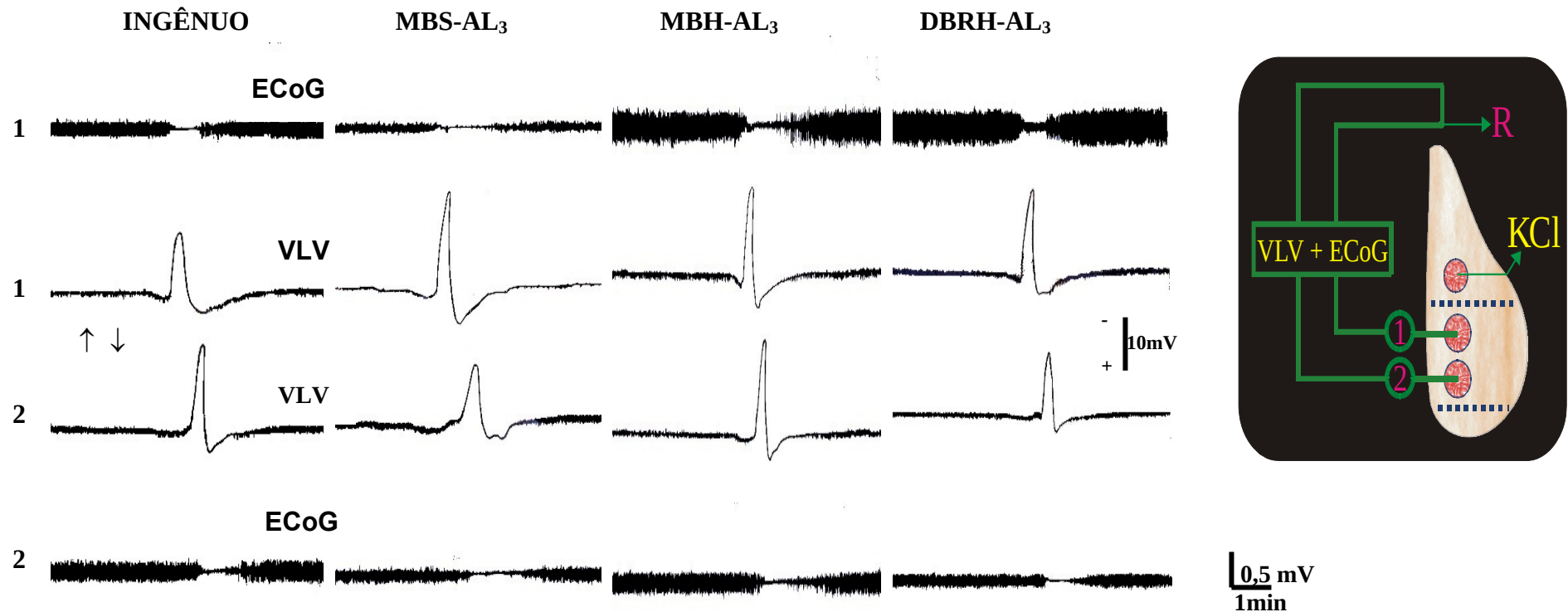


FIGURA 5 – Registro eletrofisiológico na região parietal direita do córtex cerebral de 4 ratos com idade entre 25 e 35 dias, provenientes de mães tratadas com T₄ (20µg/Kg de peso corporal, i.p), durante a 3^a semana da lactação (**MBH-AL₃**), ou tratadas da mesma forma e por igual período com solução salina (**MBS-AL₃**), alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou com a “dieta básica regional” (**DBR**) (**DBRH-AL₃**). O grupo **INGÊNUO**, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem mesmo injeção de solução salina. Os registros mostram a deflagração da depressão alastrante (**DA**) pela aplicação de **KCl** a 2% na região frontal do mesmo hemisfério, no tempo delimitado pelas setas. **ECoG** = eletrocorticograma; **VLV** = variação lenta de voltagem que acompanha a **DA**. Os pontos de registro estão marcados no desenho direito pelos números 1 e 2, que também aparecem junto aos respectivos registros à esquerda dos mesmos. O desenho mostra também o eletrodo de referência (**R**), sobre os ossos nasais. A distância entre os pontos de registro foi de 4.4mm nos 4 animais. No registro do animal **MBH-AL₃** o tempo gasto pela **DA** para percorrer a distância entre os dois eletrodos foi menor que no registro do seu controle (**MBH-AL₃**). Resultado semelhante foi observado ao comparar a velocidade da **DA** do grupo **MBS-G** (**Figura 4**) com a do grupo **INGÊNUO**.

As velocidades médias de propagação da **DA**, calculadas para cada uma das 4 horas de registro, apresentaram-se significativamente aumentadas nos grupos tratados com tiroxina (**MBH-G**, **MBH-AL₁** e **MBH-AL₃**), em relação aos seus respectivos controles (**MBS-G**, **MBS-AL₁** e **MBS-AL₃**). No grupo desnutrido durante a lactação (**DBRH-AL₃**), embora as diferenças não tenham sido significantes, os valores médios foram maiores que os encontrados no grupo **MBH-AL₃** e significativamente maiores que os do grupo **MBS-AL₃**, nas 4 horas estudadas (**Tabela 7, Figura 6**).

Nos animais do grupo **INGÊNUO**, não foi realizado qualquer tipo de tratamento nutricional, nem farmacológico, nem mesmo injeção de solução salina, no propósito de avaliarmos a influência do estresse, pela aplicação das soluções, sobre a velocidade de propagação da **DA**. As medidas nesses animais foram estatisticamente menores que as encontradas no grupo **MBS-G**, em todas as horas de registro e não diferiram significativamente dos grupos controles **MBS-AL₁** e **MBS-AL₃** em qualquer das horas estudadas (**Tabela 7, Figura 6**).

4.3. - PESO ENCEFÁLICO

Em relação aos respectivos controles, os pesos do encéfalo úmido e seco mostraram-se significativamente maiores no grupo **MBH-G** (tratado na gestação) e menores no grupo **MBH-AL₁** (tratado na 1ª semana do aleitamento); quanto ao peso do encéfalo relativo houve diminuição significativa no grupo **MBH-G** e aumento no grupo **MBH-AL₁**. Nos animais desnutridos, tratados com tiroxina durante a 3ª semana do aleitamento, tanto o peso do encéfalo úmido como do seco foram estatisticamente menores, e o relativo maior, comparado aos animais bem nutridos tratados com esse hormônio em igual período (**Tabela 8, Figura 7**).

Em relação ao grupo **INGÊNUO**, os pesos do encéfalo seco mostraram-se significativamente menores nos grupos **MBS-G** e **MBS-AL₃** (**Tabela 8, Figura 7**).

4.4. - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE T₃ E T₄ TOTAIS

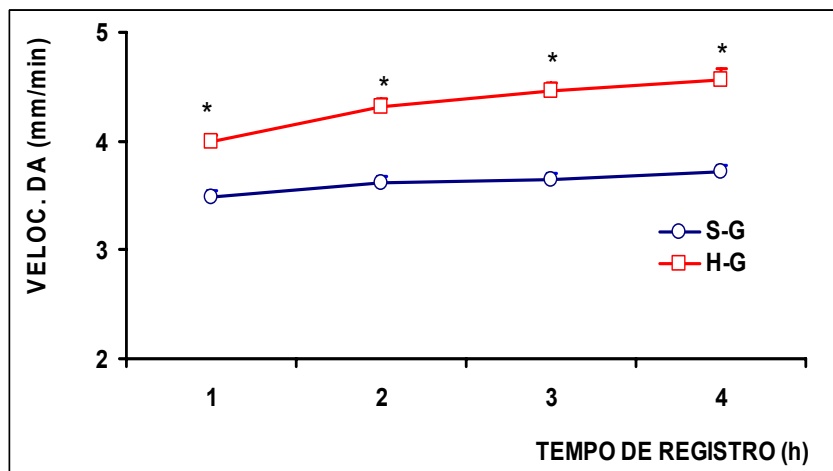
Na **tabela 9** são mostradas as concentrações séricas de T₃ e T₄ de ratos com idade entre 25 e 35 dias, provenientes de mães tratadas com tiroxina (20µg/kg de peso corporal, i.p.) em diferentes períodos.

TABELA 7 – Velocidades médias de propagação da depressão alastrante (**DA**), em ratos com idade entre 25 e 35 dias, por quatro horas consecutivas de registro, provenientes de mães tratadas com T₄ (20µg/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo **H-G**), 1^a ou 3^a semana do aleitamento (**H-AL₁**, **H-AL₃**), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou a Dieta Básica Regional (**DBR**). O grupo ingênuo, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem injeção de solução salina.

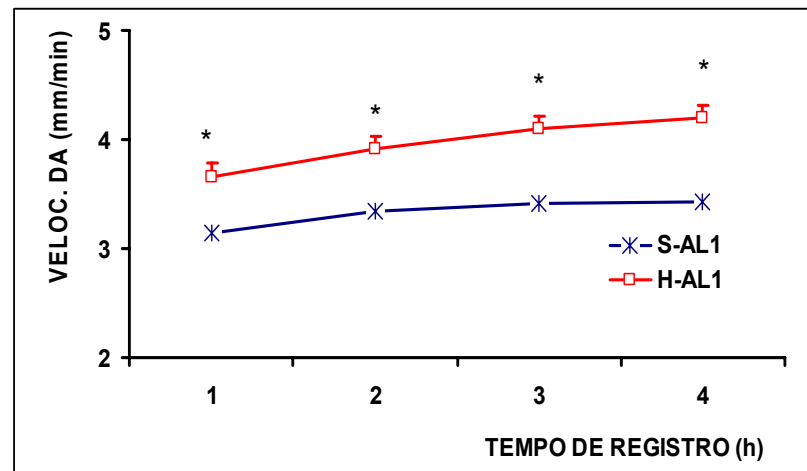
GRUPO	VELOCIDADE DE PROPAGAÇÃO DA DA (mm/min)			
	1 ^a h	2 ^a h	3 ^a h	4 ^a h
INGÊNUO (a)	3,20 ± 0,15 (17)	3,39 ± 0,15 (17)	3,49 ± 0,12 (17)	3,52 ± 0,12 (17)
MBS-G (b)	3,49 ^a ± 0,21 (17)	3,61 ^a ± 0,23 (17)	3,65 ^a ± 0,21 (17)	3,72 ^a ± 0,19 (17)
MBH-G (c)	3,99 ^b ± 0,30 (19)	4,31 ^b ± 0,35 (19)	4,46 ^b ± 0,36 (19)	4,57 ^b ± 0,37 (19)
MBS-AL₁ (d)	3,15 ± 0,18 (20)	3,35 ± 0,13 (20)	3,42 ± 0,14 (20)	3,43 ± 0,13 (20)
MBH-AL₁ (e)	3,66 ^d ± 0,30 (19)	3,91 ^d ± 0,47 (19)	4,10 ^d ± 0,55 (19)	4,20 ^d ± 0,55 (19)
MBS-AL₃ (f)	3,12 ± 0,20 (14)	3,23 ± 0,15 (14)	3,36 ± 0,16 (14)	3,42 ± 0,12 (14)
MBH-AL₃ (g)	3,48 ^f ± 0,54 (13)	3,66 ^f ± 0,44 (13)	4,04 ^f ± 0,64 (13)	4,15 ^f ± 0,69 (13)
DBRH-AL₃ (h)	3,73 ^f ± 0,34 (17)	3,89 ^f ± 0,45 (17)	4,09 ^f ± 0,45 (17)	4,19 ^f ± 0,43 (17)

O número de medidas é dado entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra, na coluna da esquerda (ANOVA e teste de Tukey).

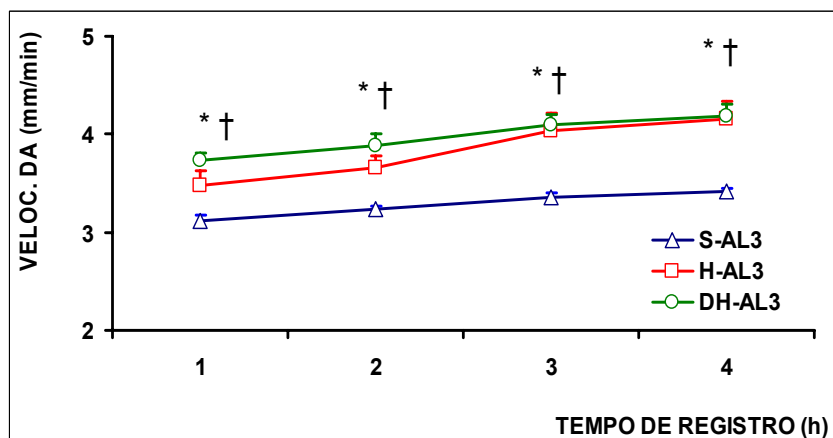
GESTAÇÃO



ALEITAMENTO 1



ALEITAMENTO 3



CONTROLES

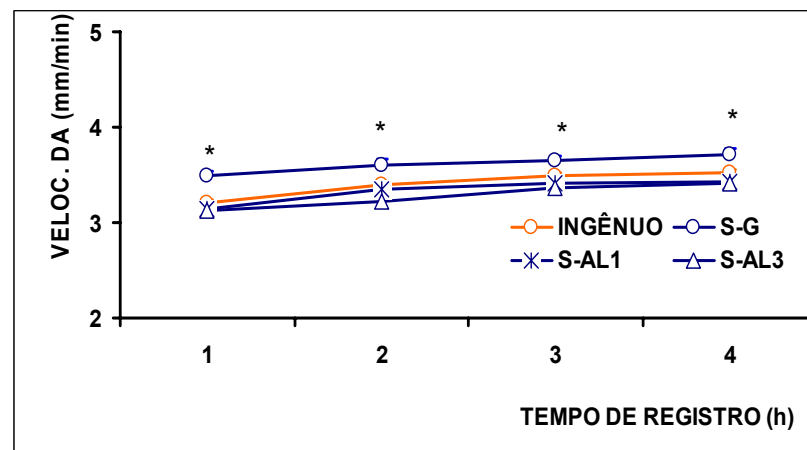


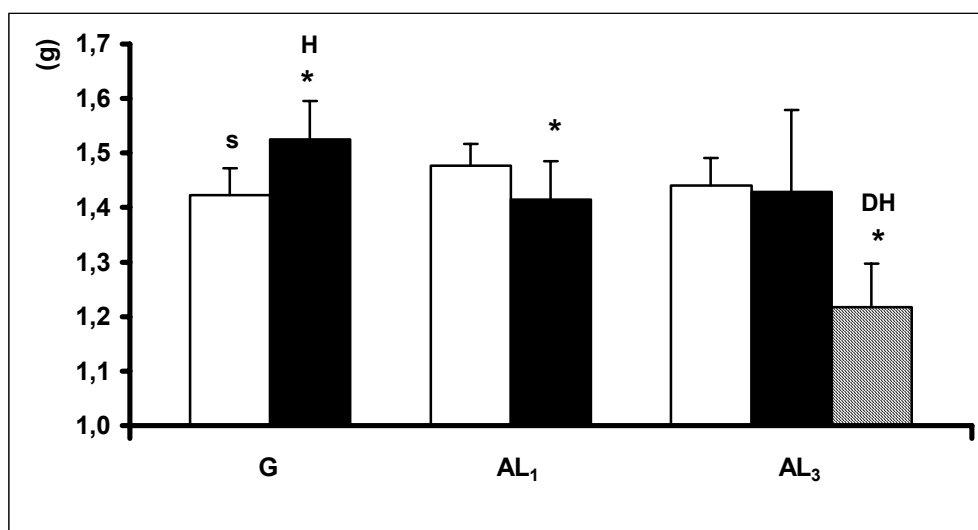
FIGURA 6 – Velocidades médias de propagação da depressão alastrante (DA), no córtex cerebral de ratos com idade entre 25 e 35 dias, por quatro horas consecutivas de registro, provenientes de mães tratadas com T4 (20µg/kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (H-G), 1a ou 3a semana do aleitamento (H-AL1, H-AL3), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (S-G, S-AL1 e S-AL3); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (MB) ou a Dieta Básica Regional (DBR). O grupo INGÊNUE, alimentado com MB, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem mesmo injeção de solução salina. Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão. Os símbolos indicam diferenças significantes ($p < 0,05$), * = H vs S e † = DH-AL3 (Desnutrido) vs S-AL3 (ANOVA e teste de Tukey).

TABELA 8 – Pesos corporais e encefálicos de ratos com idade entre 25 e 35 dias, provenientes de mães tratadas com T₄ (20µg/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo **H-G**), 1^a ou 3^a semana do aleitamento (**H-AL₁**, **H-AL₃**), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou a Dieta Básica Regional (**DBR**). O grupo ingênuo, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem injeção de solução salina.

GRUPO	PESO			
	CORPO (g)	ENCÉFALO		RELATIVO
		ABSOLUTO (g)		
		ÚMIDO	SECO	
INGÊNUO (a)	77,54 ± 13,97 (17)	1,4663 ± 0,07 (17)	0,2563 ± 0,02 (17)	1,5393 ± 0,27 (17)
MBS-G (b)	71,07 ± 13,42 (17)	1,4224 ± 0,05 (17)	0,2340 ^a ± 0,01 (17)	2,0603 ± 0,35 (17)
MBH-G (c)	89,48 ^b ± 8,26 (19)	1,5249 ^b ± 0,09 (19)	0,2946 ^b ± 0,07 (19)	1,7190 ^b ± 0,21 (19)
MBS-AL₁ (d)	86,33 ±18,09 (20)	1,4771 ± 0,07 (20)	0,2536 ± 0,01 (20)	1,7781 ±0,35 (20)
MBH-AL₁ (e)	69,89 ^d ± 12,14 (19)	1,4147 ^d ± 0,06 (19)	0,2328 ^d ± 0,01 (19)	2,0771 ^d ± 0,35 (19)
MBS-AL₃ (f)	70,11 ± 12,99 (14)	1,4404 ± 0,05 (14)	0,2395 ^a ± 0,01 (14)	2,1030 ± 0,29 (14)
MBH-AL₃ (g)	67,98 ± 9,43 (13)	1,4286 ± 0,09 (13)	0,2573 ± 0,06 (13)	2,1322 ± 0,27 (13)
DBRH-AL₃ (h)	35,50 ^g ± 5,24 (17)	1,2167 ^g ± 0,07 (16)	0,1998 ^g ± 0,01 (17)	3,3191 ^g ± 1,09 (17)

Os valores representam a média ± desvio-padrão. O número de medidas é dado entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra, na coluna da esquerda (ANOVA e teste de Tukey).

ENCÉFALO ÚMIDO



ENCÉFALO SECO

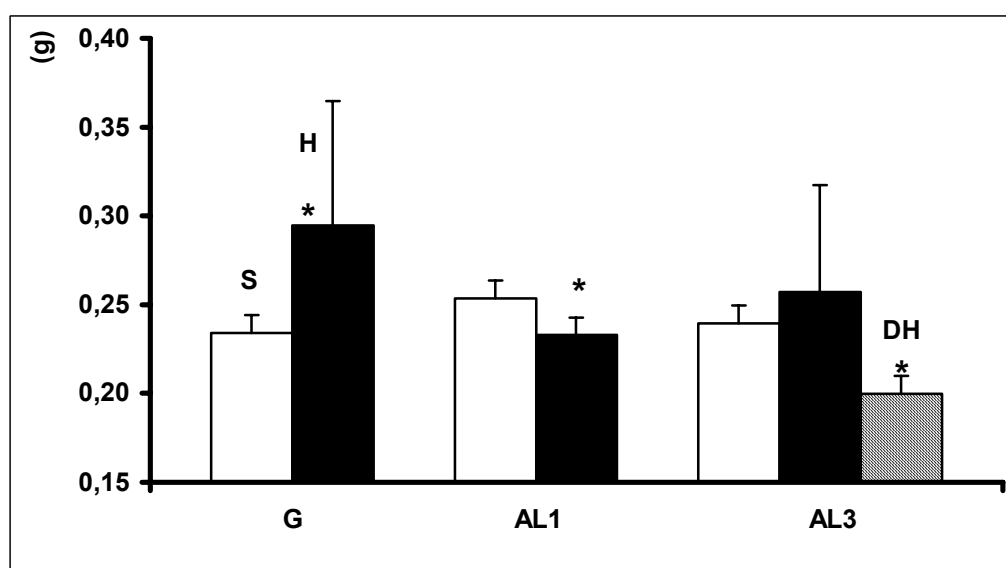


FIGURA 7 – Pesos dos encéfalos úmidos e secos (média $\pm$ erro padrão) de ratos com idade entre 25 e 35 dias, provenientes de mães tratadas com T4 (20 μ g/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo H-G), 1a ou 3a semana do aleitamento (H-AL₁, H-AL₃), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (S-G, S-AL₁ e S-AL₃); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (MB) ou a Dieta Básica Regional (DBR) . Os asteriscos indicam diferenças significantes ($p < 0,05$), * = H vs S e H-AL₃ vs DH-AL₃ (Desnutrido) (ANOVA e teste de Tukey).

TABELA 9 – Concentrações séricas de T_3 e T_4 totais de ratos com idade entre 25 -35 dias, provenientes de mães tratadas com T_4 (20 μ g/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (grupo **H-G**), 1^a ou 3^a semana do aleitamento (**H-AL₁**, **H-AL₃**), ou tratadas, da mesma forma e por igual período com solução salina (**S-G**, **S-AL₁** e **S-AL₃**); alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (**MB**) ou a Dieta Básica Regional (**DBR**). O grupo ingênuo, alimentado com **MB**, não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem injeção de solução salina.

GRUPOS	CONCENTRAÇÕES SÉRICAS HORMONAIS	
	T_3 (ng/dl)	T_4 (μg/dl)
INGÊNUO (a)	50,07 $\pm$ 4,20 (17)	2,15 $\pm$ 0,23 (17)
MBS-G (b)	43,64 $\pm$ 6,45 (16)	1,46 $\pm$ 0,56 ^a (21)
MBH-G (c)	36,44 $\pm$ 10,2 ^b (17)	2,69 $\pm$ 0,37 ^b (9)
MBS-AL₁ (d)	42,71 $\pm$ 12,41 (19)	3,03 $\pm$ 0,93 ^a (18)
MBH-AL₁ (e)	65,16 $\pm$ 20,55 ^d (19)	1,32 $\pm$ 0,94 ^d (18)
MBS-AL₃ (f)	58,79 $\pm$ 19,45 (12)	1,53 $\pm$ 0,53 ^a (10)
MBH-AL₃ (g)	77,35 $\pm$ 19,02 ^f (16)	
DBRH-AL₃ (h)	89,65 $\pm$ 8,05 (6)	1,12 $\pm$ 0,77 (6)

Os valores representam a média $\pm$ desvio-padrão. O número de medidas é dado entre parênteses. As letras minúsculas indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos valores correspondentes nos grupos marcados com a mesma letra, na coluna da esquerda (ANOVA e teste de Tukey).

Os níveis séricos de T_3 total acharam-se significativamente diminuídos nos animais do grupo **MBH-G** (tratados na gestação) e aumentados nos grupos **MBH-AL₁** e **MBH-AL₃** (tratados durante a 1ª e 3ª semana da lactação), em relação aos seus respectivos controles. Esses não diferiram significativamente do grupo **INGÊNUO**, que não recebeu qualquer tipo de tratamento. Os animais do grupo desnutrido durante a gestação e tratados com T_4 na 3ª semana do aleitamento (**DBRH-AL₃**), apresentaram valores médios maiores que os do grupo bem nutrido, tratado da mesma forma e em igual período (**MBH-AL₃**), mas as diferenças não foram significantes.

Em relação aos seus respectivos controles, as concentrações séricas de T_4 total estavam aumentadas significativamente nos animais do grupo **MBH-G** e diminuídas no grupo **MBH-AL₁**. Os grupos controles, ao serem comparados ao grupo **INGÊNUO**, apresentaram concentrações significativamente diminuídas nos grupos **MBS-G** e **MBS-AL₃**, e aumentadas no grupo **MBS-AL₁**.

4.5. - ANÁLISE HISTOLÓGICA DA TIREÓIDE

As **figuras 9A, 9B e 10A** ilustram o aspecto histológico das tireóides de animais bem nutridos, tratados com tiroxina, com idade entre 25 e 35 dias, e a **figura 10C** de um animal desnutrido com essa mesma idade. Em comparação com os ratos injetados com solução salina, o tratamento com tiroxina não provocou alterações evidentes. Resultado semelhante foi observado nos animais desnutridos em comparação com os bem nutridos, tratados com tiroxina da mesma forma e em igual período. Nos animais dos grupos controles (**figuras 9C, 9D e 10B**) em comparação aos animais do grupo **INGÊNUO** (**Figura 6C**), que não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem farmacológico, nem mesmo com solução salina, nenhuma alteração foi encontrada.

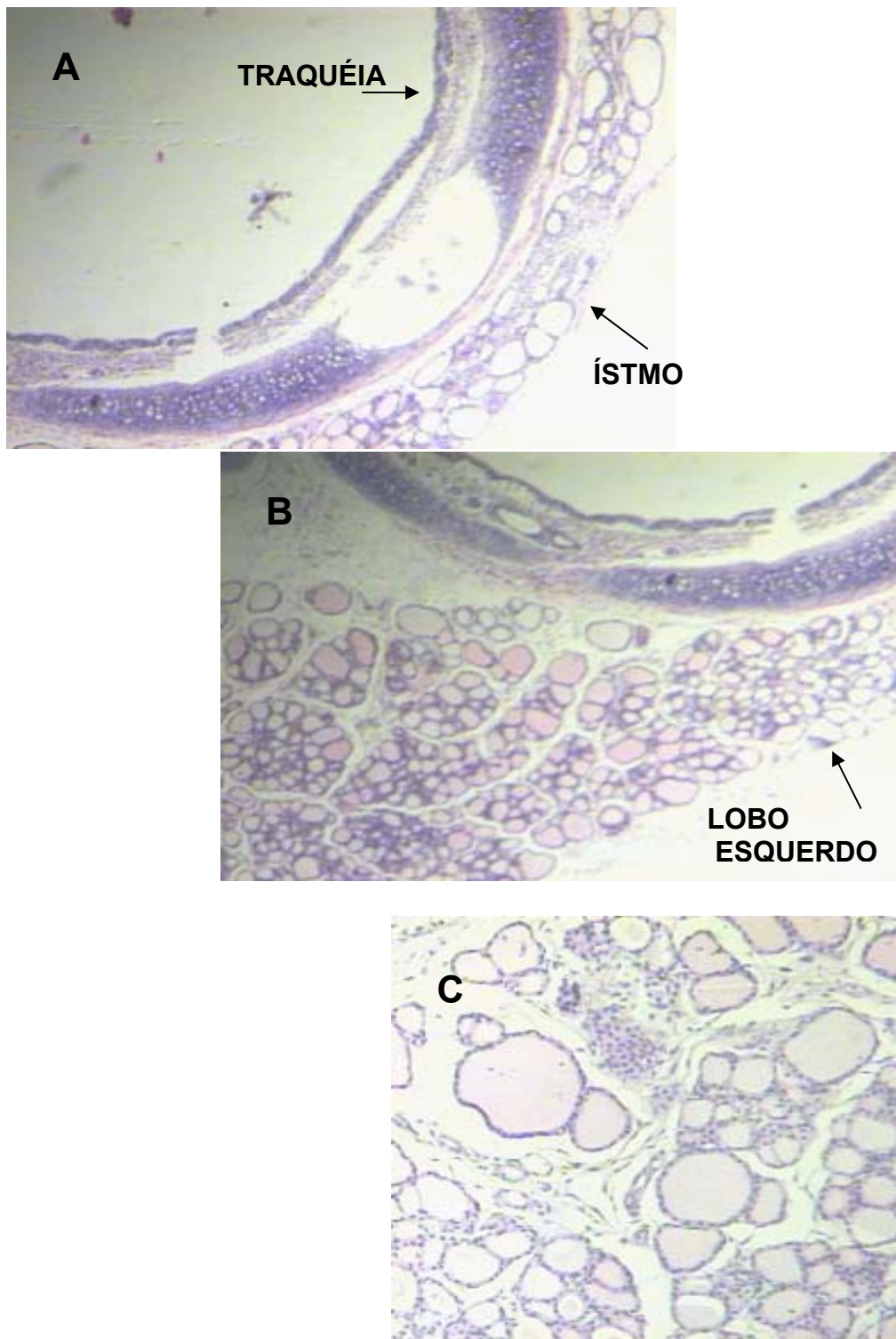


FIGURA 8 – Fotomicrografias de preparação histológica da tireóide de rato: **A** e **B** – identificação do tipo de corte (objetivax10). **C** – proveniente de mãe que não recebeu qualquer tipo de tratamento, nem hormonal, nem mesmo com solução salina (grupo INGÊNUO)(objetivax25). Não foi encontrada grandes diferenças histológicas entre esse grupo e os demais controles.

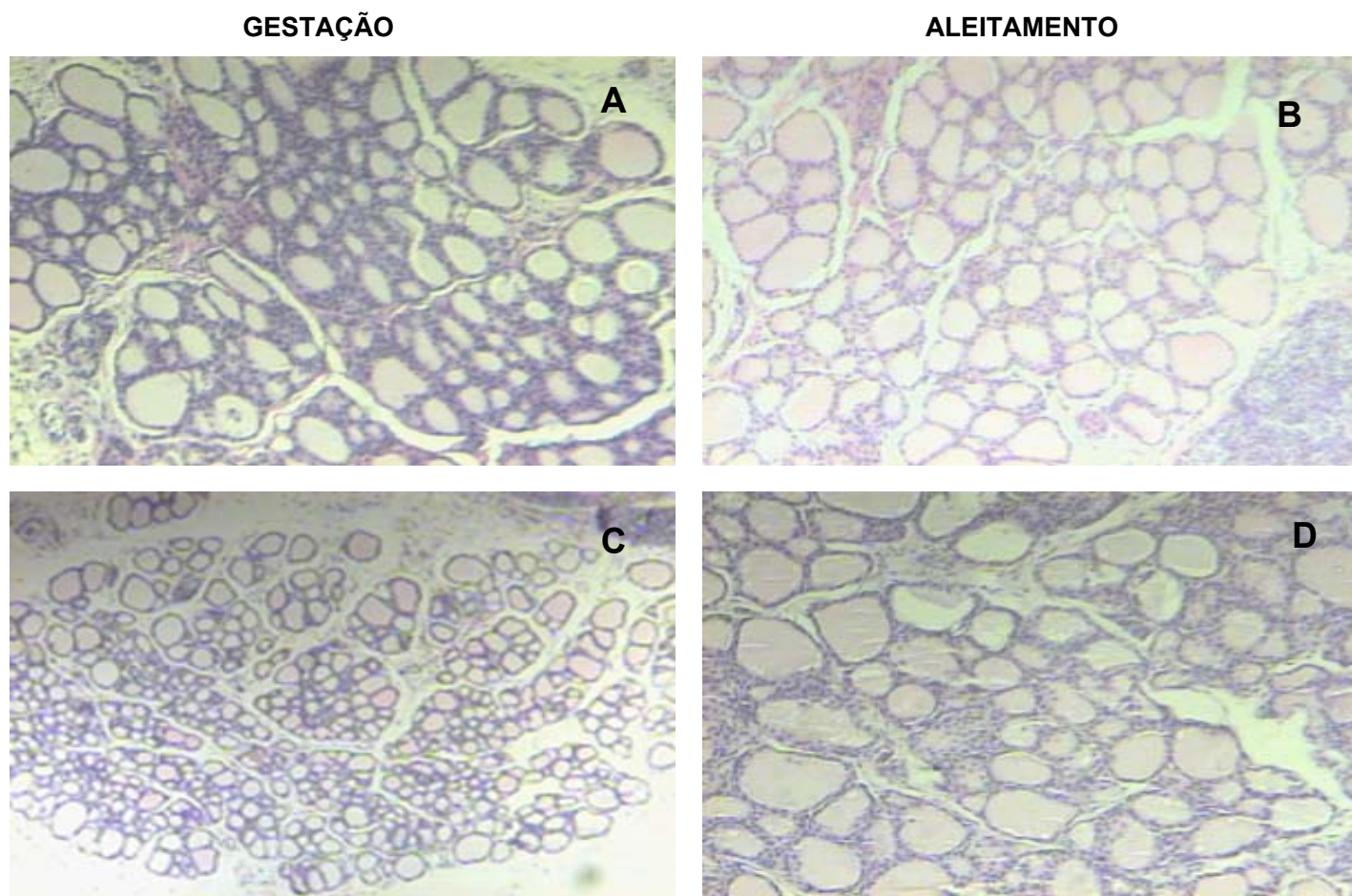


FIGURA 9 – Fotomicrografias de cortes histológicos de tireóides de 4 animais provenientes de mães tratadas com tiroxina (20µg/Kg de peso corporal, i.p), durante a gestação (**A**) e 1^a semana do aleitamento (**B**), ou tratadas da mesma forma e por igual período com solução salina (**C** e **D**), alimentadas com a dieta de Manutenção do Biotério (MB). Não foi encontrada diferença histológica entre os grupos. As fotomicrografias foram realizadas com o mesmo aumento (objetiva 25x).

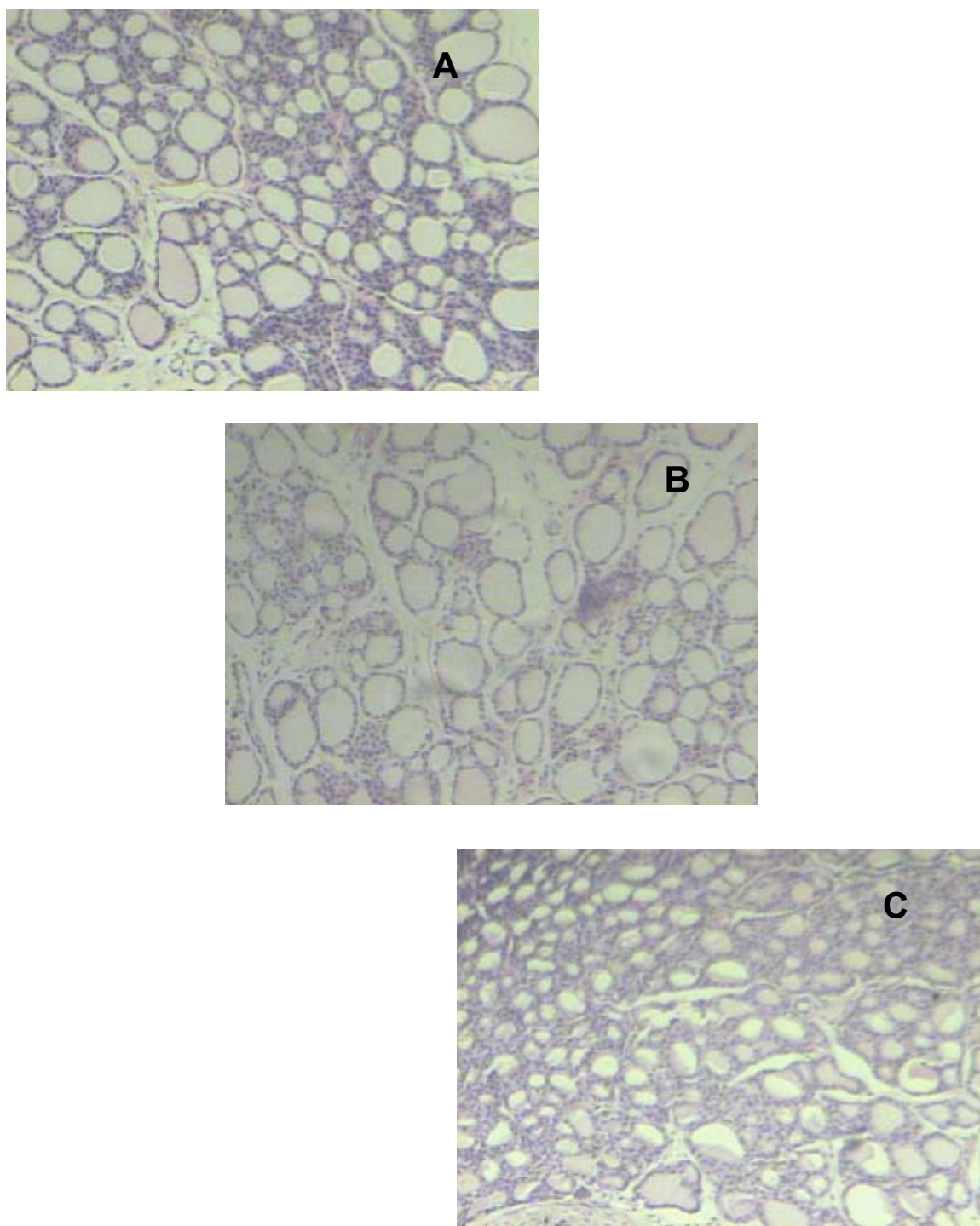


FIGURA 10 – Fotomicrografias de preparações histológicas de tireóides de 3 animais provenientes de mães tratadas com tiroxina ($20\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso corporal, i.p) na 3ª semana da lactação (**A**) ou injetada com solução salina da mesma forma e em igual período que o animal anterior (**B**) e tratada com T_4 na 3ª semana do aleitamento e desnutrida com **DBR** (**C**). Não foi encontrada diferenças histológicas entre os grupos. As fotomicrografias foram realizadas com o mesmo aumento (objetiva 25x).

5.0. – DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente trabalho indicam que o tratamento com tiroxina no início da vida pode alterar os parâmetros ponderais, hormonais e eletrofisiológicos cerebrais, aqui estudados. Entretanto, a magnitude de tais alterações parece depender do período em que os animais foram submetidos a este tratamento, bem como do estado nutricional dos indivíduos. Estes resultados serão discutidos e, com base nos dados da literatura serão apresentados, quando apropriado, os possíveis mecanismos relacionados aos efeitos observados em cada uma das situações estudadas.

O desenvolvimento normal do cérebro requer a presença de hormônios tiroideanos, que são essenciais à migração celular, crescimento de dendritos e axônios, formação de sinapses, mielinização e gliogênese. A deficiência desses hormônios durante a primeira semana pós-natal debilita seriamente a organização e desenvolvimento estrutural do cérebro. Além disso, afeta a fisiologia oligodendrocítica e neuronal (Porterfield, 1993).

O tratamento precoce com PTU é uma técnica muito utilizada para o estudo de alterações neurais decorrentes da hipofunção tiroideana, pela sua grande eficiência em produzir o hipotireoidismo experimental. Com esse tratamento tem sido possível demonstrar redução nas concentrações de proteínas e ácidos nucleicos no cerebelo e no hipocampo (Faivre-Sarrailh *et al.*, 1991), diminuição da atividade do sistema colinérgico cerebelar (Clos *et al.*, 1989), bem como deficiência no crescimento somático e nervoso, evitável mediante terapia de reposição com tiroxina; Nathaniel *et al.*, (1988). Em trabalhos anteriores do nosso laboratório, esse tratamento foi eficaz em produzir hipotireoidismo, a julgar pelo retardo na maturação reflexa e somática, reduções nos pesos corporais e encefálicos, alterações histológicas da tireóide indicativos de hipofunção dessa glândula e alterações comportamentais. Nessas condições, o córtex cerebral mostrou-se menos susceptível à DA (Guedes e Pereira-da-Silva, 1993; Pereira-da-Silva, 1996). Vale ressaltar que esses trabalhos, até onde temos conhecimento, são os únicos da literatura, que relacionam a função tiroideana ao fenômeno da DA. Por outro lado, os efeitos do hipertireoidismo, associados ou não à desnutrição, sobre a DA, não tinham sido ainda investigados de forma sistemática.

Os animais hipertiroideanos do presente trabalho foram caracterizados por diminuição no peso corporal e cerebral, diminuição nos níveis séricos de T_3 dos animais provenientes de mães tratadas com T_4 durante a gestação e aumento desse hormônio quando a indução do hipertiroidismo foi realizada durante a lactação. Além disso a observação frequente de movimentação intensa desses animais, em suas gaiolas, sugere-nos que eles apresentavam aumento da atividade motora, em relação aos animais controles, embora não tenhamos quantificado essa atividade. As alterações nos níveis séricos de T_3 foram observadas tanto nos animais bem nutridos quanto nos desnutridos. Resultado contrário foi observado nos níveis séricos de T_4 . Animais nessas mesmas condições, segundo Marta *et al.* (1998), como citado anteriormente, caracterizaram-se por aparecimento acelerado de uma série de fatores indicando maturação precoce, tiveram um breve período de vida e morreram com aproximadamente 5-6 meses de idade, enquanto que os animais normais têm um período de vida de aproximadamente 2 anos.

Morreale de Escobar *et al.* (1994) consideram que os níveis de T_4 e T_3 teciduais são afetados por diversos fatores fisiológicos, como estágio do desenvolvimento, idade pós-natal, peso corporal, sexo e prenhez.

Na situação feto-materna a transferência de T_4 da mãe para o feto é contínua até próximo ao nascimento (Morreale de Escobar *et al.*, 1990). Estes autores ressaltaram ainda a importância do T_4 materno, como protetor do cérebro fetal, em casos de disfunção da glândula tireóide do feto. A concentração materna de T_4 , necessária para normalizar o T_4 extratiroideano e o *pool* de T_3 do feto, é de 3,5 vezes maior em ratas prenhes do que aquela observada em ratas não prenhes (Calvo *et al.*, 1992).

As evidências sugerem que uma baixa atividade da desidrase cerebral produz uma deficiência de T_3 no cérebro, mas não no resto do corpo, sugerindo que o aumento da razão T_4/T_3 é mais importante que os níveis séricos de T_4 como um determinante da excitabilidade cerebral (Seyfried *et al.*, 1979; Pacheco-Rosado *et al.*, 1997). Estas descobertas são reforçadas por outros resultados que ressaltam que os requerimentos de T_3 no cérebro são fortemente dependentes do fornecimento de T_4 e do local de conversão para T_3 . Os hormônios tiroideanos são essenciais para o desenvolvimento e maturação normal do sistema nervoso central; no entanto, um atraso no desenvolvimento e um risco aumentado de paralisia cerebral têm sido estabelecidos em infantes prematuros com baixa concentração

plasmática de tiroxina ou triiodotironina durante o período neonatal. (Van Wassenauer *et al.*, 1998). Nas primeiras semanas após o nascimento é comum hipotiroxinemia transitória em infantes prematuros, com baixo peso corporal e é mais severa em infantes com pequena idade gestacional. Esta hipotiroxinemia tem sido atribuída à imaturidade do eixo hipotálamo-pituitária-tireóide, hipotiroidismo terciário, doenças não tiroideana, consumo de iodo insuficiente ou retirada prematura da contribuição materna à concentração do hormônio tiroideano fetal. Acredita-se que tenha passagem transplacentária de T_4 da mãe para o feto (Van Wassenauer *et al.*, 1998).

Jennings *et al.* (1984) ressaltaram a diferença na produção hepática de T_3 pelo fígado perfundido em ratos hipo, hiper e eutiroideanos, e esta diferença resulta da conversão fracional de T_4 a T_3 , indicando que a administração de T_4 exerce um efeito estimulatório sobre a atividade da 5'desiodase. Um outro aspecto relevante do nosso trabalho mostra que a administração de T_4 em ratas-mãe durante a gestação ou aleitamento pode acarretar modificações no peso corporal e no tamanho dos filhotes. Esses resultados sugerem que o aumento de T_4 pela ação da tiroxina materna, administrada durante a gestação, pode contribuir para ativação da enzima 5'iodotironina desiodase responsável pelo processo de conversão de T_4 a T_3 .

A ação dos hormônios tiroideanos sobre o desenvolvimento orgânico parece ser mais intensa durante o período crítico, antes do 15^o ao 20^o dia pós-natal. Após este período o cérebro é menos responsivo aos hormônios tiroideanos. O hipotiroidismo atrasa a sinaptogênese durante este período, e o hipertiroidismo acelera inicialmente, mas ainda causa redução de sinapses. O circuito hipocampal está alterado nos animais tornados hipertiroideanos no início do período pós-natal. Está evidente que tanto o hiper quanto o hipotiroidismo causam reduções de espinhas nos neurônios centrais (Niemi, 1996).

Rocha de Melo e Guedes (1997) submeteram ratas lactantes a episódios curtos (uma ou duas semanas) de restrição nutricional pela DBR e estudaram os efeitos sobre a DA, nos filhotes, quando estes se tornaram adultos. Verificaram que o efeito facilitador sobre a DA foi mais evidente quando o episódio de restrição ocorreu na 3^a semana do aleitamento, em relação aos efeitos observados quando a restrição ocorreu nas outras semanas da amamentação. Quando o episódio de restrição era mais longo (duas semanas), os efeitos sobre a DA eram mais acentuados do que os observados nos filhotes, provenientes de mães que sofreram restrições por apenas uma das semanas do aleitamento. Esses resultados

mostraram que mesmo episódios curtos de restrição nutricional no início da vida, abrangendo apenas parte do período crítico, podem levar a alterações duradouras, detectáveis na idade adulta. Uma vez determinado que a 3ª semana do aleitamento foi o período em que a DBR produziu efeito mais evidente sobre a DA (Rocha de Melo e Guedes, 1997), optou-se no presente trabalho por estudar, nessa semana, os efeitos da associação entre desnutrição e hipertireoidismo. A associação desses dois fatores resultou em velocidades médias da DA mais alta, embora a diferença para o grupo bem nutrido e tratado com T_4 (MBH-AL₃) não tenha sido significativa. Isso ocorreu apesar da concentração de T_3 , nos animais do grupo desnutrido (DBRH-AL₃), estar significativamente aumentada e os pesos corporais e encefálicos diminuídos, comparado aos do grupo bem nutrido MBH-AL₃.

As proteínas encontradas na DBR além de se apresentarem em quantidade muito pequena são predominantemente de origem vegetal. Essas proteínas quando comparadas às de origem animal, são consideradas de qualidade inferior, uma vez que não fornecem teores de aminoácidos essenciais adequados ao desenvolvimento normal do organismo (Teodósio *et al.*, 1990; 2000). Andrade *et al.* (1990), estudando, em ratos, os efeitos da suplementação nutricional da DBR, verificaram que a redução de pesos corporal e encefálico, bem como o aumento da velocidade de propagação da DA, ocorriam devido principalmente à deficiência protéica da DBR. Essa afirmação se baseia no fato de que, quando se elevou o teor protéico da dieta a níveis adequados (de 8% para 22%), às custas de apenas aumento da quantidade de seus ingredientes, não se eliminou os efeitos sobre a DA. Entretanto, quando a suplementação foi feita com proteína de boa qualidade (caseína), os efeitos produzidos pela DBR, sobre os parâmetros acima citados foram abolidos, mostrando, que não só a quantidade, mas também a qualidade da proteína tem importância na gênese das alterações da propagação da DA produzidas pela DBR.

No nosso trabalho, utilizamos as medidas de peso encefálico total, uma vez que este parâmetro, mesmo apresentando limitações no seu significado, é de obtenção relativamente fácil e pode ser utilizado como um indicador de alterações estruturais do sistema nervoso central. No caso da desnutrição, a redução do peso encefálico total, resulta provavelmente do menor número e/ou menor tamanho dos elementos celulares, bem como de alterações nos processos de maturação neuronal, levando à diminuição do desenvolvimento da arborização dendrítica, sináptica e da mielinização (Morgane *et al.*, 1992). De fato, os nossos dados

mostraram que os animais desnutridos pela DBR apresentaram pesos cerebrais absolutos (úmido e seco) menores e pesos relativos maiores. Bennet *et al.* (1964) apontam a importância de se levar em consideração o peso do corpo ao se analisar o peso de um órgão como o cérebro. Por esse motivo, o peso do cérebro úmido relativo foi utilizado no nosso trabalho para se verificar também se esta relação estaria alterada em decorrência do tratamento empregado, uma vez que esse alterou o peso corporal. A relação entre o peso do cérebro úmido e o peso corporal foi estatisticamente menor no grupo hipertiroideano MBH-G, por conta do aumento no peso corporal, e aumentou no grupo MBH-AL₁, por motivo contrário ao do grupo anterior, comparados aos seus respectivos controles (MBS-G, e MBS-AL₁). Resultado semelhante ao do grupo MBH-AL₁ foi obtido no grupo hipertiroideano desnutrido (DBRH-AL₃) comparado ao grupo bem nutrido (MBH-AL₃). A desproporção entre o conjunto do organismo e a cabeça, estando esta proporcionalmente maior em relação ao corpo, é facilmente identificável na desnutrição experimental causada pelo uso da DBR (Teodósio *et al.*, 1990) e pelo uso da tiroxina quando administrada durante a 1ª semana da lactação. Quando esse hormônio foi administrado, em ratos, durante a gestação ou 3ª semana da lactação, ocasionou prejuízo ao crescimento, porém de modo não uniforme, sendo verificados graus de comprometimentos variados entre os parâmetros de crescimento do crânio e do corpo. Um fator que pode ter contribuído para a discrepância de algumas medidas dos eixos do crânio, é representado pelo fato de que os ossos cranianos, nesse período, ainda estão flexíveis e com as suturas ainda não soldadas. Nessas condições, erros de medida da ordem de um milímetro podem eventualmente ocorrer, contribuindo para a imprecisão das medidas. Isso justifica a emissão de um “alerta” para que se tenha a máxima cautela na utilização dessas medidas.

Yeh (1988) verificou redução de 30% a 40% no teor de mielina cerebral, bem como redução de outros compostos lipídicos em ratos desnutridos no aleitamento. Do mesmo modo que o observado com a DBR, estudos com ratos desnutridos pela técnica de grandes ninhadas (De Luca *et al.*, 1977) e pelo uso de uma dieta contendo 5% de caseína (Vieira Neto *et al.*, 1980) também mostraram velocidades de propagação de DA mais altas do que as dos animais bem nutridos. Segundo esses autores, a hipomielinização no cérebro desnutrido facilitaria a propagação da DA, uma vez que, no rato normal, a mielina agiria como um obstáculo a esta propagação.

A respeito dos efeitos sobre a DA, os nossos resultados evidenciam que o hipertiroidismo torna o córtex mais susceptível ao fenômeno, a julgar pelas suas velocidades de propagação aumentadas. Este resultado é semelhante ao observado em animais desnutridos (Guedes *et al.*, 1987a; Andrade *et al.*, 1990). Estas semelhanças nos levam a questionar se, nas duas condições, as modificações observadas no cérebro ocorreram pelos mesmos mecanismos, o que resultou em efeitos semelhantes sobre a DA. Nos animais hipertiroideanos desnutridos, os valores médios da velocidade de propagação da DA foram maiores que aqueles do grupo bem nutrido tratado com T_4 no mesmo período, comparados aos animais tornados hipertiroideanos na 3ª semana da lactação, mas as diferenças não são estatisticamente significantes. Isso indica que as duas condições (desnutrição e hipertiroidismo), quando associados, não anulam seus efeitos sobre a DA, mas também não os potenciam.

No cérebro desnutrido, a maior densidade de “empacotamento” neural resulta do agrupamento dos elementos celulares cerebrais de forma mais compacta porque há menos mielina entre eles. Embora em menor tamanho e número, tais elementos se encontram mais próximos, uns dos outros, do que nos animais bem nutridos, ocasionando um aumento da densidade celular cerebral (Gambetti *et al.*, 1974; Morgane *et al.*, 1978). Segundo De Luca *et al.* (1977) esse fator também contribuiria para facilitar a propagação da DA, uma vez que esse fenômeno parece não precisar necessariamente, para se propagar, da atividade sináptica (Sugaya *et al.*, 1975). O envolvimento gradual que ocorre com os elementos celulares adjacentes à região já invadida pela reação se processa por contigüidade (Monteiro, 1995).

Dentre as alterações que ocorrem no sistema nervoso de animais desnutridos, algumas são também verificadas no hipertiroidismo, como: dano oxidativo à bainha de mielina, alterando o desenvolvimento das células oligodendrogliais (Pasquini *et al.*, 1991) e produção de mielina iniciada mais cedo, provavelmente porque o hormônio induz à maturação precoce dos precursores das células oligodendrogliais (Adamo *et al.*, 1990). Balázs *et al.* (1971) reforçaram que o T_3 diminui o número de células oligodendrogliais bem como a deposição de mielina.

No rato, a desnutrição pós-natal compromete principalmente a multiplicação de células gliais, a julgar por alterações no conteúdo de DNA após o nascimento. Nessa fase, o aumento do DNA indica, sobretudo, aumento do número de células da glia (Nowak e Murno, 1977; Cordero *et al.*, 1982). Esse fato reveste-se de

importância para o presente trabalho, uma vez que a participação de células gliais, opondo-se à propagação da DA, tem sido considerada por alguns autores (Szerb, 1991; Sugaya *et al.*, 1975; Guedes e Cavaleiro, 1997).

A desnutrição protéica durante a lactação parece diminuir o tamanho do cérebro e a biossíntese protéica neuronal. A glia deve ser responsável pela maior percentagem de diminuição do número de células, já que em condições normais se multiplicam mais intensamente após o nascimento (Pedrosa & Moraes Santos, 1987).

Foi demonstrado por Lorscheider e Reineke (1971) que existe uma relação inversa entre o tamanho da ninhada e as concentrações séricas de hormônios tiroideanos. Mais recentemente, Van Haasteren *et al.* (1996), mostraram que os níveis de T_3 nos filhotes diminuem em função do tamanho da ninhada, mas os níveis de T_4 não se modificam. Como quanto maior for a ninhada, menor será a disponibilidade de leite a ser compartilhado pelos filhotes, este parece ser um modelo interessante para se avaliar, no futuro, como o organismo materno se adapta à possível desnutrição da sua prole. O tamanho da ninhada usado no presente estudo (6 animais /ninhada), parece conferir melhor performance na lactação (Fishbeck e Rasmussen, 1987). Vários estudos mostram que o tamanho da ninhada afeta a produção de leite da mesma maneira que a restrição de nutrientes na dieta (Yagil *et al.*, 1976; Crnic & Chase, 1978).

A desnutrição protéica durante a gestação causa um retardo na formação do folículo tiroideano, redução na área folicular, número de folículos, espaço do colóide e tamanho celular do tecido tiroideano de fetos e neonatos (Shrader *et al.*, 1977a). A análise da função tiroideana de fetos ou recém nascidos de ratas submetidas à dieta hipoprotéica durante a gestação demonstrou que a partir do 17^o dia de gestação e/ou após o nascimento, ocorre diminuição do peso corporal e da tireóide (Shrader *et al.*, 1977b; Friedman *et al.*, 1979). No presente trabalho não foram encontradas grandes diferenças histológicas na tireóide, nos animais tratados com T_4 , nem nos controles e nem nos desnutridos. Deve ser levado em conta para melhor compreensão desses achados o curto período de tratamento com tiroxina, do 14^o dia da gestação ao dia do nascimento da prole (aproximadamente 7 dias), 1^a ou 3^a semana da lactação. Após esses períodos os animais não receberam qualquer tipo de tratamento até a idade do registro (25 a 35 dias), quando foram retiradas as

tireóides. Podemos sugerir que a tiroxina, na dose usada e por esse período de tempo, não foi suficiente para alterar a histologia da tireóide nesses animais.

Já foi demonstrada, desde muito tempo, em estudo com ratas lactantes normais, a competição entre a glândula mamária e a tireóide, pelo iodeto (Lino e Greer, 1961). Este relato reforça a suposição da existência de um mecanismo de adaptação fisiológica durante a lactação, que é de fundamental importância para o suprimento adequado de iodeto para produção de hormônios tireoideanos e adequado desenvolvimento do sistema nervoso do recém nascido (Stubbe *et al.*, 1986). No entanto, não se conhece o efeito da desnutrição protéica sobre este mecanismo de adaptação fisiológica. Os resultados de transferência de iodeto na desnutrição protéica mostram que há um mecanismo de adaptação materno para manter a função tiroideana dos filhotes, porém as consequências deletérias da desnutrição nestes animais, ainda assim, comprometem esta adaptação fisiológica (Passos, 1999).

Há relatos da presença de T_3 e T_4 no leite de ratas normais (Strbak *et al.*, 1974, Oberkotter e Tenore, 1983) e em seres humanos (Sack *et al.*, 1977; Varma *et al.*, 1978; Jansson *et al.*, 1983, Oberkotter e Tenore, 1983). Contudo, o efeito da desnutrição protéica ou calórica sobre as concentrações destes hormônios no leite tem sido pouco estudado. Apesar desta transferência de T_3 através do leite ocorrer normalmente, em animais e em seres humanos, há relatos de que nas ratas com desnutrição protéica a transferência foi maior, já nos primeiros dias de lactação (Passos, 1999). Este aumento de T_3 no leite de ratas com desnutrição protéica pode ter um papel importante na maturação do sistema nervoso dos seus filhotes, diminuindo a gravidade das alterações neurológicas decorrentes de um hipotireoidismo nesta idade precoce do animal (Passos, 1999).

Na desnutrição crônica, Oberkotter e Rasmussen (1991) observaram diminuição na absorção gastrointestinal de iodo, na liberação de iodeto da tireóide e um declínio no consumo de oxigênio e energia. O baixo nível de iodo plasmático da prole, provenientes de mães que sofreram restrição protéica, pode ter sido devido à redução do leito vascular placentário, através do qual a transferência pode ocorrer; no entanto, essa hipótese tem sido considerada como sendo pouco atrativa, tendo em vista a capacidade de reserva da placenta (Shrader, 1977b).

Restrição dietética e lactação têm efeitos sinérgicos negativos na função tiroideana em ratas lactantes e sua prole e a ontogênese dos hormônios tiroideanos

está retardada nos filhotes de ratas desnutridas. Estes efeitos hormonais podem contribuir para diminuir a produção de leite das ratas desnutridas e para alterar as características de crescimento de sua prole (Oberkotter e Rasmussen, 1991).

Os efeitos do hipertireoidismo no período crítico do SNC, neste e em outros trabalhos, evidenciam a importância dos hormônios tiroideanos para o desenvolvimento do SNC. Neste estudo demonstrou-se que o hipertireoidismo associado ou não à desnutrição facilita a propagação da DA, causa reduções dos pesos corporais e encefálicos, bem como alterações comportamentais. O trabalho, pioneiro no que se refere aos efeitos do hipertireoidismo sobre a DA, alerta para a relevância do estudo do hipertireoidismo em crianças, onde o tratamento precoce faz-se necessário, com vistas a se evitar danos ao sistema nervoso. Suscita também as perspectivas enumeradas no final deste trabalho (página 51).

CONCLUSÕES

Com base nos resultados do presente trabalho, são apresentadas as seguintes conclusões:

1. O tratamento precoce com T_4 alterou o desenvolvimento corporal, a julgar pelas alterações de peso e de algumas dimensões do corpo;
2. Com relação à depressão alastrante, o tratamento precoce com T_4 tornou o tecido cortical mais susceptível, a julgar pelas suas velocidades de propagação aumentadas;
3. Na terceira semana do aleitamento, a associação da desnutrição com o tratamento com T_4 não anulou os respectivos efeitos sobre a depressão alastrante e também não os potenciou;

PERSPECTIVAS

Em decorrência do presente trabalho, são apresentadas as seguintes perspectivas, como idéias para experimentos futuros:

1. Investigar os efeitos de períodos mais prolongados de tratamento;
2. Estudar as modificações induzidas por doses hormonais maiores e menores que a usada presentemente;
3. Investigar os efeitos do tratamento com T_4 nas diversas fases do desenvolvimento, em animais desnutridos;
4. Analisar o possível papel de eventuais deficiências de iodo nas dietas experimentais empregadas;
5. Investigar se o tratamento com T_4 afeta a composição do leite, em ratas lactantes nutridas e desnutridas.
6. Quantificar a atividade das enzimas de desiodação em diferentes tecidos.

ABSTRACT

It is known that early alterations of thyroid function interferes with cerebral development and physiology. In this work we investigated the effects of early treatment with thyroxine (T_4) on the propagation of cortical spreading depression (SD) in weaned rats. Female adult Wistar rats fed a lab chow diet (CD; 23% protein) were treated with T_4 (20ug/kg/day, single ip injection) during either gestation (group CDH-G) or during the first or third week of the lactation period (groups CDH-L1 and CDH-L3 respectively). They were compared with 3 control groups, injected at the same periods with saline solution (groups S-G, S-L1 and S-L3, respectively). One additional malnourished group was treated with T_4 at L3, and another one was studied at the “naïve” condition (i.e., without receiving any injection or other kind of manipulation). Body weight and some dimensions (longitudinal body axis, as well as latero-lateral and antero-posterior skull axis) were obtained at days 2, 5, 10, 15, 20 and 25. From weaning (day 25) to day 35, the pups were submitted to the electrocorticogram- and slow potential change recordings of SD, which was elicited by KCl at the frontal cortex and recorded at 2 points of the parietal region. T_4 -treated rats presented reduction in body and brain weights. Compared to the controls, serum T_3 levels were found to be reduced in the group treated during gestation and increased in those treated during lactation. Serum T_4 levels changed in the opposite direction. The malnourished group presented lower body and brain weights, when compared to the well-nourished control. T_4 treatment associated with malnutrition resulted in high mean SD-velocities, but the differences from the control were not significant. In the groups CDH-G and CDH-L3 Impairment in body growth was not uniform, so that we found variable degrees of impairment between body- and skull growth parameters. The results indicate that T_4 treatment early in life can alter developmental, hormonal and electrophysiological parameters, the magnitude of these changes being dependent on the period in which the T_4 -treatment was performed, as well as on the nutritional status of the animals. The data: 1) reveals that T_4 -treatment renders the cerebral cortex more susceptible to SD, as judged by their increased velocities of propagation; 2) indicate that the association of T_4 and malnutrition does not annihilate, nor potentiate, their effects on SD; 3) suggest more awareness to the relevance of the early treatment of hyperthyroidism in children, to prevent damage to the nervous system.

Keywords: nutrition, hyperthyroidism, spreading depression.

9.0. – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMO,A.M.;LLESUY,S.F.;PASQUINI,J.M.;BOVERIS,A.A.Brain chemiluminescence and oxidative stress in hyperthyroid rats. *Biochemical Journal*, **263**:273-277,1989.
- ADAMO,A.M.; ALOISE, P.A.; SOTO, E.F.; PASQUINI, J.M. Neonatal hyperthyroidism in the rat produce an increase in the activity of microperoxisomal marker enzymes coincident with biochemical signs of accelerated myelination. *Journal of Neuroscice Research*, **25**:353-359,1990.
- ANDRADE,F.D.;GUEDES,R.C.A.;TEODÓSIO,N.R. Enhanced rate of cortical spreading depression due to malnutrition: prevention by dietary protein supplementation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **23**:889-893,1990.
- ANIELLO,F.; COUCHIE,D.; GRIPOIS,D.; NUNEZ,J. Regulation of five tubulin isotypes by thyroid hormone during brain development. *Journal Neurochemistry*, **57**:1781-1786, 1991.
- BALÁZS, R.; BROOKSBANF, B.W.L.; PASTEL, A.J. JOHNSON, A.L.; WILSON, D.A. Incorporation of (³⁵S) sulfhate into brain constituents during development and the affects of thyroid hormone on myelination. *Brain Research*, **30**:273-293,1971.
- BARROS, K.M.F.T. Efeitos da desnutrição neonatal e/ou do tratamento com 5-HT_{1A} sobre o desenvolvimento sensório-motor e atividade exploratória em ratos. *Tese de Mestrado*, Departamento de Nutrição, UFPE, Pernambuco, 106, 1999.
- BATISTA-FILHO, M.; LIMA,E.J. da C.; COSTA,M.F.T.V.; ANDRADE-LIMA,H. de ; MARTINS,M.H. de S.; BAZANTE,M.O.; NASCIMENTO,J.S.; DANTAS,L. Y. de S.; MADRUGA,M.I.L.; VIEIRA,R.; REIS,F.M.; MARTINS,G.C.; VARELA,R.M.; GOMES,S.M.F.; LINHARES,E.R. *Pesquisa nutricional na zona da mata*. Recife, Universidade Federal de Pernambuco, 133,1968.
- BATISTA-FILHO,M.; CHAVES,N.; VARELA,R.M.; MARTINS,M.H. de S.; SALZANO,A.C.; BAZANTE,M.O.;TEIXEIRA,S.M.G.; LIMA, E.J.C.; REIS,F. M.; MARTINS,G.C.; LINHARES,E.R. Inquérito nutricional em área urbana da Zona da Mata do Nordeste Brasileiro - Água Preta - Pernambuco. *O Hospital*, **79**:139-155.1971.
- BENNET, E. L.; DIAMOND, M. C.; KRECH, D.; ROZENZWEIG, M. R. Chemical and anatomical plasticity of brain. *Science*, **146**:610-618,1964.
- BODE,H.H.;VANJONACK,W.J.; CRAWFORD,J.D. Mitigation of cretinism by breast-feeding. *Pediatrics*, **62**:13-13,1978.

- CABRAL-FILHO, J. E.; CASTRO, R. M.; TEODÓSIO, N. R. Convulsive hiperresponsiveness of rats fed the basic regional diet (DBR). In: International Symposium of nutrition, *Proceedings*. Recife, 27, 1986.
- CALVO, R.; OBREGÓN, M.J.; ESCOBAR DEL REY, F. and MORREALE DE ESCOBAR, G. The Rat Placenta and the Transfer of Thyroid Hormones from the mother to the Fetus. Effects of Maternal Thyroid Status. *Endocrinology*, **131**:357-365, 1992.
- CARRASCO, N. Iodide transport in the thyroid gland. *Biochemical and Biophysical Acta*, **1154**:65-82, 1993.
- COELHO, H.A.J.; SILVA, A.M. da; SILVA, T.N. R.; SILVA, V. dos S.; SILVA, M.C. B. da; MONCLAIR, A.B.; CARVALHO, L. da C.; ABREU, M.P. de; CARNEIRO-LEÃO, D.D.; SILVA, J.S.; BERNARDES, J.D.; LACERDA, M. das D. Inquérito de consumo e cultura alimentar, Primavera, In: *DIACONIA – Projeto de Nutrição*, Rio de Janeiro, 65-84, 1972.
- COELHO, H.A.L.; BAZANTE, M.O. Hábitos dietéticos e níveis de consumo alimentar em famílias e em pré-escolares da Zona da Mata de Pernambuco; Belém de Maria, In: *DIACONIA - Projeto de Nutrição*, Rio de Janeiro, 37-64, 1972.
- CLOS, J.; GHANDOUR, S.; EBERHART, R.; VINCENDON, G.; GOMBOS, G. The colinergic system in developing cerebellum: comparative study of normal, hypothyroid and underfed rats. *Developmental Neuroscience*, **11**:188-204, 1989.
- CORDERO, M.E.; ZVAIGHAFT, A.; MUZZO, S.; BRUNSER, D. Histological maturation of astroglial cells in the archiocortex of early malnourished rats. *Pediatric Research*, **16**:23-33, 1982.
- COSTA, J. A; SILVA, A.T.; COSTA, F.B.R.; CABRAL-FILHO, J.E.; GUEDES, R.C.A; TEODÓSIO, N.R. Alteraciones de la velocidad de conduccion del impulso em nervio mixto de rata, em um modelo de desnutricion cronica. In: “Desnutricion y funciones cerebrales superiores”, *Resúmenes de Conferências e Comunicaciones Livres*. Santiago, Universidad de la Naciones Unidas, 89, 1983.
- COUTINHO, E.M. Relações hospedeiro-parasito na esquistosomose mansônica, em função da dieta básica regional. Tese (livre-docência), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 109, 1976.
- CRNIC, L.S.; CHASE, H.P. Models of infantile undernutrition in rats: effects of milk. *Journal of Nutrition*, **108**:1755, 1978.
- DE GROOT, L.J.; LARSEN, P.R. & HENNEMANN, G. The thyroid and its diseases. 6^a ed. New York, 1996.
- DE LUCA, B.; CIOFFI, L.A.; BURES, J. Cortical and caudate spreading depression as an indicator of neural changes induced by early malnutrition in rats. *Activitas Nervosa Superior*, **19**:130-131, 1977.

- DUSSALT, J.H.; RUEL, J. Thyroid hormones and brain development. *Annual Review Physiology*, **49**:321-324, 1987.
- FAIVRE-SARRAILH, C.; RAMI, A.; FAGES, M.; TARDY, M. Effect of thyroid deficiency on glial fibrillary acidic protein (GFAP) and GFAP-mRNA in the cerebellum and hippocampal formation of the developing rat. *Glia*, **4**:276-284, 1991.
- FISCHER, D. A. AND KLEIN, A. H. Thyroid Development and Disorders of Thyroid Function in the Newborn. *The New England Journal of Medicine* **304**:702-711, 1981.
- FISHBECK, K. L.; RASMUSSEN, K. M. Effect of repeated cycles on maternal nutritional status, lactational performance and litter growth in ad libitum-fed and chronically food-restricted rats. *Journal of Nutrition*, **117**:1967-1975, 1987.
- FRIEDDMAN, D.J.; ZEMAN, F.J. Thyroid, pituitary and hypothalamic hormone levels in neonatal rat pups following maternal protein deficiency. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **161**:275, 1979.
- GAMBETTI, P.L.A.; IZZUTO, N.N.; SHAFER, B.; PFAFF, L. Synapses and malnutrition: quantitative ultrastructural study of rat cerebral cortex. *Experimental Neurology*, **43**:464-473, 1974.
- GUEDES, R.C.A.; DO CARMO, R.J. Influence of ionic alterations produced by gastric washing on cortical spreading depression. *Experimental Brain Research*, **39**:341-349, 1980.
- GUEDES, R.C.A. On some conditions that influence cortical spreading depression. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **56**:445-455, 1984.
- GUEDES, R.C.A.; ANDRADE, A.F.D.; CABRAL-FILHO, J.E. Propagation of cortical spreading depression in malnourished rats: facilitatory effect of dietary protein deficiency. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **20**:639-642, 1987a.
- GUEDES, R.C.A.; ANDRADE, A.F.D.; CAVALHEIRO, E.A. Excitatory amino acids and cortical spreading depression. In: Cavaleiro, E.A.; Lehman, J. & Turski, L. (Eds.). *Frontiers in Amino Acid Research*, Alan R. Liss, New York, 667-670, 1988.
- GUEDES, R.C.A.; AMORIM, L.F.; MEDEIROS, M.C.; SILVA, A.T.; TEODÓSIO, N.R. Effect of dietary lithium on cortical spreading depression. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **22**:923-925, 1989.
- GUEDES, C.A.; BARRETO, J.M. Effect of anesthesia on the propagation of cortical spreading depression in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **25**:393-397, 1992.

- GUEDES, R.C.A.; FRADE,S.F. Effect of ethanol on cortical spreading depression. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **26**:1241-1244,1993.
- GUEDES,R.C.A.; PEREIRA-DA-SILVA,M.S. Effect of pre-and postnatal propylthiouracil administration on the propagation of cortical spreading depression of adults rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **26**:1123-1128, 1993.
- GUEDES, R.C.A.; CAVALHEIRO, E. A. Blockade of spreading depression in chronic epileptic rats: reversion by diazepam. *Epilepsy Research*, **27**: 33-40,1997.
- HARRIS,A.R.C.;FANG,S.L.;AZIZI,F.;LIPWORTH,L.;VAGENAKIS,A.G.;BRAVERMAN ,L.E. Effect of starvation on hypothalamic-pituitary-thyroid function in rat. *Metabolism*. **27**:1074-1083, 1978.
- HAYS,M.T. Absorption of oral thyroxine in man. *Journal of Clinical and Endocrinol Metabolism*,**28**:749-756,1968.
- JANNINGS, A. S.; CRUTCHFIELD, F. L. and DRATMAN, M. B. Effect of Hypothyroidism and Hyperthyroidism on Triiodothyronine Production in Perfused Rat Liver. *Endocrinology*. **114**:992-997, 1984.
- JANSSON,L.; IVARSSON,S.;LARSSON,;EKMAN,R. Tri-iodothyronine and thyroxine in human milk. *Acta Pediatrics Scandinavica*,**72**:703-705,1983.
- KOLDOVSKY,O.M.D. Minireview hormones in milk. *Life Science*, **26**:1833,1980.
- LEÃO, A.A.P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *Journal of Neurophysiology*, **7**:359-390, 1944.
- LEÃO,A.A.P. Futher observations on the spreading depression of activity in cerebral cortex. *Journal of Neurophysiology*, **10**:409-414, 1947.
- LEÃO,A.A.P. The slow voltage variation of cortical spreading depression of activity. *Journal of Neurophysiology*, **3**:315-321, 1951.
- LEVITSKY,D.A.;BARNES,R.H. Nutritional and enviromental interactions in the development of the rat: Long-term effects. *Science*. **176**:68-71,1972.
- LINO, S. GREER, M. A. Thyroide function in the rat during pregnancy and lactation. *Endocrinology*, **68**:253-262,1961.
- LO PREST,J.S.; GRAY,D.; NICOLOFF,J.T. Influence of fasting and refeeding on 3,3,5'-triiodothyronine metabolism in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **72**:130-134, 1991.
- LORSCHIEDER, F. L.; REINEKE, E. P. The influence of lactational intensity and exogenous prolactin on serum thyroxine levels in the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **138**:1116-1118,1971.

- LUCENA, M.A.F.; MARTINS, M.H.S. Inquérito de consumo e cultura alimentar; Tejiptó, Primavera, In: *DIACONIA – Projeto de Nutrição*, Rio de Janeiro, 87-110, 1972.
- MAKAWITI, D.W.; LOMO, P.O.; KONJI, V.N.; OLOOWOKERE, J.O. Altered 3,5,3'-triiodothyronine thyroxine ratio in experimentally induced kwashiorkor and obesity in rats. *International Journal Vitaminology and Nutrition Research*, **65**:132-136, 1994.
- MARTA, C.B.; ADAMO, A.M.; SOTO, E.F.; PASQUINI, J.M. Sustained neonatal hypertiroidism in the rat affects myelination in the central nervous system. *Journal of Neuroscience Research*, **53**:251-259, 1998.
- MELO, A.V. de; BAEZ, M.C.; BAZANTE, M.O.; COELHO, H.; MARTINS, M.H.; PAES, A.G.; DANTAS, L.Y. de S. Inquérito de consumo alimentar no município de Catende, Zona da Mata Sul de Pernambuco. *Boletim Instituto Nutrição*. Universidade Federal de Pernambuco, **2**:7-49, 1973.
- MONTEIRO, J.S. Desnutrição, estimulação ambiental e desenvolvimento do sistema nervoso: um estudo eletrofisiológico. *Tese de mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, 87, 1995.
- MONTEIRO, J.S.; TEODÓSIO, N.R. E GUEDES, R.C.A. Long-lasting Effects of Early Environmental Stimulation on Cortical Spreading Depression in Normal and Early Malnourished Adult Rats. *Nutritional Neuroscience*, **3**:29-40, 2000.
- MONTGOMERY, D.C. Design and Analysis of Experiments. 2^a ed. Editora John Wiley e Sons, New York, 538, 1984.
- MORGANE, P.J.; MILLER, M.; KEMPER, T.; STERN, W.; FORBES, W.; HALL, R.; BRONZINO, J.; HAWRYLEWICZ, E.; RESNICK, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **2**:137-230, 1978.
- MORGANE, P.J.; AUSTIN-LA FRANCE, R.J.; BRONZINO, J.D.; TONKESS, J.; GALLER, J.R. Malnutrition and the developing central nervous system. In: ISAACSON, K.L.; JENSEN, K.F. The vulnerable brain and environmental risks. New York, *Plenum Press*, **2**-42, 1992.
- MORGANE, P.J.; AUSTIN-LA FRANCE, R.J.; BRONZINO, J.D.; TONKESS, J.; DÍAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J.R. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **17**:91-128, 1993.
- MORREALE DE ESCOBAR, G.; CALVO, R.; OBREGON, M.J. and DEL REY ESCOBAR, F. Contribution of maternal thyroxine to fetal thyroxine pools in normal rats near term. *Endocrinology*. **126**:2765-2767, 1990.

- MORREALE DE ESCOBAR,G.; CALVO,R.; DEL REY ESCOBAR, F. And OBREGON, M. J. Thyroid Hormone in Tissues from Fetal and Rats, *Endocrinology*. **134**:2410-2415,1994.
- MOURA.E.G.;RAMOS,C.F.;NASCIMENTO,C.C.A.;ROSENTHAL,D.;BREITENBACH, M.M.D. Thyroid function in fasting rats: variations in ¹³¹I uptake and transient decrease in peroxidase activity. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*, **20**:407-410,1987.
- NATAF,B. and STEF,M. Debut du fonctionnement de la thyroide foetal du rat.in: BONET,B. And HERRERA, E. Different response to maternal hypothyroidism during the first and second half of gestation in the rat. *Endocrinology*.**122**:450-455,1988.
- NATHANIEL, E.J.H.;NATHANIEL, D.R.; NATHANIEL, L.M.; BURT, S.; PANFILI, F. Effect of thyroxine replacement therapy on the grow patterns of body, brain and cerebellum in the neonatal hypothyroid rat. *Experimental Neurology*, **101**: 1-16, 1988.
- NICHOLSON,J.L.; ALTMAN, J. The effects of early hypo-and hyperthyroidism on the development of rat cerebellar cortex.I. Cell proliferation and diferentiation. *Brain Research*, **44**:13-23,1972.
- NIEMI,W.D.;SLIVINSKI,K.;AUDI,J.;CARPENTER,D.O. Propylthiouracil treatment reduces long-term potentiation in area CA1 of neonatal rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, **210**:127-129,1996.
- NOWAK,T.S.J.;MUNRO,H.N. Effects of protein-caloric malnutrition on biochemical aspects of brain development. In: WURTMAN,R.J.;WURTMANS,J.J. *Nutrition and the Brain: Control of feeding behavior and biology of the brain in protein-caloric malnutrition*. New York, Raven Press,193-260,1977.
- OBERKOTTER,L.V.;TENORE,A. Separation and radiommuoassay of T₃ and T₄ in human breast milk. *Hormone Research*,**17**:11-18,1983.
- OBERKOTTER,L.V. & RASMUSSEN,K.M. Changes in plasma thyroid hormone concentrations in chronically food-restricted female rats and their offspring during suckling. *Journal of Nutrition*,**122**:435, 1991.
- OBREGON,M.J.;MALLOL,J.; PASTOR,R.;MORREALE DE ESCOBAR,G., and ESCOBAR DEL REY,F. L-Thyroxine and 3,5,3'-triiodo-L-thyronine in rat embryos before onset of fetal thyroid function. *Endocrinology*,**114**:305-307,1984.
- PACHECO-ROSADO,J.; QUEVEDO-CORONA,L.; ZAMUDIO-HERNÁNDEZ,R.S.; CHAMBERT,G. T₃ Deficiency Prolongs Convulsions Induced by Acute Pentylenetetrazole. *Hormone and Metabolic Research*. **29**:577-579, 1997.

- PASQUINI, J.M.; ADAMO, A.M.; KREDA, S.; BONGARZONE, R.; SOTO, E.F. Biochemical changes produced by sustained neonatal hyperthyroidism in myelin isolated from the CNS. *Journal of Neurochemistry*, **57**: Suppl S124, 1991.
- PASQUINI, J.M.; ADAMO, A.M. Thyroid hormones and the central nervous system. *Developmental Neuroscience*, **16**:1-8, 1994.
- PASSOS, M.C.F. Alterações na regulação da função tireóidea a curto e longo prazo e na composição do leite na desnutrição protéica durante a lactação. *Tese de Doutorado*, UERJ/Rio de Janeiro, 79, 1999.
- PEDROSA, M.L.; MORAES-SANTOS, T. Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **20**:331, 1987.
- PELTON, E.W.; BASS, N.H.; Charlottersville. Adverse effects of excess thyroid hormone on the maturation of rat cerebrum. *Archives of Neurology*, **29**:145-150, 1973.
- PEREIRA-DA-SILVA, M.S. A depressão alastrante da atividade elétrica cortical em ratos hipotiroideos e desnutridos. *Tese de mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, 73, 1996.
- PORTERFIELD, S.P.; HENDRICH, C.E. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development-current perspectives. *Endocrinology of Reviews*, **14**:94-106, 1993.
- RAMOS, C.F.; LIMA, A.P.S.; TEIXEIRA, C.V.; BRITO, P.D.; MOURA, E.G. Thyroid function in post-weaning rats, which dams were fed a low protein diet during suckling. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **30**:133-137, 1997.
- RAPOPRT, B.; SPAULDING, S.W. mechanism of action of thyrotropin and other thyroid growth factors. In: Braverman, L.E. & Utiger, R.D. *The Thyroid. A fundamental and Clinical Text*. 7.ed. Philadelphia, 207, 1996.
- RIBEIRO, C.R.S. Efeito da desnutrição protéica durante o período de lactação sobre a função tireóidea de ratas lactentes e de seus filhotes. *Tese de Doutorado*. Rio de Janeiro, 1997.
- ROCHA-DE-MELO, A.P.; GUEDES, R.C.A. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **30**:663-669, 1997.
- RUIZ DE OÑA, C.; MORREALE DE ESCOBAR, G.; CALVO, R.; ESCOBAR DEL REY, F. and OBREGON, M.J. Thyroid hormones and 5'deiodinase in the rats fetus late in gestation: Effects of maternal hypothyroidism. *Endocrinology*, **128**:422-432, 1991.

- SACK,J.;AMADO,O.;LUNENFELD,B. Thyroxine content in human milk. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*,**45**:171-173,1977.
- SAVU,L.;VRANCKX, R.;ROUAZE-ROMET,M.; MAYA, M.; NUÑEZ, E.A, TRÉTON, J.; FLINK,I.L. A senescence up-regulated protein: the rat thyroxine-binding globulin (TBG). *Biochimica et Biophysica Acta*,**1097**:19, 1991.
- SAWITZKE,A.L.; BARLOW,C.;KEMP,J.W.; WOODBURY,D.M. A comparison of thyroid function in DBA/2J and C57 BL/6J mice. *Epilepsia*, **29**:514-522, 1988.
- SCHWEGLER,H. Ttransient postnatal thyroxine treatment leads to an increased number of cholinergic neurons in the medial septum and to a higher density of cholinergic fibers in hippocampal CA3 in rats. *Neuroscience Letters*, **198**:197-200,1995.
- SEYFRIED,T.N.;GLASSER,G.H.;YU,R.K.Thyroid hormone influence on the susceptibility of mice to audiogenic seizures. *Science*, **205**:598-600, 1979.
- SHRADER,R.E.;HASTINGS-ROBERTS,M.H.; FERLATTE, M.I. & ZEMAN, F.J. Effect of prenatal protein deprivation on fetal thyroid morphology in the rat. *Journal of Nutrition*, 107:213, 1977a.
- SHRADER,R.E.; FERLATTE, M.I.; HASTINGS-ROBERTS,M.H. & ZEMAN, F.J. Thyroid function in prenatally protein-deprived rats. *Journal of Nutrition*, **107**:221-229,1977b.
- SILVA, A.T.; COSTA, F.B.R.; COSTA,J.A.; TEODÓSIO,N.R.; CABRAL - FILHO,J.E.; GUEDES,R.C.A . Siatic nerve conduction velocity of malnourished rats fed the human "basic regional diet" of the northeast of Brasil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **20**:383-392, 1987.
- SILVEIRA, M.F.G.; NEVES, E.S.; NEVES, S.R.S.; SILVA, I.M.S.; PEREIRA, S.S.L. CATANHO, M.T.J.A. A indução do hipertiroidismo materno antes ou durante a prenhez altera a secreção e a produção dos hormônios tiroideanos dos filhotes de ratos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **23**: 395-396.
- SMART,T.L.;DOBBING,J. Vulnerability of developing brain. VI. Relative effects of foetal and early postnatal undetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain Research*, **33**:303-314, 1971.
- STEPHAN,J.K.; CHOW, B.; FRHMAN, L. A.; CHOW, B.F. Relationship of grwth hormone to the growth retardation associated with maternal dietary restriction. *Journal of Nutrition*,**101**:1453, 1971.
- STRBAK,V.;MACHO,L.;KNOPP,J.;STRUHÁROVÁ,E. Thyroxine content in mother milk and regulation of thyroid function of suckling rats. *Endocrinologia Experimentalis*, **8**:59-69,1974.

- STUBBE, P.; SCHULTE, F.J.; HEIDEMANN, P. Iodine deficiency and brain development. *Bibli Nutr Dieta*, **38**:206-208, 1986.
- SUGAYA, E.; TAKATO, M.; NODA, Y. Neuronal and glial activity during spreading depression in cerebral cortex of cat. *Journal of Neurophysiology*, **38**:822-841, 1975.
- SZERB, J.C. Glutamate release and spreading depression in the fascia dentata in response to microdialysis with high KT: role of the glia. *Brain Research*, **524**:259-265, 1991.
- TAKEUCHI, T.; SITIZYO, K.; HARADA, E. Postnatal development of EEG patterns, catecholamine contents and myelination, and effect of hyperthyroidism in *Suncus* brain. *Behavioural Brain Research*, **91**:193-206, 1998.
- TENORE, A.; PARKS, J.S.; GASPARO, M.; KOLDOVSKY, O. Thyroidal response to peroral TSH in suckling and weaned rats. *American Journal of Clinical Physiology*, **238**:428-430, 1980.
- TEODÓSIO, N.R.; VARELA, R.M.; BION, F.M.; SIQUEIRA CAMPOS, F.A.C.; LIRA, R.B.; FLORES, H. Protein deficiency and calorie deficiency in etiology of early malnutrition in rats. In: International Congress of Nutrition, XII, San Diego, *Proceedings*, Abstract n.1013, 1981.
- TEODÓSIO, N.R.; FLORES, H.; MAYER, R.; MARTINS, F.; CAMPOS, F.; RAMALHO, R.A. Efecto diferencial de la desnutrición sobre el sistema nervioso central. In: Seminario Internacional "Desnutrición y funciones cerebrales superiores". *Resúmenes de Conferencias y Comunicaciones Libres*. Santiago, Universidad de las Naciones Unidas, 105, 1983.
- TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E.S.; ROMANI, S.A.M.; GUEDES, R.C.A. A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, **40**:533-547, 1990.
- TEODÓSIO, N.R.; PEREZ, E.P.; ALVES, A.J.; DIMENSTEIN, W.; GUEDES, R.C.A. A New Dietary Supplement Based on Bovine Blood: Recovering Brazilian Children from Malnutrition. *Nutritional Neuroscience*, **3**:73-86, 2000.
- TIMIRAS, P.S. Thyroid hormones, brain monoamines and the aging brain. In: VEZZADINI, P.; FACCHINI, A.; LABO, G (eds): "Neuroendocrine System and Aging". Rijswijk: *Urage*, 51-57, 1986.
- UTIGER, R.D. The thyroid: physiology, thyrotoxicoses, hypothyroidism, and the Painful Thyroid. In: FELIG, P.; BAXTER, J.D.; FROHMAN, L.A. *Endocrinology and Metabolism*. 3.ed. New York, 435-519, 1995.

- VAN HAASTEREN, G. A.; VAN TOOR, H.; KLOOTWIJK, W.; HANDLER, B.; LINKELS, E.; VAN DER SCHOOT, P.; VAN OPHEMERT, J.; DE JONG, F. H.; VISSER, T. J. E DE GREEF, W. J. Studies on the role of TRH and corticosterone in the regulation of prolactin and thyrotrophin secretion during lactation. *Journal of Endocrinology*, **148**:325, 1996.
- VAN WASSENAER, A.G.; KOK, J.H.; DEKKER, F.W.; ENDERT, E.; VIJLDER, J.J.M. Thyroxine administration to infants of less than 30 weeks gestational age decreases plasma tri-iodothyronine concentrations. *European Journal of Endocrinology*, **139**:508-515, 1998.
- VARMAN, S.K.; COLLINS, M.; ROW, A.; HALLER, W.S.; VARMA, K. Thyroxine, triiodothyronine, and reverse triiodothyronine concentration in human milk. *Journal of Pediatrics*, **93**:803-806, 1978.
- VIEIRA-NETO, A.; GUEDES, R.C.A.; TEODÓSIO, N.R. Lasting effects of acute dehydration and post-weaning undernourishment on cortical spreading depression in adult rats. *Experientia (Basel)*, **37**: 738-740, 1980.
- WEICHSEL, M.E.; DAWSON, L. Effects of hypothyroidism and undernutrition on DNA content and thymidine kinase activity during cerebellar development in the rat. *Journal of Neurochemistry*, **26**:675-681, 1976.
- WILSON, J.D.; FOSTER, D.W. *Tratado de Endocrinologia* – I. Ed. Manole. 1017, 1988.
- WINICK, M (ed.). *Current Concepts in Nutrition: Nutrition and Brain Development*. John Wiley e Sons: New York. **1**, 1972.
- YAGIL, R.; ETILIZON, Z. BERLYNE, G. M. Changes in rat milk quantity and quality due to variations in litter size and high ambient temperature. *Lab Na Sci*. **26**:33-37, 1976.
- YEH, Y.Y. Maternal dietary restriction causes myelin and lipid deficits in the brain of offspring. *Journal of Neuroscience Research*, **19**:357-363, 1988.

Ata da defesa da dissertação de Regina da Silva Santos, Aluna do Curso de Mestrado em Nutrição - área de concentração: Bases Experimentais da Nutrição, realizada em 12 de Dezembro de 2000.

Às quatorze horas e vinte e cinco minutos, do dia doze de dezembro de dois mil, reuniu-se a Comissão julgadora composta pelos seguintes professores: Egberto Jaspas de Moura, Tereza Jansen Catão e Raul Manhães de Castro, para proceder a arguição da candidata ao título de Mestre em Nutrição Regina da Silva Santos e julgamento do seu trabalho intitulado "Nutrição hipertrofia dismo precoce e desenvolvimento cerebral: Estudos em ratos recém-nascidos". A dissertação teve a Orientação do Prof. Rubem Carlos Araújo Guedes. Titulada a sessão Prof. Tânia Búcia Montenegro Stamford coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição leu os artigos 50, 51 e 54 do Regulamento Interno do Mestrado em Nutrição, o qual disciplina a realização de defesa de dissertação, passando em seguida a presidência dos trabalhos ao Prof. Raul Manhães de Castro, que convidou a candidata para fazer a explanação da sua dissertação ao prazo regulamentar de trinta minutos. Após a explanação, a mestranda foi arguida pela Banca na seguinte ordem: 1º) Prof. Egberto Jaspas de Moura; 2º) Prof. Tereza Jansen Catão e finalizando o 3º) Prof. Rubem Carlos Araújo Guedes, digo o 3º) Prof. Raul Manhães de Castro. Durante a arguição, a mestranda defendeu os pontos levantados e acatou as sugestões feitas pela Banca Examinadora. Em seguida o senhor presidente concedeu a palavra ao Orientador da mestranda o Prof. Rubem Carlos Araújo Guedes que fez seu pronunciamento agradecendo a banca examinadora pelos argumentos enriquecedores sobre o trabalho, a prof.

Fereza Jansen coordenadora do Programa de Pós-graduações em Biofísica que custeou a vinda do Prof. Egherto Gaspar para compor a Banca, agradeceu também a coordenação do Pós-graduação em Física por custear a hospedagem o referido Professor e Parabenizou a mestrandia pela realização do trabalho. Dando prosseguimento, o prof. Paul Manhães suspendeu a sessão, a fim de ser emitido o julgamento do trabalho e da defesa. Reaberta a sessão, foi anunciado o resultado, tendo a Comissão julgadora concluído em atribuir a honraria "Aprovado com Distinção" por unanimidade. Nada mais havendo a tratar foi encerrada a sessão da qual lavrei a presente ata que vai por mim assinada e por quem de direito. Recife, 12 de dezembro de 2000.
Secretário

Heliana Santos Gesteira

Paul Manhães M. Stamford (coordenador)

Egherto Gaspar de

Marie Tereza P. P. P.

Paul Manhães de Castro

Rubem Guedes

Regina da Silva Santos

1º) Examinados

2º) Examinados

3º) Examinados

Orientador

Mestrandia