



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

KÁSSYA MYCAELA PAULINO SILVA

AVALIAÇÃO DO NÍVEL BASAL E DO CONTROLE BARORREFLEXO
DA ATIVIDADE DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO DA PROLE DE
RATOS QUE SOFRERAM DESNUTRIÇÃO PROTEICA DURANTE A
GESTACÃO E A LACTAÇÃO

Kássya Mycaela Paulino Silva

**Avaliação do Nível Basal e do Controle Barorreflexo da Atividade
do Sistema Nervoso Simpático da Prole de Ratos que Sofreram
Desnutrição Proteica Durante a Gestação e a Lactação**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientador: **Prof. Dr. João Henrique da Costa Silva**

Recife – PE | 2015

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Gláucia Cândida, CRB4-1662

- S586a Silva, Kássya Mycaela Paulino.
Avaliação do nível basal e do controle barorreflexo da atividade do sistema nervoso simpático da prole de ratos que sofreram desnutrição proteica durante a gestação e a lactação / Kássya Mycaela Paulino Silva. – Recife: O autor, 2015.
155 f.: il. ; 30 cm.
- Orientador: João Henrique da Costa Silva.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, 2015.
Inclui referências e apêndice.
1. Desnutrição Proteica. 2. Hipertensão. 3. Barorreflexo. I. Silva, João Henrique da Costa (Orientador). II. Título.

616.8 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2015-163)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação

Centro de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento



ATA DA CENTÉSIMA SEPTUAGÉSIMA OITAVA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, NO DIA 28 DE JULHO DE 2015.

Aos vinte e oito dias do mês de julho de dois mil e quinze, às 9:00 horas, no Auditório do 2º andar do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, em sessão pública, teve início a defesa da Dissertação intitulada **“AVALIAÇÃO DO NÍVEL BASAL E DO CONTROLE BARORREFLEXO DA ATIVIDADE DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO DA PROLE DE RATOS QUE SOFRERAM DESNUTRIÇÃO PROTEICA DURANTE A GESTAÇÃO E A LACTAÇÃO”** da aluna KÁSSYA MYCAELA PAULINO DA SILVA, na área de concentração de Neurociências, sob a orientação do Prof. João Henrique da Costa Silva. Cumpriu todos os demais requisitos regimentais para a obtenção do grau de MESTRE do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. A Banca Examinadora foi indicada pelo colegiado do programa de pós-graduação Em 26/02/2015, na sua 1ª Reunião ordinária e homologada pela Diretoria de Pós-Graduação, através do Processo Nº23076.028392/2015-88 em 29/06/2015 composta pelos Professores: Cláudia Jacques Lagranha, do Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte do Centro Acadêmico de Vitória da UFPE/CAV; Ana Durce Oliveira da Paixão, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco; Alice Valença Araújo do Curso de Saúde Coletiva do Centro Acadêmico de Vitória da UFPE/CAV. Após cumpridas as formalidades, a candidata foi convidada a discorrer sobre o conteúdo da Dissertação. Concluída a explanação, a candidata foi argüida pela Banca Examinadora que, em seguida, reuniu-se para deliberar e conceder ao mesmo a menção (Aprovado/Reprovado/em exigência) **APROVADA** da referida Dissertação. E, para constar, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada, Secretária da Pós-Graduação, e pelos membros da Banca Examinadora.

Recife, 28 de julho de 2015.

Solange de Lima Martins

BANCA EXAMINADORA

Profª Cláudia Jacques Lagranha - CPF Nº _____

Profª Ana Durce Oliveira da Paixão - CPF Nº: _____

Profª Alice Valença Araújo - CPF Nº: _____

Aos pacientes!

Desejo que num futuro próximo todo esse conhecimento possa romper os muros da academia e chegar aos nossos queridos e tão necessitados pacientes... Afinal, estamos aqui para caminhar de mãos dadas através da jornada eterna da vida e, se produzimos ciência, é somente para ajudá-los, minimizando suas dores e devolvendo-lhes a saúde.

AGRADECIMENTOS

Nunca estamos sós, é verdade. É bom saber que temos pessoas em quem podemos confiar... Com muito respeito, os meus sinceros agradecimentos...

A *Deus*, pelo dom da vida! Que muito me ajudou e por isso cheguei até aqui. Deu-me a oportunidade de amadurecer através dos reveses do caminho, suprimindo-me de força, coragem e sabedoria. Sabendo que a fé na vida futura e na justiça divina foram as únicas capazes de trazer a paciência de que precisava, muitas vezes voltei os olhos para o céu e tentei me elevar, pelo pensamento, acima da vida material e assim pude ver que teu jugo é suave e teu fardo é leve... Sempre, assim seja em minha existência!

A minha amada mãe, *Maria José*, a quem devo a educação e o caráter, sinônimo de força que eu busco sempre alcançar. Que um dia eu consiga ser para os meus filhos o que você é para mim. Ao meu amado pai, *Manoel Paulino*, que tudo fez e conseguiu ser o maior pai do mundo, trago comigo um exemplo de honestidade e resignação. Pelos seus olhos vejo um mundo com mais amor.

Aos meus irmãos, *Brunno* e *Lucas*, por nossa convivência. Que vocês possam entender as lacunas que deixei, sabendo que os amo e sempre os levei comigo.

A minha vovó querida, *dos Anjos*, ser que tanto amo. Que a cada semana que eu saía de casa, passava em sua casa, lhe dava um beijo e me despedia. Obrigada por todas as vezes que me abençoou e todo o carinho que me cerca até hoje.

A toda minha *família*, quero dizer-lhes que a ausência física, ausência da voz, das risadas e da participação nas longas conversas nos almoços de domingo em que se conta todas as histórias das nossas infâncias, foram sacrificados em prol de um objetivo maior, talvez egoísta, mas muito verdadeiro de minha parte. Saibam que eu tenho orgulho de fazer parte dessa grande família.

Ao meu orientador, prof. Dr. *João Henrique da Costa Silva*, por me aceitar e me mostrar o caminho da pesquisa. João, se hoje vejo a academia e a pesquisa sob

outro olhar, devo muito a você pelas oportunidades e experiências ao longo do mestrado. Graças à nossa convivência, decidi dar o que acredito ser o maior passo da minha vida após o fechamento deste ciclo. Francamente, muito obrigada!

As minhas amigas... *“Eles fazem parte do mundo que eu construí e se tornaram alicerces do meu encanto pela vida. A gente não faz amigos, reconhece-os”* (Vinícius de Moraes). Por tudo o que fizeram por mim, saibam que a caminhada foi mais fácil especialmente pelas amigas que o caminho com a fisioterapia me concedeu, *Roberta Ferreira e Tânia Arruda*; e que o mestrado me ofereceu, *Viviane Nogueira e Monique Assis*. Todas as viagens, as risadas e os momentos difíceis mostram porque Deus as trouxe para minha vida. Amo vocês meninas.

Ao *Brito Alves*, amigo que admiro bastante pela sua persistência e dedicação a pesquisa. Ao *Davi Felipe, Diorginis Soares e Talitta Ricarly*, por deixarem mais leve a rotina no laboratório.

Aos amigos técnicos, que de forma tão competente colaboraram com a execução deste projeto. *Anderson*, pelas longas conversas sobre eletricidade, *Danilo*, pela considerável ajuda no preparo das drogas e na gaiola de faraday e *Carlos Alberto (Beto)* pelos primeiros diálogos sobre eletroneurografia.

A *D. Míria*, pelo respeito e empenho com que cuida do nosso laboratório.

Aos professores e colegas de mestrado e do centro acadêmico de Vitória - CAV, que caminharam comigo e eu pude dividir momentos marcantes.

Aos meus colegas de profissão e de trabalho, que de tão importante na minha vida, eu nunca consegui realmente me afastar. A rotina de fisioterapeuta na UTI me faz hoje uma pessoa melhor e definiu o meu próximo passo. Assim como me trouxe a ideia do mestrado, manifestou também a luz, quando tudo era escuridão.

Nesta ocasião não caberia aqui todos os nomes e não poderia cometer o deslize de esquecer alguém, então agradeço a todos que contribuíram de maneira consciente ou mesmo indiretamente para a consolidação desse estudo, e aqueles que puramente torceram por minha conquista. Todos, sem nenhuma exceção, foram muito importantes para mim e para a concretização deste sonho.

Recebam, com imenso carinho meu “muito obrigada!”.

***"A Ciência e a Religião são as duas alavancas da inteligência humana.
Uma revela as leis do mundo material, e a outra as leis do mundo moral."***

(A Aliança da Ciência com a Religião, em O Evangelho Segundo o Espiritismo)

No dia em que ambas navegarem juntas, teremos então cumprido volumosa parte
da nossa evolução!

RESUMO

Estudos buscam esclarecer a relação entre desnutrição proteica em fase crítica do desenvolvimento e surgimento de hipertensão arterial na vida adulta, entretanto os mecanismos que participam deste processo ainda não são totalmente conhecidos. Neste estudo investigamos as repercussões da desnutrição proteica perinatal (gestação e lactação) sobre o nível basal e o controle barorreflexo da atividade do sistema nervoso simpático da prole. Ratas prenhes foram alimentadas com dieta hipoproteica (8% de proteína, grupo experimental) ou com dieta normoproteica (17% de proteína, grupo controle) durante o período perinatal. Após o desmame, a prole de ratos machos recebeu dieta padrão para animais de laboratório e os estudos funcionais foram realizados aos 90 dias de vida. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo comitê de ética em utilização animal da UFPE (processo nº 23076.016256/2013-83). Para registro direto das variáveis hemodinâmicas e infusão das drogas, foram implantadas cânulas na artéria e veia femoral, respectivamente. Os níveis de atividade autonômica foram estimados através de métodos lineares e não lineares de análise da variabilidade da pressão sistólica e intervalo de pulso em animais conscientes e anestesiados, enquanto a eficiência do mecanismo barorreflexo em regular a pressão arterial foi avaliado através de métodos indiretos de sequência espontânea e de forma induzida mediante infusão de fenilefrina e nitroprussiato de sódio. Além disso, foi realizado implante de eletrodo bipolar na cadeia simpática em nível L3-L5 para registro direto da atividade elétrica do nervo lombar em animais anestesiados. Os resultados demonstram que ratos submetidos à desnutrição proteica perinatal apresentam desbalanço autonômico para o coração, com aumento do componente de baixa frequência no espectro da pressão sistólica e intervalo de pulso, aumento do índice simpatovagal para o coração e aumento dos padrões OV, relacionados ao tônus simpático cardiovascular. Além disso, observamos a integridade do controle barorreflexo da pressão arterial em todas as doses avaliadas, uma vez que os animais não anestesiados submetidos à restrição proteica apresentaram sensibilidade barorreflexa semelhante aos controles. Em condições de anestesia, o registro direto do nervo lombar em ratos desnutridos não foi diferente dos seus pares, demonstrando que o controle barorreflexo da atividade nervosa simpática lombar está preservado neste modelo experimental. Esses achados apontam que o desenvolvimento da hipertensão arterial na prole submetida à desnutrição proteica perinatal não está relacionada à disfunção do barorreflexo em animais conscientes e anestesiados. Sugerimos que outros mecanismos centrais e periféricos possam estar envolvidos no surgimento e manutenção dos níveis elevados de pressão arterial neste modelo experimental.

Palavras-chave: Desnutrição proteica. Hipertensão arterial. Barorreflexo. Atividade simpática.

ABSTRACT

Studies seek to clarify the relationship between protein malnutrition in critical stage of development and emergence of hypertension in adulthood, however the mechanisms involved in this process are not yet fully known. We investigated the effects of perinatal protein malnutrition (pregnancy and lactation) on the baseline and the baroreflex control of the sympathetic nervous system activity on the offspring. Pregnant rats were fed a low protein diet (8% protein, experimental group) or normal protein diet (17% protein, control group) during the perinatal period. After weaning, the male offspring of rats received standard diet to laboratory animals and functional studies were performed at 90 days of life. All experimental protocols were approved by the Ethics Committee on Animal use of UFPE (process n° 23076.016256 / 2013-83). For the direct recording of hemodynamic variables and for the infusion of drugs, cannulas were implanted in the femoral artery and vein, respectively. The autonomic activity levels were estimated by linear and nonlinear methods of analysis of the variability of systolic and pulse interval in conscious and anesthetized animals. The efficiency of the baroreflex mechanism in regulating the blood pressure was evaluated by indirect methods of sequence and form spontaneously induced by phenylephrine and sodium nitroprusside infusion. We also performed bipolar electrode implantation in the sympathetic chain at L3-L5 level for direct recording of the electrical activity of the lumbar nerve in anesthetized animals. The results show that rats with perinatal protein malnutrition have autonomic imbalance to the heart, with increased low frequency component in the spectrum of systolic and pulse interval, increased sympathovagal index to the heart and increase the standards 0V, related to the tone cardiovascular friendly. In addition, we observe the integrity of baroreflex control of blood pressure in all evaluated doses, since unanesthetized animals submitted to protein restriction had baroreflex sensitivity similar to controls. In anesthesia conditions, the record of straight lumbar nerve in malnourished rats was not different from their peers, demonstrating that the baroreflex control of lumbar sympathetic nerve activity is preserved in this experimental model. These findings indicate that the development of hypertension in offspring submitted to perinatal protein malnutrition is not related to the baroreflex dysfunction in conscious and anesthetized animals. We suggest that other central and peripheral mechanisms may be involved in the emergence and maintenance of high levels of blood pressure in this experimental model.

Keywords: Protein Malnutrition. Hypertension. Baroreflex. Sympathetic Activity.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Representação esquemática do barorreflexo arterial	27
Figura 2. Representação esquemática da integração neuronal no sistema nervoso central diante da ativação do barorreflexo arterial	29

RESULTADOS

Figura 3. Parâmetros cardiovasculares basais de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida	51
Figura 4. Parâmetros de variabilidade cardíaca de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida	52
Figura 5. Avaliação não linear da variabilidade cardíaca de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida	56
Figura 6. Sensibilidade barorreflexa espontânea de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida	57
Figura 7. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade basal do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida	58
Figura 8. Parâmetros de variabilidade cardíaca de ratos machos anestesiados com 90 dias de vida	64
Figura 9. Avaliação não linear da variabilidade cardíaca de ratos machos anestesiados com 90 dias de vida	66
Figura 10. Sensibilidade barorreflexa espontânea de ratos machos anestesiados com 90 dias de vida	67

Figura 11. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida submetidos à ativação do barorreflexo com fenilefrina69

Figura 12. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida submetidos à inibição do barorreflexo com nitroprussiato de sódio (NPS)72

Figura 13. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida submetidos à bloqueio ganglionar com hexametônio75

LISTA DE TABELAS

MATERIAIS E MÉTODOS

Tabela 1. Composição nutricional das dietas (g/100g dieta)	41
--	----

RESULTADOS

Tabela 2. Sensibilidade barorreflexa induzida de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida	58
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIN	Do inglês, <i>American Institute of Nutrition</i>
AMPA	Do inglês, <i>α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid</i>
ANS	Atividade Nervosa Simpática
ANSL	Atividade Nervosa Simpática Lombar
BHT	Butil-hidroxitolueno
BR	Barorreflexo
BRI	Barorreflexo Induzido
CAV	Centro Acadêmico de Vitória
CEUA	Comitê de Ética em Utilização Animal
Cl⁻	Íons Cloreto
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CVLM	Região Caudal Ventrolateral do Bulbo
DC	Débito Cardíaco
DEG/ENaC	Do inglês, <i>degenerin/epithelial Na⁺ channel</i>
DNA	Do inglês, <i>deoxyribonucleic acid</i>
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EPM	Erro Padrão da Média
FC	Frequência Cardíaca
Fen	Fenilefrina
FR	Frequência Respiratória

GABA	Ácido Gama Aminobutírico
GABA_A	Receptor de GABA, tipo A
Glu	Glutamato
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HCI	Hipóxia Crônica Intermitente
HF	Do inglês, <i>High Frequency</i>
HP	Hipoproteico
H2A	Histona tipo 2A
H2B	Histona tipo 2B
H3	Histona tipo 3
H4	Histona tipo 4
IML	Coluna Intermediolateral da Medula
IP	Intervalo de pulso
i. p.	Intraperitoneal
IX NC	9° Par de Nervos Cranianos (Glosssofaríngeo)
K⁺	Íons Potássio
LF	Do inglês, <i>Low Frequency</i>
LF/HF	Índice Simpatovagal
L-NAME	Do inglês, <i>NG-nitro-L-arginine methyl ester</i>
L3-L4	Entre terceira e quarta vértebra lombar
mRNA	Do inglês, <i>messenger Ribonucleic Acid</i>
n	Número
NA	Núcleo Ambíguo

Na⁺	Íons Sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
NAV	Nodo Atrioventricular
NDMV	Núcleo Dorsal Motor do Vago
NMDA	Do inglês, <i>N-methyl-D-aspartate</i>
NP	Normoproteico
NPS	Nitroprussiato de Sódio
NSA	Nodo Sinoatrial
NTS	Núcleo do Trato Solitário
OMS	Organização Mundial de Saúde
p	Significância adotada
PA	Pressão Arterial
PaCO₂	Pressão parcial de gás carbônico no sangue arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAM	Pressão Arterial Média
PAP	Pressão Arterial Pulsátil
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PE	Polietileno
REH	Ratos Espontaneamente Hipertensos
RV	Retorno Venoso
RVLM	Região Rostral Ventrolateral do Bulbo
RVP	Resistência Vascular Periférica
SBR	Sensibilidade Barorreflexa

SNC	Sistema Nervoso Central
SNS	Sistema Nervoso Simpático
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
vs	versus
X NC	10° Par de Nervos Cranianos (Vago)
0V	Padrão simbólico, nenhuma variação
1V	Padrão simbólico, uma variação
2R1C	2 Rins 1 Clipe, Modelo de Hipertensão Renovascular
2V	Padrão simbólico, duas variações
2LV	Padrão simbólico, duas variações de mesmo sentido
2UV	Padrão simbólico, duas variações de sentido oposto

LISTA DE SÍMBOLOS

UNIDADES DE MEDIDA

bpm	batimentos por minuto
Hz	Hertz
Kcal/g	Do inglês, <i>kilocalorie/gram</i>
kHz	kilo-hertz
mg/Kg	miligrama/kilograma
mmHg	milímetros de mercúrio
mmHg²	milímetros de mercúrio ao quadrado
mmHg²/Hz	milímetros de mercúrio ao quadrado/Hertz
µg/Kg	micrograma/kilograma
ms	milissegundos
ms/mmHg	milissegundos/milímetros de mercúrio
mV	milivolts
NU	Unidades Normalizadas
Spikes/seg	Spikes/segundos
°C	Graus Celsius
%	Percentual

SUMÁRIO

1. Introdução	20
2. Revisão de Literatura	23
2.1 Controle da Pressão Arterial	24
2.2 Barorreflexo Arterial.....	25
2.3 Atividade Simpática e HAS.....	30
2.4 Desnutrição Proteica, Epigenética e Repercussões sobre o Sistema Cardiovascular	31
3. Hipótese.....	36
4. Objetivos.....	38
4.1 Objetivo Geral	39
4.2 Objetivos Específicos	39
5. Materiais e Métodos.....	40
5.1 Animais	41
5.2 Dietas	41
5.3 Indução da Desnutrição Proteica durante o Período Perinatal (Gestação e Lactação)	42
5.4 Procedimento Cirúrgico e Registro das Variáveis Hemodinâmicas em Animais Não Anestesiados	42
5.5 Avaliação do Barorreflexo	43

5.6 Estudo das Oscilações Espontâneas da Pressão Arterial e Frequência Cardíaca	44
5.6.1 Análise Linear da Variabilidade Cardiovascular	45
5.6.2 Análise Não Linear da Variabilidade Cardiovascular	45
5.7 Procedimento Cirúrgico e Registro da Atividade do Nervo Simpático Lombar em Animais Anestesiados	46
5.8 Estudo do Tônus Simpático sobre o Sistema Cardiovascular	47
5.9 Estudo das Oscilações da Atividade Nervosa Simpática Lombar	47
5.10 Análise Estatística dos Dados	48
6. Resultados	49
6.1 Dados em Animais Não Anestesiados	50
6.2 Dados em Animais Anestesiados	59
7. Discussão	77
8. Conclusão	90
Referências	92
Apêndice	
Artigo original a ser submetido à publicação: HYPERTENSION IN THE RAT OFFSPRING SUBJECTED TO PERINATAL PROTEIN MALNUTRITION IS NOT RELATED TO THE BAROREFLEX DYSFUNCTION	113

1. INTRODUÇÃO

A regulação da pressão arterial (PA) é uma das funções fisiológicas mais complexas e depende de ações integradas dos sistemas cardiovascular, renal, nervoso e endócrino. O controle efetivo dos níveis pressóricos é o resultado da atividade de sistemas de retroalimentação que operam a curto e em longo prazo (SHEPHERD e MANCIA, 1986; DAMPNEY, 2001).

Os barorreceptores arteriais configuram o mais importante mecanismo de controle a curto prazo da PA, atuando momento a momento. Localizados no arco da aorta e no seio carotídeo, próximos à bifurcação das carótidas, são os principais responsáveis pela regulação reflexa da PA (KRIEGER et al., 1982).

Como resultado da aferência barorreceptora, o sistema nervoso simpático (SNS) surge como a grande via eferente na regulação do calibre e da reatividade vascular. As evidências sobre a participação do SNS no controle das funções cardiovasculares e metabólicas normais e seu papel na gênese e manutenção de várias doenças são amplas (WYSS, 1993).

Nesse contexto, a hipertensão arterial sistêmica (HAS), condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados da PA, considerada atualmente como condição de grande morbimortalidade cardiovascular, é um exemplo de doença na qual o SNS tem participação na evolução e na apresentação clínica (lesões nos órgãos-alvo) dos pacientes (CONSOLIM-COLOMBO et al., 2005).

Como o barorreflexo (BR) representa o principal mecanismo reflexo envolvido na modulação fisiológica da atividade simpática, cogita-se que a redução na influência inibitória exercida pelos barorreceptores aórticos e carotídeos sobre a atividade do SNS resulte em hiperatividade desse sistema, o que poderia contribuir para o desenvolvimento da HAS (KUMADA et al., 1990; JULIEN, 2008).

A hiperativação simpática é definida por um aumento na intensidade e frequência das despolarizações do nervo simpático, bem como o aumento nos níveis plasmáticos de catecolaminas (JOHANSSON et al., 2007; ZOCCAL et al., 2008), promovendo vasoconstrição, aumento na resistência vascular periférica e, consequente aumento nos níveis basais da PA (BELCHIOR et al., 2012).

Posto que outros fatores possam estar envolvidos na gênese da HAS, estudos epidemiológicos têm mostrado que o baixo peso ao nascimento devido ao retardo do crescimento intrauterino ou déficit de crescimento por deficiência nutricional no início da vida está associado com risco aumentado de desenvolver agravos não transmissíveis, como diabetes, obesidade e HAS na vida adulta

(BARKER et al., 2007; SATHISHKUMAR et al., 2009; CALKINS e DEVASKAR, 2011; LAPILLONNE, 2011; CLEMENTE et al., 2012). Isso pode ser devido, pelo menos em parte, ao aumento da atividade simpática (BELCHIOR, 2012).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente três milhões de pessoas, em sua maioria crianças, morrem anualmente por problemas relacionados a deficiências nutricionais e modificações no ambiente perinatal (WHO, 2008). Estudos epidemiológicos realizados no Brasil, especialmente na região Nordeste do país (COSTA, 1995), têm demonstrado uma estreita relação entre a deficiência nutricional no período perinatal e o desenvolvimento de agravos não transmissíveis na vida adulta (SALDIVA et al., 2004).

Diversos estudos têm demonstrado que doenças cardiovasculares e condições associadas a elas, como hipertensão e diabetes não insulínica, podem se originar devido a um desenvolvimento debilitado durante a vida fetal e infância. Essas doenças seriam consequências de um quadro de “programação”, onde um estímulo ou insulto em período crítico ou sensível no início da vida resulta em alterações fisiológicas e metabólicas em longo prazo, uma vez que, durante o desenvolvimento humano, existem janelas de tempo críticas nas quais a maturação deve ocorrer, e a falha nesse processo de maturação pode ser irreversível (BARKER e CLARK, 1997; PLAGEMANN et al., 2000).

Pesquisas têm mostrado que indivíduos com baixo peso ao nascer apresentam significativo aumento nos níveis plasmáticos de catecolaminas, sugerindo aumento na atividade simpática basal (JOHANSSON et al., 2007; FRANCO et al., 2008). Este fato é corroborado por trabalho que evidenciou uma correlação inversa entre peso ao nascer e nível de atividade nervosa simpática (ANS), sugerindo que o tônus simpático aumentado possa estar relacionado com o surgimento da HAS na vida adulta (BOGUSZEWSKI et al., 2004).

Estudos têm buscado esclarecer a relação entre desnutrição e aumento da atividade simpática no desenvolvimento da HAS. No entanto, pouco se sabe sobre os mecanismos centrais e periféricos envolvidos na geração desta hipertensão em indivíduos desnutridos. Neste sentido, nos propomos a investigar se a desnutrição proteica perinatal pode gerar disfunção do mecanismo BR, acarretando hiperatividade simpática e esta, por sua vez, induzir o surgimento da HAS na vida adulta em modelos experimentais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL

O sistema cardiovascular tem papel fundamental na manutenção da homeostase do organismo, proporcionando uma pressão de perfusão sanguínea adequada para todos os tecidos e órgãos (SPYER, 1981). Esse sistema deriva dos mesodermas esplâncnico, para-axial e lateral, e de células da crista neural. É o primeiro a funcionar no embrião, iniciando sua formação na terceira semana de vida, e tem a função de captar de maneira eficiente oxigênio e nutrientes, e remover gás carbônico e resíduos metabólicos (MOORE, 1974; BASCHAT, 2006).

A PA é a força motriz da circulação e mantém a perfusão tecidual em níveis adequados e constantes ao longo do tempo. Pode ser definida por sua dimensão física (força/unidade de área, compreendendo a relação entre volume sanguíneo e capacitância vascular) ou funcional, resultante da combinação instantânea entre retorno venoso (RV), débito cardíaco (DC) e resistência vascular periférica (RVP) (IRIGOYEN et al., 2005b).

A manutenção dos níveis pressóricos dentro de uma faixa de normalidade depende de ajustes imediatos de capacitância venosa, DC e/ou RVP, resultante da ação integrada de controle local, humoral e neural (SPYER, 1981). Assim, diferentes mecanismos de regulação estão envolvidos na manutenção dos níveis basais bem como na variação momento a momento da PA, a fim de adequar as variáveis que a influenciam como também a distribuição de sangue nos diferentes compartimentos da circulação e de fluidos dentro e fora dos vasos (KRIEGER et al., 1998; 1999).

Os mecanismos envolvidos no controle da PA incluem fatores locais (miogênicos, metabólicos, substâncias parácrinas e as de ação vasoconstritora e vasodilatadora liberadas pelo endotélio, além de fatores físicos), regulação neuro-hormonais (comandados pelos barorreceptores, quimiorreceptores e receptores cardiopulmonares que regulam as respostas neurais e modulam a liberação plasmática de catecolaminas, renina, angiotensina, aldosterona e vasopressina) e mecanismos de controle da ingestão e excreção de água e eletrólitos pelo sistema renal (KORNER, 1979; MARK, 1996; KRIEGER et al., 1998; WALLIN e CHARKOUDIAN, 2007).

A regulação neural do sistema cardiovascular envolve a ativação de vários grupos de sensores localizados na periferia, os quais enviam informações referentes aos níveis pressóricos, volume sanguíneo circulante e tensão dos gases sanguíneos arteriais para o sistema nervoso central (SNC), resultando na modulação da

atividade autonômica eferente, do padrão respiratório e da liberação de agentes humorais para produzir respostas fisiológicas apropriadas. Entre os sensores periféricos podemos destacar os barorreceptores arteriais, os receptores cardiopulmonares e os quimiorreceptores periféricos (SPYER, 1981).

Em detrimento do controle nervoso da PA pelos receptores periféricos que representam uma resposta aguda sobre o sistema cardiovascular, quando tratamos da regulação e controle da PA em longo prazo outros sistemas estão envolvidos, como a capacidade dos rins em eliminar sódio o suficiente para manter o equilíbrio iônico, favorecendo o volume extracelular e o volume de sangue na vigência de PA normal (MULLINS et al., 2006; GIL e LOPES, 2006).

Assim, elevações da PA acionam o BR arterial e paralelamente ocorre aumento imediato da diurese e da perda renal de sódio, um fenômeno conhecido como natriurese pressórica (GONÇALVES et al., 2000; HEIMANN et al., 2002) e na vigência de consumo hidrossalino inalterado, os rins provocam a redução da volemia e do DC, resultando no retorno e controle da pressão aos valores iniciais (HEIMANN et al., 2002; ZAT, 2002), sendo, neste caso, um sistema envolvido no controle crônico da PA.

2.2 BARORREFLEXO ARTERIAL

Os barorreceptores arteriais são terminações nervosas livres, intensamente ramificadas com varicosidades e convoluções a espaços irregulares, situados nas paredes do arco aórtico (barorreceptores aórticos) e dos seios carotídeos (barorreceptores carotídeos) que possuem seu núcleo localizado nos gânglios petroso e nodoso, respectivamente (SPYER, 1981). As terminações barorreceptoras se distribuem próximo à borda média da camada adventícia da parede arterial, onde se ancoram fortemente aos demais constituintes do vaso, envoltas por colágeno e elastina. São, conseqüentemente, parte integrante da estrutura vascular (KIRCHHEIM, 1976).

As terminações nervosas são compostas por fibras pré-mielinizadas, associadas a fibras amielínicas, que são mais finas e se enrolam sobre as pré-mielinizadas, garantindo uma ligação firme com o vaso, o que permite que funcionem como mecanorreceptores sensíveis à distensão circunferencial da parede do vaso e/ou tensão determinadas pela variação da pressão intravascular

(IRIGOYEN et al., 2005a). A inervação sensorial dos barorreceptores carotídeos é provida pelos ramos do nervo sinusal enquanto os barorreceptores aórticos estão sob a inervação do nervo depressor aórtico que se unem respectivamente ao nervo glossofaríngeo (IX par de nervos cranianos) e nervo vago (X par de nervos cranianos) (KASHIHARA, 2009).

O principal mecanismo de ativação dos barorreceptores é a deformação mecânica das terminações neurais, decorrente do estiramento da parede arterial, o que é determinada pela onda de pulso ao longo do eixo vascular (IRIGOYEN et al., 2005a; CORRAL et al., 2007). Na pressão basal, os barorreceptores descarregam de forma intermitente e sincrônica com a pressão arterial sistólica (PAS), na dependência das variações instantâneas da deformação e da tensão vascular induzidas pela PA (KRIEGER et al., 1999; MICHELINI, 2000).

A região exata das terminações sensíveis à distorção não é conhecida, embora a presença de mitocôndrias em áreas de espessamento da fibra indique estruturas metabolicamente ativas (HAIBARA e SANTOS, 2000). Tem sido proposta a presença de canais acionados por estímulos mecânicos nas terminações nervosas dos pressorreceptores. Estes canais, definidos como *degenerin/epithelial Na⁺ channel* (DEG/ENaC) são geralmente sensíveis a cátions e, portanto, permitem, quando mecanicamente estimulados, o influxo de cálcio e sódio no terminal nervoso promovendo a despolarização inicial dos barorreceptores. Admite-se ainda, que para que ocorra um potencial de ação dos pressorreceptores, é necessária a existência de uma deformação mínima na parede vascular e a pressão na qual esta deformação mínima ocorre é identificada como pressão de limiar para a descarga dos pressorreceptores (DRUMMOND et al., 1998; 2001).

A função primordial dos barorreceptores é manter a PA estável, dentro de uma faixa estreita de variação, esteja o indivíduo em repouso ou durante a realização de atividades (IRIGOYEN et al., 2005a; GUYTON e HALL, 2011). Exercem uma importante regulação reflexa da frequência cardíaca (FC), DC, contratilidade miocárdica, RVP e, conseqüentemente, distribuição regional do fluxo sanguíneo (HAIBARA e SANTOS, 2000; GUYTON e HALL, 2011).

Assim, elevações súbitas da PA aumentam a atividade dos barorreceptores, os quais reflexamente inibem a atividade tônica simpática para os vasos e coração (figura 1). À redução da atividade simpática associa-se um aumento da atividade vagal, a qual produz bradicardia (KRIEGER et al., 1999; MICHELINI, 2000; CORRAL

et al., 2007; KASHIHARA, 2009). A redução da atividade simpática e o aumento da atividade vagal tendem a produzir uma redução da resistência periférica total e do DC, contribuindo, assim, para o retorno dos níveis tensionais aos padrões normais (KRIEGER et al., 1999; MICHELINI, 2000; CORRAL et al., 2007).

Por outro lado, quando diante de quedas súbitas da PA ocorre inibição da ação barorreceptora, o que resulta em aumento da descarga simpática e redução do tônus vagal, minimizando, assim, a diminuição da PA (SAGAWA, 1983; KRIEGER et al., 1999; MICHELINI, 2000; ACCORSI-MENDONÇA et al., 2005; CORRAL et al., 2007).

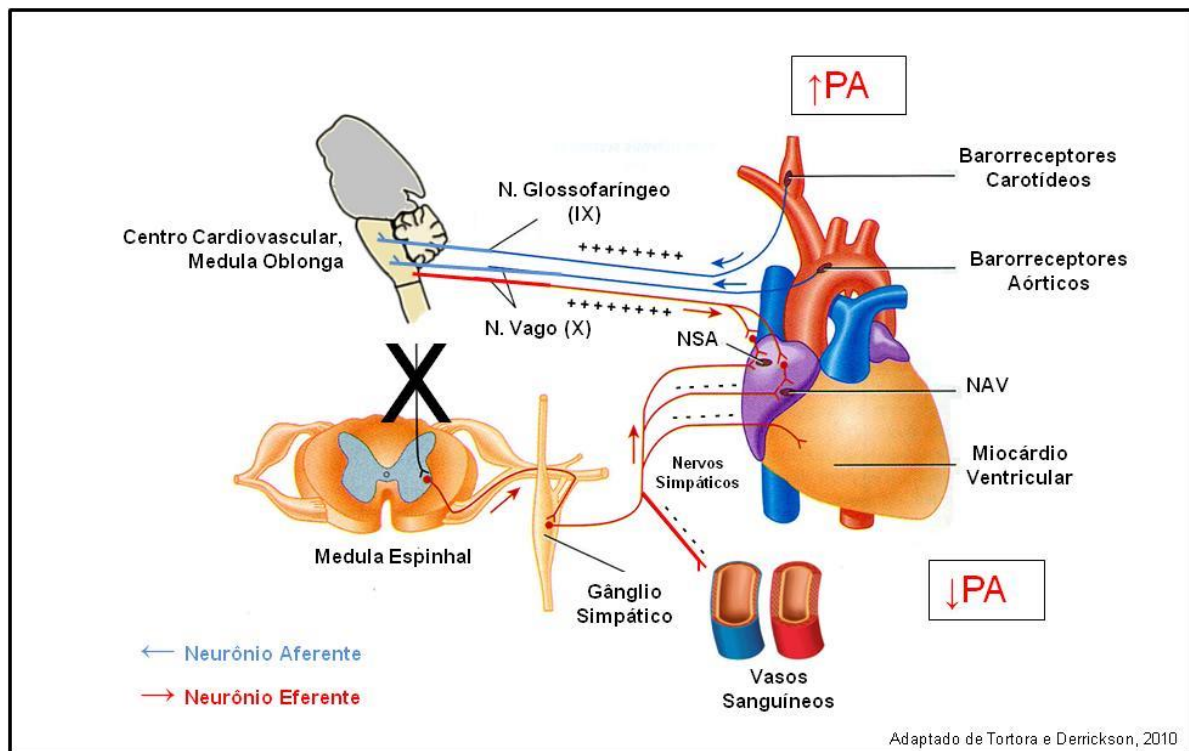


Figura 1. Representação esquemática do barorreflexo arterial. Visão detalhada do mecanismo de controle da PA diante da ativação do barorreflexo. Em situações de aumento de PA, os barorreceptores aórticos e carotídeos enviam sinais aferentes (linha em azul), de caráter excitatórios (+++++++), através do nervo vago e glossofaríngeo, respectivamente, para o centro cardiovascular, localizado na medula oblonga. Em resposta, há um aumento do tônus parassimpático, representado por um estímulo excitatório (++++++) através de neurônios eferentes (linha em vermelho) que compõem o nervo vago e se dirige para o coração. Em contrapartida, o tônus simpático é reduzido pelo silenciamento (-----) dos neurônios pré-ganglionares que conduzem os estímulos para os vasos e

coração. Esses efeitos, somados, são responsáveis pela diminuição da PA. PA: Pressão Arterial; NSA: Nodo Sinoatrial; NAV: Nodo Atrioventricular.

Uma vez que, os barorreceptores são os principais responsáveis pela regulação a curto prazo da PA (SPYER, 1981), esse controle se dá por uma complexa interação neuronal (figura 2) que se inicia no SNC, no núcleo do trato solitário (NTS), envolvendo, além deste, várias regiões, especialmente a região caudal ventrolateral do bulbo (CVLM), a região rostral ventrolateral do bulbo (RVLM), o núcleo dorsal motor do vago (NDMV) e o núcleo ambíguo (NA) (CHAPLEAU et al., 1995).

Mediados principalmente pela neurotransmissão excitatória, devido à liberação de glutamato, os sinais são conduzidos ao NTS via nervo glossofaríngeo (fibras carotídeas) e vago (fibras aórticas) (TALMAN, 1980). O tônus simpático para o coração e vasos é reduzido, uma vez que neurônios do NTS excitam o CVLM que enviam estímulos inibitórios através da liberação de GABA para neurônios pré-motores simpáticos do RVLM (BLESSING, 1988; JESKE et al., 1995). Ocorre, assim, redução da contratilidade cardíaca, bradicardia e atenuação do tônus vascular com consequente queda da RVP (SAGAWA, 1983).

Paralelamente, neurônios secundários do NTS excitam neurônios pré-ganglionares do sistema parassimpático localizados no NDMV e NA, que por sua vez se projetam (eferentes vagais) aos neurônios pós-ganglionares intramurais situados no coração, determinando aumento da atividade vagal e queda da FC (GORDON, 1987; MACHADO e BRODY, 1988).

Os barorreceptores cardiopulmonares também são mecanorreceptores e, de modo geral, participam do controle da PA qualitativamente de forma semelhante aos barorreceptores arteriais (MACHADO et al., 1997). No entanto, por serem menos homogêneos e se situarem principalmente dentro de um sistema de baixa pressão, a sua estimulação se faz muito mais por expansão de volume sanguíneo do que por alterações de pressão (CAMPAGNOLE-SANTOS e HAIBARA, 2001).

Uma característica importante dos mecanorreceptores em geral e dos barorreceptores em particular é o fenômeno de adaptação. Por esse processo, elevações na PA, desde que sustentadas, deslocam a faixa de funcionamento dos barorreceptores para níveis mais altos de PA, que passa a ser reconhecido como

normal, não privando os indivíduos hipertensos desse importante mecanismo de controle das variações hemodinâmicas (IRIGOYEN et al., 2001).

O processo de adaptação dos pressorreceptores na HAS está relacionado à diminuição da sensibilidade barorreflexa (SBR), sendo designada pela capacidade de tamponar as flutuações pressóricas, por meio do controle barorreflexo da FC e/ou da ANS. A menor sensibilidade dos barorreceptores é provavelmente o maior determinante do aumento da variabilidade da PA observada em indivíduos portadores de HAS, e, de forma indireta, está associada às consequentes lesões dos órgãos-alvo (PARATI et al., 2000).

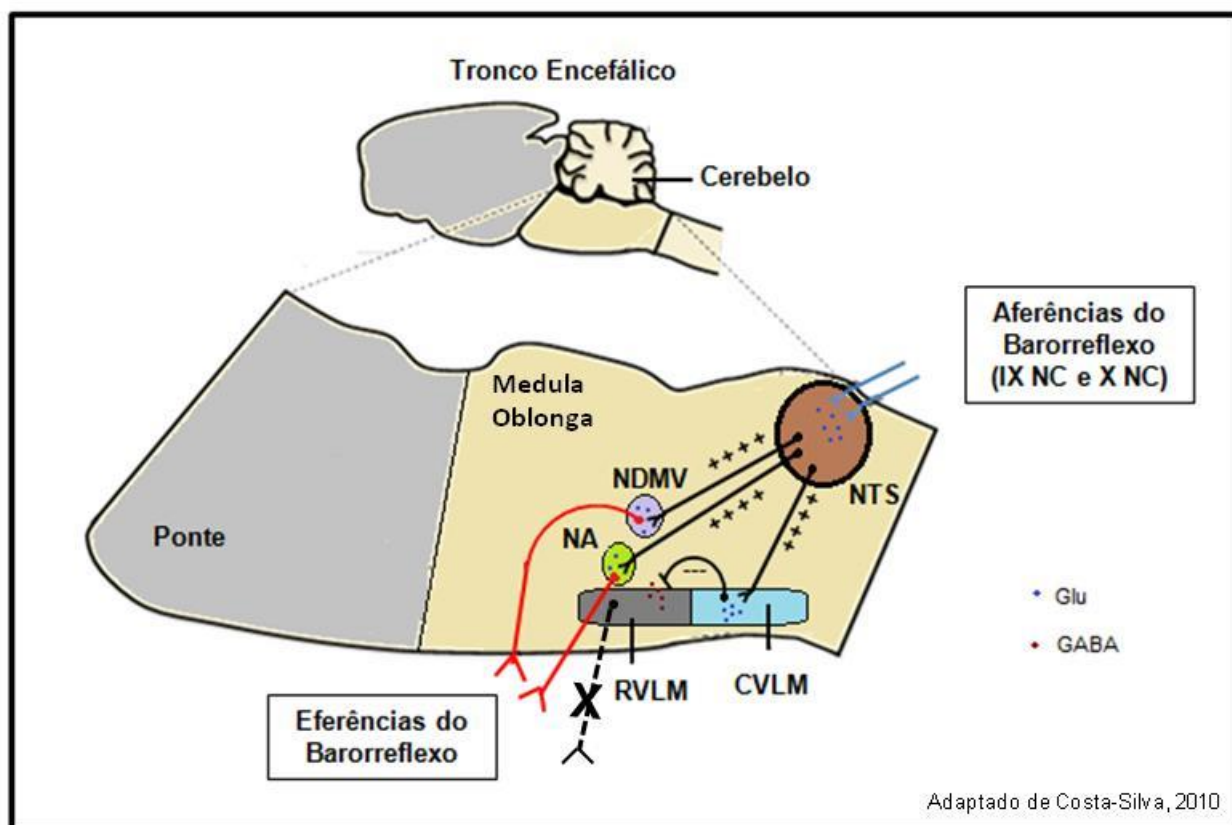


Figura 2. Representação esquemática da integração neuronal no sistema nervoso central diante da ativação do barorreflexo arterial. Visão ampliada da medula oblonga em corte longitudinal mostrando os núcleos envolvidos no controle barorreflexo da PA e as projeções modulatórias do sistema nervoso autônomo. Neurônios aferentes (linha em azul) fazem uma sinapse excitatória pela liberação de glutamato no NTS, primeiro local de recepção dos estímulos provenientes dos

barorreceptores. A partir desse núcleo, neurônios secundários (linha preenchida em preto) seguem para a CVLM, mediante uma sinapse glutamatérgica, de caráter excitatório (++++), estimulando neurônios que enviam sinais inibitórios (---) através da liberação de GABA para neurônios simpáticos localizados na RVLM, silenciando esta área (linha tracejada em preto). Paralelamente, neurônios do NTS (linha preenchida em preto) se dirigem ao NDMV e NA, fazendo uma sinapse excitatória (++++), por meio da liberação de glutamato, ativando, por sua vez, os eferentes vagais (linha em vermelho) que conduzem o estímulo parassimpático ao coração. NTS: núcleo do trato solitário; CVLM: região caudal ventrolateral do bulbo; RVLM: região rostral ventrolateral do bulbo; NDMV: núcleo dorsal motor do vago; NA: núcleo ambíguo; Glu: glutamato; GABA: ácido gama aminobutírico; IX NC: 9º par de nervos cranianos (glosssofaríngeo); X NC: 10º par de nervos cranianos (vago).

2.3 ATIVIDADE SIMPÁTICA E HAS

A hipertensão arterial é uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de PA. Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo (coração, cérebro, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas, com consequente aumento do risco de eventos cardiovasculares fatais e não fatais. Assim, a investigação da fisiopatologia da HAS significa entender os mecanismos de controle da PA normal e procurar as alterações sutis que precedem o aumento da pressão para os níveis de hipertensão (V DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, 2006; WILLIAMS, 2010).

O SNS desempenha um papel fundamental na manutenção da homeostase do organismo sob condições normais e em estresse agudo ou crônico (KENNEY et al., 2003). Embora já bem descrito seu envolvimento nas variações agudas da PA, como em situações como exercício físico e variação postural, os mecanismos responsáveis pelo surgimento e manutenção de hiperatividade simpática na HAS ainda não são totalmente conhecidos (BRAVO et al., 2009; CONSOLIM-COLOMBO et al., 2012). Sabe-se que a atividade simpática aumentada e a consequente liberação de catecolaminas pelos nervos simpáticos, além de aumentar o tônus vascular nos vasos de resistência, nas fases iniciais da HAS, poderia ser também

estimuladora de mecanismos tróficos e hipertrofia vascular em longo prazo (YU et al., 1990; BRAVO et al., 2009, PAPADEMETRIOU et al., 2011).

O tônus simpático, particularmente para o sistema cardiovascular, é gerado por descargas originadas em áreas específicas do tronco encefálico. Alguns dos grupamentos neuronais localizados nas regiões do SNC, denominados neurônios pré-motores simpáticos, enviam projeções diretas para os neurônios pré-ganglionares simpáticos da coluna intermediolateral da medula (IML). A coluna IML constitui uma das quatro regiões dentro da coluna torácica e lombar superior que contém os corpos celulares dos neurônios pré-ganglionares simpáticos, mediadores do tônus simpático para o organismo (DAMPNEY, 1994; DAMPNEY et al., 2003; KENNEY et al., 2003).

Usando-se diferentes métodos de avaliação da atividade simpática, pode-se detectar, nas fases iniciais da HAS, aumento do tônus simpático, como efeito mais intenso de agentes simpatolíticos ou bloqueadores adrenérgicos na diminuição dos níveis de PA, níveis elevados de noradrenalina plasmática e da sua liberação regional (spillover), aumento da ANS com registro direto (microneuronografia), maior sensibilidade à noradrenalina (aumentos maiores de PA durante infusão) e análise do espectro de frequência da PAS e intervalo de pulso (IP) (GUZETTI et al., 1988; IRIGOYEN et al., 1995; LOPES et al., 1997; 2000; ZHU et al., 2005).

Diante do exposto, sob aspecto funcional, a HAS é de origem multifatorial, onde o desequilíbrio de um dos sistemas envolvidos pode influenciar os mecanismos fisiopatogênicos. Além disso, a hipertensão arterial é o resultado da interação genética com o meio ambiente, de modo que a atividade simpática aumentada pode contribuir para o seu surgimento, bem como fatores ambientais como podemos citar os insultos nutricionais em períodos críticos do desenvolvimento também podem estar presentes (BARKER e CLARK, 1997).

2.4 DESNUTRIÇÃO PROTEICA, EPIGENÉTICA E REPERCUSSÕES SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR

O termo "programação", ou "plasticidade fenotípica", tem sido utilizado para explicar que durante o desenvolvimento de cada órgão ou sistema há uma janela crítica de sensibilidade ou plasticidade, em que fatores ambientais podem gerar ajustes no fenótipo que permanecem ao longo da vida (GLUCKMAN, 2007). A

desnutrição perinatal é um dos fatores ambientais mais bem estudados como indutor de plasticidade fenotípica (RAVELLI E et al., 1976; BARKER e CLARK, 1997).

Diversos sistemas fisiológicos são afetados pela desnutrição, o que pode levar ao mau funcionamento de órgãos e ao desenvolvimento de doenças, como as doenças cardiovasculares na vida adulta (SAWAYA et al., 2004). Neste contexto, estudos epidemiológicos sugerem uma associação entre desnutrição na infância e risco aumentado dos indivíduos de se tornarem obesos, hipertensos e de desenvolverem diabetes tipo II e doenças cardiovasculares na vida adulta (SAWAYA & ROBERTS, 2003; SAWAYA et al., 2003; 2005).

A desnutrição causada por deficiência proteica é altamente prejudicial ao organismo, uma vez que as proteínas fornecem aminoácidos que regulam e cumprem funções fisiológicas e metabólicas fundamentais ao bom funcionamento dos sistemas (LEHNINGER, 2005). Dos vinte aminoácidos que constituem as proteínas, nove são considerados essenciais, ou seja, não são sintetizados pelo organismo e devem ser adquiridos através da alimentação, sendo então a composição de proteína da dieta um fator importante a se considerar. Dessa maneira, a restrição nutricional que resulte num deficiente aporte, transporte ou utilização de nutrientes (especialmente proteínas) pelas células do organismo, pode levar a uma série de disfunções (BARKER et al., 1990).

Sabendo-se que, em humanos, estudos envolvendo restrição proteica são muito mais observacionais do que averiguações experimentais, tornou-se importante a avaliação através de práticas experimentais em modelo animal. A utilização animal permite um controle do tempo e dos níveis desejados da carência nutricional que se pretende estudar (GIACOMELLI e MARÇAL-NATALI, 1999).

O rato é o modelo animal mais utilizado nestes estudos, devido às vantagens que ele apresenta, tais como fácil manejo e alta capacidade de adaptação aos diferentes protocolos de desnutrição empregados, além de possuir metabolismo acelerado, sendo este de alta relevância, uma vez que permite investigações experimentais rápidas, principalmente daqueles distúrbios promovidos pela desnutrição apenas tardiamente no ser humano (GIACOMELLI e MARÇAL-NATALI, 1999).

Várias são as metodologias utilizadas com intuito de induzir a desnutrição em ratos. Em alguns estudos, a restrição proteica é inferida durante a gestação, reduzindo o conteúdo proteico das fêmeas prenhes (TONKISS et al., 1998;

MONTEIRO, 2001), ou após o nascimento, reduzindo o conteúdo de proteínas da dieta oferecida à fêmea durante a lactação (PEDROSA e MORAES-SANTOS, 1987). Além disso, desnutrição pode ser imposta aumentando o número de filhotes por ninhada durante a lactação, o que leva à competição pelo leite materno e diminuição da disponibilidade de nutrientes para cada animal individualmente (BELMAR et al., 1996). Outro método utilizado refere-se à diminuição do conteúdo proteico da dieta logo após o desmame (FERREIRA et al., 2003).

Estudos experimentais têm mostrado que a desnutrição pré ou pós-natal pode levar a diversas alterações, tais como, crescimento deficiente, alterações metabólicas, modificação no perfil lipídico, alterações dos níveis de PA, aterosclerose, hipertrofia glomerular, surgimento de diabetes, obesidade e ainda do ponto de vista funcional, já foram observadas modificações no comportamento e na aprendizagem (LUCAS et al., 1997; LUCAS, 1998; MONTEIRO, 2001; SILVA e ALMEIDA, 2006). Fatores como severidade, duração e fase da vida na qual o indivíduo foi submetido à desnutrição, influenciam diretamente nas consequências clínicas que ela poderia induzir (AGOTE et al., 2001; SAWAYA et al., 2003).

Pesquisa demonstrou claramente que o sistema nervoso é afetado com a desnutrição. É sabido que a restrição proteica a longo-prazo em ratos adultos induz a diminuição no número de neurônios e formação de sinapses no hipocampo, acompanhada de um prejuízo substancial de comportamentos dependentes do hipocampo (LUKOYANOV e ANDRADE, 2000).

Morgane e colaboradores (2002) consideram a desnutrição como o principal fator não genético que afeta o desenvolvimento do cérebro, podendo causar déficits permanentes na aprendizagem e no comportamento (MORGANE et al., 2002). Sendo assim, a desnutrição proteica pós-desmame promove alterações no SNS e/ou parassimpático em ratos (LEON-QUINTO et al., 1998), bem como alteração no mecanismo de regulação da liberação central de noradrenalina, resultando em aumento da concentração desse neurotransmissor no córtex cerebral desses animais (BELMAR et al., 1996).

Ainda em experimentos com ratos, foi demonstrado que a desnutrição proteica leva a alterações na hemodinâmica renal. Esses animais apresentaram redução na atividade de renina plasmática, diminuição na produção de prostaglandinas, aumento na resistência vascular intra-renal e diminuição do fluxo renal plasmático e da taxa de filtração glomerular (BENABE et al., 1993a; 1993b;

ICHIKAWA et al., 1980). Estudos também comprovaram um aumento da expressão de renina renal e mRNA (ácido ribonucleico mensageiro) para enzima conversora de angiotensina (ECA) em animais submetidos à dieta hipoprotéica, o que, segundo o autor, pode ser responsável pelas alterações na hemodinâmica renal observada nesses animais (MARTINEZ-MALDONADO et al., 1993). Em outros trabalhos observou-se uma redução no número total de néfrons provocando uma alteração na função renal dos animais (CHOU et al., 2008; DO CARMO PINHO et al., 2003).

Verificou-se também, em ratos desnutridos durante a gestação uma significativa redução do peso renal, tanto absoluto quanto relativo, e prejuízo na glomerulogênese, mesmo após o nascimento (LUCAS et al., 1997). Além disso, foi observado que ratos submetidos à desnutrição proteica intrauterina apresentaram uma leve hipertensão e um aumento da atividade da ECA nos pulmões (RIVIERE et al., 2005).

Em 1990, Barker e colaboradores, demonstraram que o ambiente intrauterino tinha um impacto importante sobre a pressão sanguínea e o desenvolvimento da HAS em humanos (BARKER et al., 1990). Apesar de todos os mecanismos que atuam controlando a PA no intuito de mantê-la dentro da faixa de normalidade, a elevação dos níveis de PA vem se tornando um problema cada vez mais frequente. É possível que a desnutrição possa comprometer o funcionamento dos mecanismos reflexos (TROPIA et al., 2001; LOSS et al., 2007) e humorais (BENABE e MARTINEZ-MALDONADO, 1998) de controle da PA favorecendo o aparecimento de agravos crônicos não transmissíveis (BARKER et al., 1990; BARKER e CLARK, 1997; SAWAYA et al., 2003; CHEEMA et al., 2005).

Dessa forma, estudos têm buscado esclarecer a relação de desnutrição e aumento da atividade simpática no desenvolvimento da HAS. Nesse sentido, algumas publicações (JOHANSSON et al., 2007; FRANCO et al., 2008) tem mostrado que indivíduos com baixo peso ao nascer apresentam significativo aumento nos níveis plasmáticos de catecolaminas, sugerindo aumento na atividade simpática basal. Este fato é corroborado por trabalho anterior (BOGUSZEWSKI et al., 2004) que evidenciou uma correlação inversa entre peso ao nascer e nível de ANS, sugerindo que o tônus simpático aumentado possa estar relacionado com o surgimento da HAS na vida adulta.

Estudo anterior do nosso laboratório verificou que ratos provenientes de mães que receberam dieta hipoprotéica (8%) durante a gestação e lactação apresentam

um aumento significativo nos níveis basais de PA a partir dos 90 dias de vida, entretanto sem alteração na FC (BRITO-ALVES et al., 2014). Ainda do nosso laboratório, recente estudo publicado mostra alteração na variabilidade cardiovascular desses animais, com aumento das bandas LF (do inglês *low frequency*, baixa frequência), redução das bandas HF (do inglês *high frequency*, alta frequência) e aumento na relação LF/HF, mostrando que ratos conscientes submetidos à desnutrição proteica perinatal apresentam aos 90 dias de vida disfunção autonômica para o coração (BARROS et al., 2015).

Estudo recente de nosso laboratório, utilizando a preparação coração - tronco cerebral isolados com animais de 30 dias de vida, mostra que apesar de apresentarem semelhantes níveis de PA, há aumento da amplitude do nervo simpático torácico e frênico, além de disfunção autonômica (aumento das bandas LF e na relação LF/HF) apontando um aumento na modulação simpática para o sistema cardiovascular em ratos jovens (BRITO-ALVES et al., 2015).

Por outro lado, a desnutrição proteica em fase tardia, no período pós-lactação tem sido associada a alterações nos mecanismos de controle do sistema cardiovascular, como aumento do tônus simpático vasomotor (TROPIA et al., 2001), alterações na FC e pressão arterial média (PAM), além do aumento da variabilidade desses parâmetros quando analisados no domínio do tempo (OLIVEIRA et al., 2004) e modificações na SBR antes e após bloqueios autonômicos, sugerindo alterações autonômicas importantes (LOSS et al., 2007) nestes animais.

Diante do exposto, a desnutrição proteica em fase crítica do desenvolvimento pode acarretar modificações no ambiente intrauterino, sendo responsável pelo surgimento de hipertensão arterial na vida adulta. Apesar de vários estudos terem buscado esclarecer essa relação, os mecanismos envolvidos desde a desnutrição perinatal até o seguimento da HAS, bem como a participação do controle barorreflexo da ANS na gênese e/ou manutenção dos níveis elevados de PA, ainda não são totalmente conhecidos.

3. HIPÓTESE

A nossa hipótese de trabalho é que a desnutrição proteica perinatal induz na prole uma elevação dos níveis de atividade simpática, por uma disfunção barorreflexa, e esta, por sua vez, contribuirá para o surgimento da hipertensão arterial na vida adulta.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar as repercussões da desnutrição proteica perinatal (gestação e lactação) sobre o nível basal e o controle barorreflexo da atividade do sistema nervoso simpático da prole.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Na prole de ratos provenientes de mãe que sofreram desnutrição proteica durante a gestação e a lactação:

- ✓ Avaliar o controle barorreflexo espontâneo e induzido em animais não anestesiados;
- ✓ Estudar os níveis basais da atividade nervosa simpática lombar em animais anestesiados;
- ✓ Analisar o controle barorreflexo induzido da atividade nervosa simpática lombar em animais anestesiados;
- ✓ Investigar a variabilidade cardiovascular em animais não anestesiados e anestesiados.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar provenientes do biotério do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco (CAV – UFPE). Os animais permaneceram em gaiolas coletivas de polipropileno (quatro animais/gaiola), com água filtrada e ração *ad libitum*. Eles foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12h e a temperatura e a umidade foram mantidas dentro dos limites de 22 a 25°C e 55 a 65%, respectivamente. Todos os protocolos e procedimentos experimentais foram realizados de acordo com Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pelo Comitê de Ética em Utilização Animal (CEUA) da UFPE (processo nº 23076.016256/2013-83).

5.2 DIETAS

Foram produzidos dois tipos de dietas a base de caseína: uma dieta controle chamada de normoproteica (17% de caseína), e uma dieta experimental chamada de hipoproteica (8% de caseína). Ambas foram produzidas no Laboratório de Técnica Dietética do CAV - UFPE de acordo com American Institute of Nutrition - AIN-93 (REEVES et al., 1993). As dietas são isocalóricas com alteração no conteúdo de proteína conforme tabela 1.

Tabela 1. Composição nutricional das dietas (g/100g dieta).

Nutriente	Normoproteica (17% proteína)	Hipoproteica (8% proteína)
Caseína (85%) *	20	9,41
Amido Dextrinizado	13,2	13,2
Celulose	5	5
Sacarose	10	10
Amido de milho	39,74	50,34
Óleo de soja	7	7
Colina	0,25	0,25
Metionina	0,3	0,3
Mix Vitamínico	1	1
Mix Mineral	3,5	3,5
BHT**	0,001	0,001
Densidade energética (Kcal/g)	3,89	3,89

*A caseína utilizada na preparação da dieta apresentou 85% de pureza.

** Butil-hidroxitolueno, composto antioxidante.

5.3 INDUÇÃO DA DESNUTRIÇÃO PROTEICA DURANTE O PERÍODO PERINATAL (GESTAÇÃO E LACTAÇÃO)

Ratas Wistar com 80-90 dias de vida foram acasaladas com ratos machos na proporção de 1:1 ou 1:2. A observação da presença de espermatozóides no esfregaço vaginal foi usada para definir o 1º dia de prenhez. A partir desse momento, as ratas prenhes foram colocadas em gaiolas individuais e alocadas randomicamente em dois grupos: grupo normoproteico (NP, recebeu dieta com 17% de proteína, n = 8) e grupo hipoproteico (HP, recebeu dieta com 8% de proteína, n = 8) durante o período de gestação (aproximadamente 21 dias) e de lactação (21 dias). A prole proveniente destas fêmeas foi reduzida a oito filhotes por ninhada após 48 horas do nascimento. Apenas a prole macho participou do protocolo experimental, enquanto as fêmeas foram usadas apenas para uniformizar o tamanho de cada ninhada. Após o desmame (a partir do 22º dia de vida), três ou quatro filhotes machos de cada ninhada foram alojados aleatoriamente em gaiolas coletivas, e todos receberam dieta padrão para animais de laboratório (Labina, Purina Agribands, São Paulo, Brasil). Pelo menos dois ou três filhotes machos de cada ninhada foram usados para compor os grupos NP ou HP e para executar o protocolo experimental. Os estudos funcionais foram realizados aos 90 dias de vida da prole, período em que foram observadas as maiores alterações nos níveis de PA.

5.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E REGISTRO DAS VARIÁVEIS HEMODINÂMICAS EM ANIMAIS NÃO ANESTESIADOS

Um dia antes dos estudos funcionais, os animais foram anestesiados com ketamina (80 mg/kg, i. p.) e xilazina (10 mg/kg, i. p.) para inserção de cateteres de polietileno (PE-10 conectado ao PE-50) na artéria e veia femorais, para registro das variáveis hemodinâmicas e infusão de drogas, respectivamente. Os cateteres foram preenchidos com uma solução salina (cloreto de sódio, NaCl 0,9%) heparinizada e exteriorizados subcutaneamente ao nível interescapular para permitir a conexão do cateter ao sistema de aquisição de dados. Após a cirurgia, os animais receberam uma injeção de cetoprofeno (5 mg/kg, i. p.) e permaneceram em recuperação por 18 horas até o início dos experimentos.

Após esse período, o registro da PA e FC foi realizado em animais não anestesiados com livre movimentação na caixa por meio da conexão da cânula da

artéria femoral com o transdutor mecanoelétrico de pressão (ML866/P, ADInstruments, Power Lab, Bella Vista, NSW, Austrália), cujo sinal foi amplificado, amostrado a 2 kHz e digitalizado por meio de uma interface analógico/digital em um microcomputador equipado com um software apropriado (LabChart 7 Pro, ADInstruments, Bella Vista, NSW, Austrália), para posterior análise.

Cada animal foi colocado na caixa para registro por um período de aclimação (aproximadamente 30 minutos), na qual a pressão arterial pulsátil (PAP) foi registrada durante 60 minutos e os valores de PAM e FC foram calculados a partir deste período de registro. Para a determinação dos valores médios de PAM e FC, um período de 5-10 minutos foi selecionado para cada animal. Todos os dados foram analisados off-line em software apropriado (LabChart 7 Pro; ADInstruments, Bella Vista, NSW, Austrália).

5.5 AVALIAÇÃO DO BARORREFLEXO

Em animais não anestesiados, a resposta barorreflexa induzida da PA foi avaliada pela ativação BR mediante injeção endovenosa de agente vasopressor, um agonista α 1-adrenérgico, a L-Fenilefrina (Fen, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA); e como agente hipotensor, para inibição de BR, foi utilizado um doador de óxido nítrico, o nitroprussiato de sódio dihidratado (NPS, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). As drogas foram diluídas em solução veículo (NaCl 0,9%), protegidas da luz para evitar degradação, acondicionadas em tubos de polietileno Eppendorf e armazenadas a -20°C até o momento de utilização.

As doses de Fen (0,1 - 8 μ g/kg) foram intercaladas com as doses de NPS (0,5 - 50 μ g/kg) que produziram elevações e reduções da PA, respectivamente. Ambas as drogas foram administradas em bolus em doses progressivamente maiores. Assim, foram obtidas a variação da PAM e a resposta reflexa da FC diante das diversas doses/drogas nos animais NP e HP não anestesiados, sendo demonstrado como variação da PAM (Δ PAM; em mmHg) e FC (Δ FC; em bpm).

Para o cálculo da variação de PAM diante a ativação do BR com Fen, utilizamos o maior valor da PAM subtraído pela PAM basal (anterior à infusão, tendo esta sempre retornado aos valores basais); enquanto o cálculo da bradicardia reflexa foi realizado a partir da diferença entre o menor valor atingido pela FC (excetuando-se as assistolias, quando existentes) e a FC basal (anterior à infusão).

De modo semelhante, para o cálculo da variação de PAM diante a inibição do BR com NPS, utilizamos o menor valor da PAM subtraído pela PAM basal (anterior à infusão, tendo esta sempre retornado aos valores basais); enquanto o cálculo da taquicardia reflexa foi realizado a partir da diferença entre o pico da FC e a FC basal (anterior à infusão). Em todos os casos, a SBR induzida foi obtida a partir da divisão da variação de FC pela variação de PAM ($\Delta FC/\Delta PAM$; em bpm/mmHg).

Em animais anestesiados, a resposta barorreflexa induzida da PA foi avaliada pela ativação BR mediante injeção endovenosa de Fen (50 $\mu\text{g/kg}$). Após retorno aos valores basais de PAM e FC, realizamos a inibição de BR através infusão de NPS (100 $\mu\text{g/kg}$) que produziram aumentos e diminuições da PA, respectivamente (KANBAR et al., 2008). A variação da PAM e FC foi calculada de forma semelhante aos animais não anestesiados.

A SBR espontânea foi calculada mediante análise da variabilidade cardiovascular, num trecho basal de 10 minutos, utilizando o software apropriado (CardioSeries-v2.4). Os dados foram obtidos com o método da sequência que se baseia na identificação da ocorrência espontânea de sequências de três ou mais batimentos consecutivos nos quais há um aumento progressivo da PAS e consequente prolongamento do intervalo RR ou uma diminuição progressiva da PAS e consequente encurtamento do intervalo RR. A todas as sequências é aplicada uma regressão linear e os valores representam a média calculada para cada animal (DIAS et al., 2010).

5.6 ESTUDO DAS OSCILAÇÕES ESPONTÂNEAS DA PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA

Inicialmente, foram efetuados registros basais da PA e FC de animais dos grupos NP e HP por 1 hora. Os trechos de registros foram divididos em períodos de segmentos de 350 batimentos e então realizada análise espectral pela transformada de Fourier, a fim de determinar os componentes oscilatórios de baixa-frequência (LF, 0.20 - 0.75 Hz) e de alta-frequência (HF, 0.75 - 3.0 Hz) do registro da PAS e IP, utilizando o software apropriado (CardioSeries-v2.4) (DIAS et al., 2010).

Esta análise foi realizada em animais não anestesiados e anestesiados.

5.6.1 Análise Linear da Variabilidade Cardiovascular

A análise linear da variabilidade da PAS e IP foi realizada a partir dos registros basais por meio de um software apropriado (CardioSeries-v.2.4; www.danielpenteado.com). Para análise no domínio da frequência (análise espectral) da PAS e IP, séries de valores basais desses parâmetros foram convertidas em pontos de dados a cada 100ms usando interpolação cúbica e os dados foram divididos em conjuntos de sequências sobrepostos de 512 pontos de dados (51.2s). Todos os segmentos foram visivelmente inspecionados, e os dados não estacionários foram descartados. Uma janela de Hanning foi usada para atenuar os efeitos secundários, e o espectro de cada segmento foi calculado usando uma transformada rápida de Fourier direta.

Os espectros foram integrados em baixa (LF: 0.20 - 0.75 Hz) e alta frequência (HF: 0.75 - 3.0 Hz). Flutuações na banda de LF e HF além dos valores absolutos também podem ser expressas em unidades normalizadas (NU), neste caso, obtido através da divisão dos componentes (LF e HF absoluto) com o valor total, seguido pela subtração da quantidade de muito baixa frequência (REYES DEL PASO, et al., 2013). Para avaliação do índice simpatovagal, a relação LF / HF da variabilidade foi calculada (SABINO et al., 2013).

5.6.2 Análise Não Linear da Variabilidade Cardiovascular

Análise simbólica compreende um método não linear baseado na conversão das séries em uma sequência de símbolos. A dinâmica completa da série (o intervalo entre máximo - mínimo) é distribuída por seis caixas, cada uma delas é identificada por um número (símbolo) de 0 a 5. Valores originais dentro de cada caixa são substituídos pelo símbolo para definir o símbolo específico, então, obtém-se uma série simbólica. A série simbólica é convertida para uma série de padrões de três símbolos.

Quatro famílias diferentes de padrões podem ser identificadas: 0V (padrões sem nenhuma variação, onde todos os símbolos são iguais), 1V (padrões com uma variação, no qual dois símbolos consecutivos são iguais e o restante é diferente), 2LV (padrões com duas variações, nos quais o segundo e o terceiro símbolo mudam em relação ao anterior, as mudanças têm o mesmo sentido) e 2UV (padrões com

duas variações, nos quais o segundo e o terceiro símbolo mudam em relação ao anterior, porém as mudanças têm sentido oposto).

A porcentagem (%) de ocorrência do padrão 0V tem sido considerado como marcador da modulação simpática da FC, enquanto que os padrões 2V (2LV e 2UV) são considerados marcadores da modulação vagal (PORTA et al., 2001; 2007).

5.7 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E REGISTRO DA ATIVIDADE DO NERVO SIMPÁTICO LOMBAR EM ANIMAIS ANESTESIADOS

Após a realização do protocolo experimental para avaliação do BR arterial em animais acordados, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (40 mg/kg ip, suplementado com 10 mg/kg i. p., se necessário) para a colocação de eletrodo na cadeia simpática lombar e imediato registro da atividade elétrica do nervo.

A cadeia simpática lombar foi alcançada através de uma incisão na linha média abdominal, depois da retração da aorta abdominal e veia cava, uma das cadeias simpáticas foi dissecada e recebeu um eletrodo bipolar no nível de L3 – L4 (MIKI et al., 2004). Dentro do campo cirúrgico, o eletrodo e o nervo estiveram imersos em óleo mineral (Nujol – Schering-Plough) a 37°C, para evitar ressecamento do nervo, otimizar o contato do nervo com o eletrodo e isolar eletricamente o registro da atividade simpática de ruídos externos, proporcionando adequada captação e condução de sinal do nervo lombar (ZHANG et al., 2001). Um terceiro eletrodo foi fixado na parede abdominal do animal, assumindo a função de eletrodo-terra.

O cabo do eletrodo bem como o fio terra foi conectado ao sistema de aquisição de dados elétricos, cuja atividade do nervo simpático lombar foi filtrada (300 - 3.000 Hz), amplificada com um ganho de até 100.000 (amplificador modelo CP511, Grass Technologies, EUA) e amostrada em 10.000 Hz em um microcomputador acoplado a um conversor analógico/digital (PowerLab ML866, ADInstruments, Austrália) e software apropriado (ChartTM Pro, ADInstruments, Austrália).

O animal foi mantido em gaiola de Faraday durante o todo o registro para reduzir o ruído externo. Após estabilização do sinal elétrico, foram realizados registros de cerca de 30 minutos da atividade nervosa simpática lombar (ANSL) basal ou até conseguir um trecho estável de no mínimo 10 minutos. Posteriormente, realizamos a avaliação do BR com Fen (50 µg/kg) e NPS (100 µg/kg), e em seguida

bloqueamos a ANSL com hexametônio (25 mg/kg; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). Para eutanásia, utilizamos overdose de anestésico intravenoso e registramos o ruído residual do sistema por cerca de 15 minutos após a morte do animal.

5.8 ESTUDO DO TÔNUS SIMPÁTICO SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR

A contribuição do SNS para a manutenção da PA de ratos NP e HP foi avaliada através da administração de hexametônio (25 mg/kg), um bloqueador ganglionar que suprime a atividade simpática. Assim, o tônus simpático vascular foi calculado como a diferença entre a PAM após o bloqueio e a PAM basal, sendo demonstrado como variação da PAM (Δ PAM; em mmHg).

5.9 ESTUDO DAS OSCILAÇÕES DA ATIVIDADE NERVOSA SIMPÁTICA LOMBAR

Para as análises de média e amplitude da ANSL, os sinais adquiridos foram exportados do software de registro (ChartTM Pro, ADInstruments, Austrália) para o programa Spike 5, onde o sinal adquirido foi analisado após a integração utilizando filtros apropriados. Em todos os casos, apresentamos o sinal original (bruto) e o integrado (filtrado). O ruído foi determinado após o sacrifício dos animais, o qual foi subtraído dos valores basais e após a infusão das drogas vasoativas. Os valores basais e após as infusões foram considerados sempre por um período fixo para a comparação entre os grupos (MORGAN et al., 1995).

Assim, estabelecemos dois cursores verticais no canal da atividade integrada e calculamos o valor da média no período basal, bem como antes e após a ativação do BR com Fen e inibição do BR com NPS, sempre subtraindo o valor do ruído, determinado inicialmente. Dessa forma, apresentamos a média como a variação da ANSL (Δ ANSL; em mV). Para o cálculo da amplitude, consideramos um cursor horizontal e empreendemos processo similar ao anterior, também demonstrando o valor de variação da amplitude da ANSL (Δ Amplitude ANSL; em mV).

Para avaliação da frequência, geramos um histograma a partir do sinal original no software de registro e, após extrair o valor do ruído, obtemos a taxa

correspondente aos spikes/segundos. Esse processo foi realizado para análise basal da frequência e diante da avaliação do BR, sendo apresentada a variação (Δ Frequência ANSL; em spikes/segundos) causada pela infusão de Fen e NPS.

5.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados estão expressos como média $\pm$ EPM (erro padrão da média). Os dados foram testados quanto a sua normalidade e homogeneidade de variância, através dos testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. A comparação entre os grupos normoproteico e hipoproteico foi realizada pelo teste “t” de Student não pareado, para os dados com distribuição normal e, pelo teste de Mann Whitney para os dados com distribuição não normal. O nível de significância foi considerado quando $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1 DADOS EM ANIMAIS NÃO ANESTESIADOS

A figura 3 ilustra o registro da PAP, PAM e FC de um animal representativo do grupo normoproteico (painel A) e grupo hipoproteico (painel B). Em condições basais, a prole não anestesiada proveniente de mães que receberam dieta hipoproteica na fase perinatal apresentou aos 90 dias de vida aumento dos níveis de PAM (NP: $101,5 \pm 3,1$; $n = 10$ vs HP: $111,4 \pm 2,5$ mmHg; $n = 12$; $p = 0,02$; painel C), e PAD (NP: $83,7 \pm 3,3$; $n = 10$ vs HP: $94,9 \pm 2,7$ mmHg; $n = 12$; $p = 0,01$; painel E), entretanto valores semelhantes de PAS (NP: $137,1 \pm 3,6$; $n = 10$ vs HP: $144,4 \pm 3,3$ mmHg; $n = 12$; painel D) e FC (NP: $342,4 \pm 6,7$; $n = 10$ vs HP: $356,4 \pm 5,6$ bpm; $n = 12$; painel F) quando comparado com animais controles.

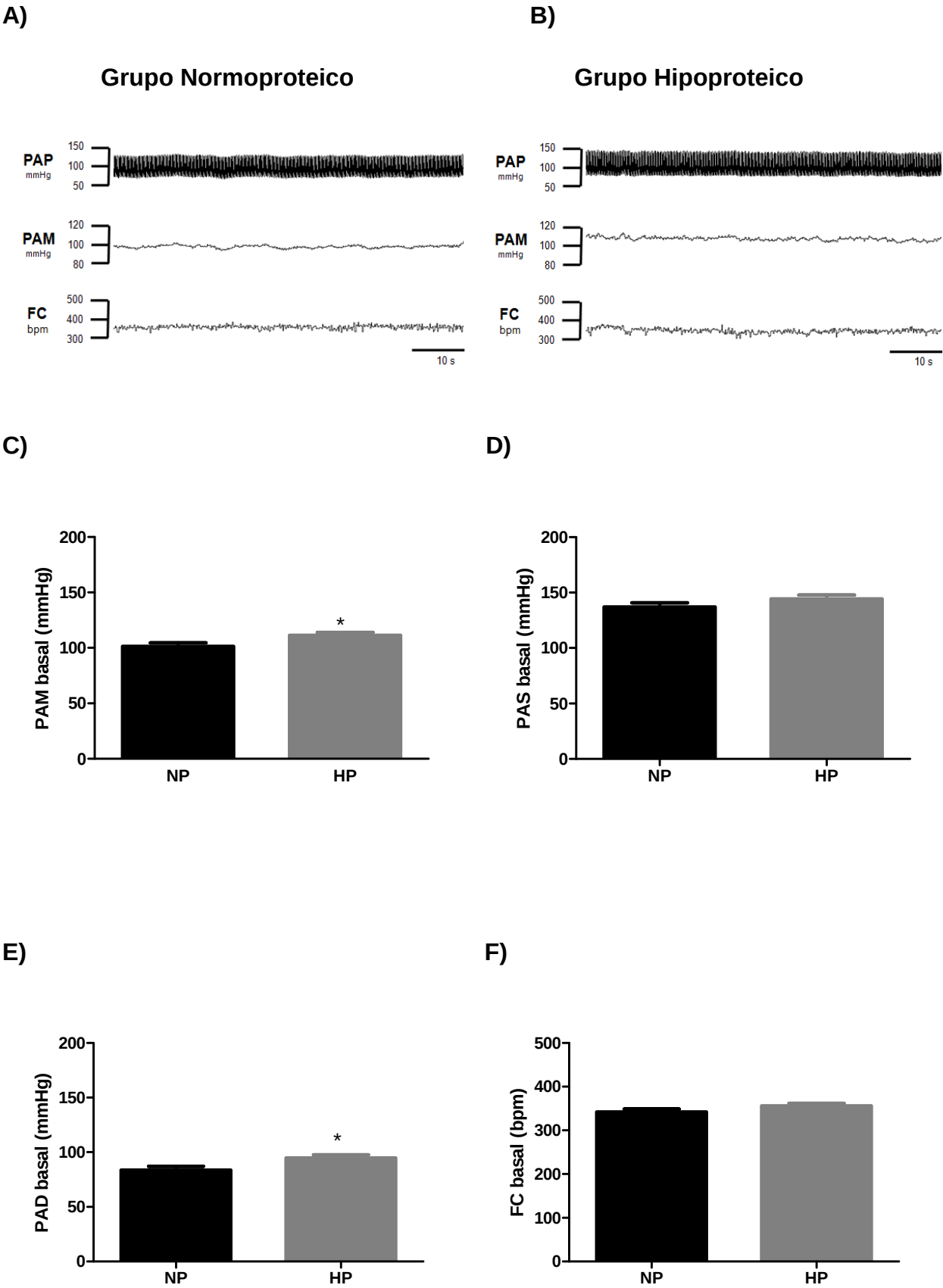
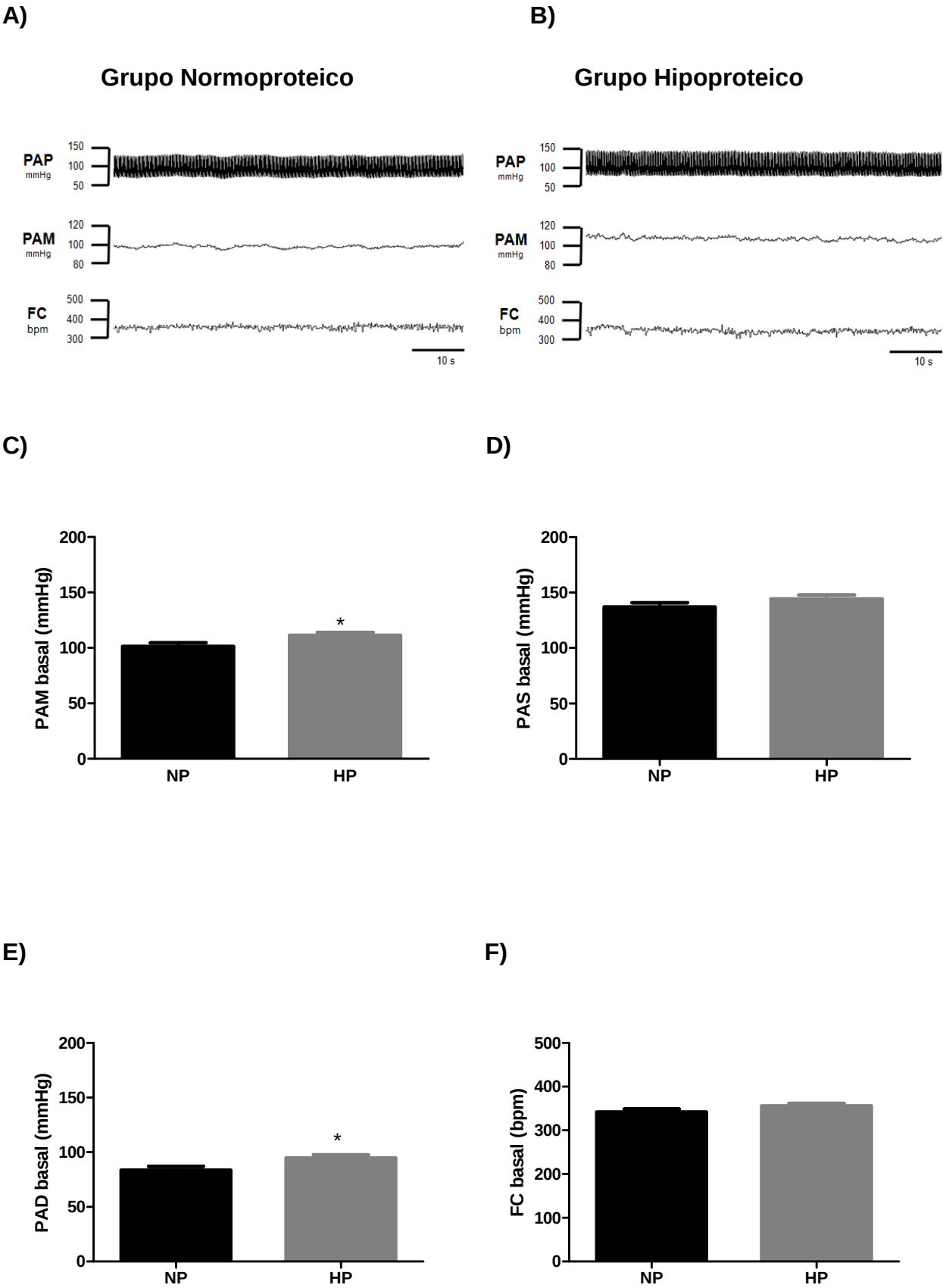
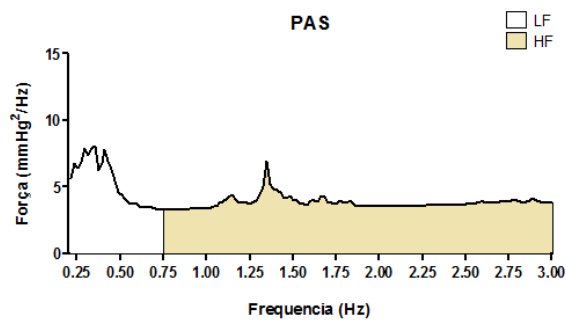


Figura 3. Parâmetros cardiovasculares basais de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida. Traçado representativo de um animal do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B) com traçados de pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) e valores médios de PAM (painel C), pressão arterial sistólica (PAS, painel D), pressão arterial diastólica (PAD, painel E) e FC (painel F) basais em ratos de 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, n = 10; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, n = 12) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM. (*) $P < 0,05$ quando comparado com o grupo NP (teste "t" de Student não pareado).

A figura 4 ilustra a análise linear da variabilidade cardíaca através do espectro médio do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B). Quando avaliada a pressão sistólica no domínio da frequência, os animais desnutridos apresentaram aumento das bandas LF (NP: $2,6 \pm 0,4$; $n = 10$ vs HP: $4,0 \pm 0,4$ mmHg²; $n = 12$; $p = 0,03$), entretanto valores semelhantes de HF (NP: $1,9 \pm 0,2$; $n = 10$ vs HP: $1,8 \pm 0,2$ mmHg²; $n = 12$; painel C) quando comparados aos animais controle. A análise do intervalo de pulso no domínio da frequência mostra que os animais desnutridos apresentaram aumento das bandas LF (NP: $29,2 \pm 3,4$; $n = 10$ vs HP: $41,9 \pm 2,5$ NU; $p = 0,006$; $n = 12$), redução das bandas HF (NP: $70,7 \pm 3,8$; $n = 10$ vs HP: $60,3 \pm 3,1$ NU; $p = 0,04$; $n = 12$; painel D) e elevação na relação LF/HF (NP: $0,4 \pm 0$; $n = 10$ vs HP: $0,8 \pm 0,1$; $p = 0,01$; $n = 12$; painel E) em relação aos animais controle.

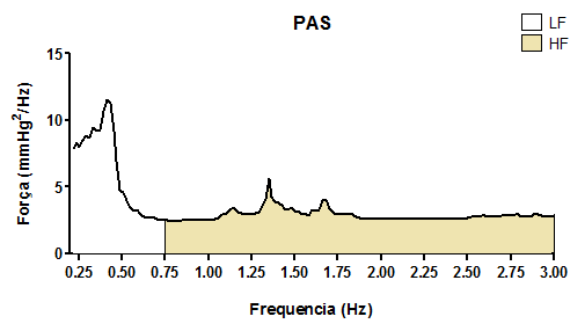
A)

Grupo Normoproteico



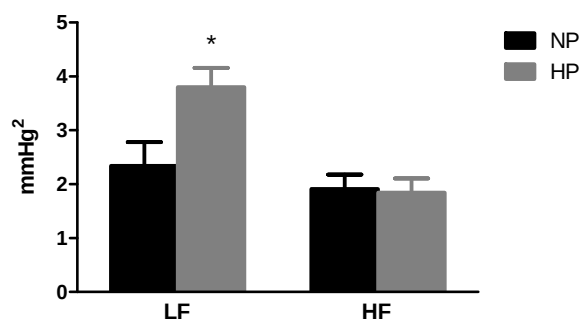
B)

Grupo Hipoproteico



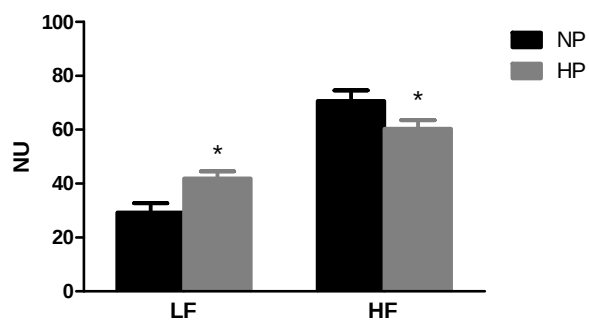
C)

Pressão Sistólica



D)

Intervalo de Pulso



E)

Intervalo de Pulso

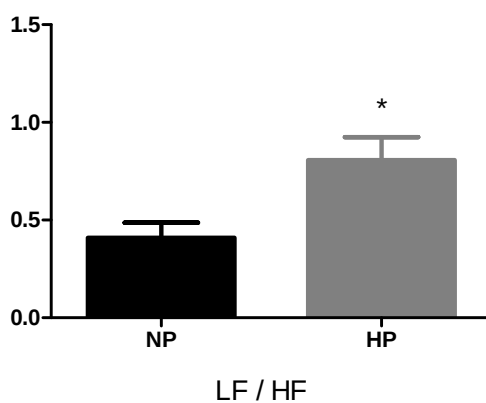


Figura 4. Parâmetros de variabilidade cardíaca de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida. Espectro médio do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B). As banda de baixa frequência (LF, 0.2 - 0.75 Hz) estão destacadas em branco e as banda de alta frequência (HF, 0.75 - 3.0 Hz) estão destacadas em amarelo. Análise espectral da pressão sistólica (painel C), do intervalo de pulso (painel D) e relação LF/HF (painel E) em ratos de 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, n = 10; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, n = 12) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM. (*) $P < 0,05$ quando comparado com o grupo NP (teste "t" de Student não pareado).

A figura 5 apresenta a análise simbólica, um método não linear de avaliação da variabilidade cardíaca, em que podemos observar que os animais desnutridos apresentaram aumento de padrões 0V (NP: $37,5 \pm 3,8$; $n = 10$ vs HP: $48,5 \pm 2,8$ %; $n = 12$; $p = 0,02$) entretanto padrões semelhantes da família 2V (NP: $11,4 \pm 2,9$; $n = 10$ vs HP: $8,6 \pm 1,5$ %; $n = 12$).

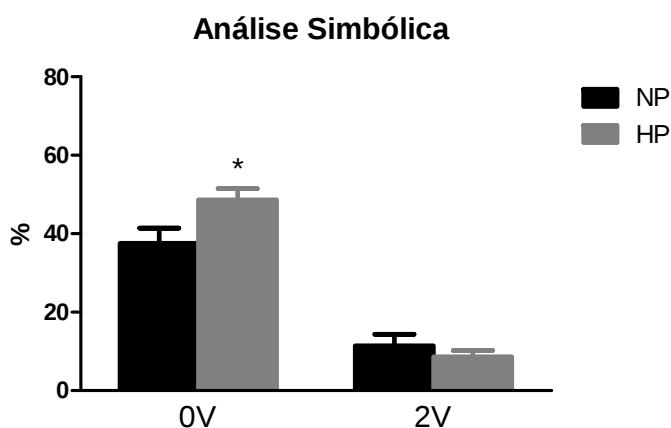


Figura 5. Avaliação não linear da variabilidade cardíaca de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida. Análise simbólica da frequência cardíaca em ratos de 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, $n = 10$; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, $n = 12$) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM. (*) $P < 0,05$ quando comparado com o grupo NP (teste "t" de Student não pareado ou teste de Mann Whitney).

A SBR espontânea, avaliada indiretamente pelo método de sequência, foi semelhante entre os grupos (NP: $0,7 \pm 0,1$; $n = 10$ vs HP: $0,9 \pm 0,1$ ms/mmHg; $n = 12$), como podemos notar na figura 6.

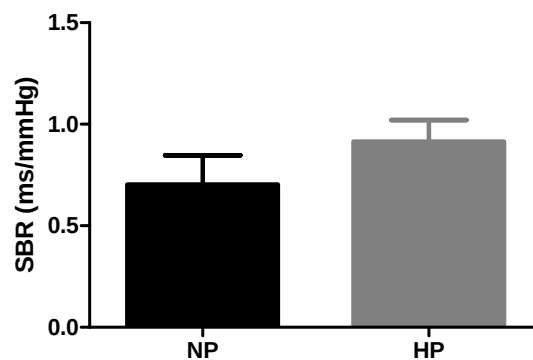


Figura 6. Sensibilidade barorreflexa espontânea de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida. Análise da sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea em ratos de 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, $n = 10$; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, $n = 12$) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM.

A tabela 2 refere-se ao comportamento da SBR induzida e mostra que em todas as doses utilizadas para inibição do BR com NPS ou ativação com Fen não houve diferença entre os grupos avaliados. O conjunto dos resultados apresentados na tabela 2 deixa evidente que o aumento da PAM observado nos animais desnutridos na fase perinatal (conforme figura 1) não pode ser atribuído à disfunção do mecanismo barorreflexo, visto que se encontra preservado.

Tabela 2. Sensibilidade barorreflexa induzida de ratos machos não anestesiados com 90 dias de vida.

BRI	NP	HP
NPS ($\mu\text{g/kg}$)		
NPS 0,5	$-3,9 \pm 0,7$	$-4 \pm 0,6$
NPS 1	$-2,5 \pm 0,4$	$-2,5 \pm 0,5$
NPS 2,5	$-3,7 \pm 0,5$	$-2,4 \pm 0,3$
NPS 5	$-3 \pm 0,5$	$-2,2 \pm 0,3$
NPS 7,5	$-2,4 \pm 0,4$	$-2,1 \pm 0,4$
NPS 10	$-2,4 \pm 0,3$	$-2 \pm 0,2$
NPS 20	$-2 \pm 0,1$	$-1,6 \pm 0,1$
NPS 30	$-1,6 \pm 0,1$	$-1,6 \pm 0,2$
NPS 40	$-2,3 \pm 0,3$	$-1,8 \pm 0,2$
NPS 50	$-2,1 \pm 0,2$	$-1,9 \pm 0,1$
Fen ($\mu\text{g/kg}$)		
Fen 0,1	$-3,7 \pm 0,8$	$-3,1 \pm 0,7$
Fen 0,3	$-2,5 \pm 0,4$	$-2,4 \pm 0,4$
Fen 0,5	$-2,5 \pm 0,2$	$-3,1 \pm 0,7$
Fen 1	$-2,2 \pm 0,2$	$-3,4 \pm 1$
Fen 1,5	$-1,8 \pm 0,3$	$-2,6 \pm 1,1$
Fen 2	$-2,2 \pm 0,2$	$-2,8 \pm 0,4$
Fen 3	$-2,3 \pm 0,3$	$-2,7 \pm 0,5$
Fen 4	$-2,5 \pm 0,2$	$-3,8 \pm 0,9$
Fen 6	$-2,6 \pm 0,2$	$-3,2 \pm 0,7$
Fen 8	$-2,5 \pm 0,2$	$-3,3 \pm 0,6$

BRI: Barorreflexo induzido, medido em bpm/mmHg; NP: Normoproteico (n = 10); HP: Hipoproteico (n = 12); NPS: Nitroprussiato de sódio; Fen: Fenilefrina.

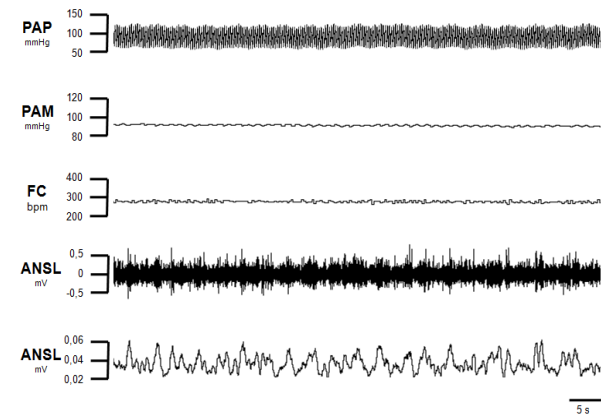
6.2 DADOS EM ANIMAIS ANESTESIADOS

A figura 7 mostra o registro da PAP, PAM, FC, ANSL original e ANSL integrada de um animal representativo do grupo normoproteico (painel A) e grupo hipoproteico (painel B). Em condições basais, os animais proveniente de mães que receberam dieta hipoproteica na fase perinatal apresentaram aos 90 dias de vida aumento dos níveis de PAM (NP: $89 \pm 4,9$; $n = 12$ vs HP: $101,1 \pm 2,2$ mmHg; $n = 17$; $p = 0,01$; painel C), PAS (NP: $109,7 \pm 4,9$; $n = 12$ vs HP: $122,7 \pm 3,2$ mmHg; $n = 17$; $p = 0,03$; painel D) e PAD (NP: $78,7 \pm 5,3$; $n = 12$ vs HP: $90,3 \pm 2,4$ mmHg; $n = 17$; $p = 0,03$; painel E), contudo valores semelhantes de FC (NP: $273 \pm 13,8$; $n = 12$ vs HP: $269,1 \pm 10,6$ bpm; $n = 17$; painel F) quando comparado com animais controle.

Ainda em condições basais, os animais desnutridos apresentaram média da ANSL (NP: $0,0320 \pm 0,008$; $n = 12$ vs HP: $0,0282 \pm 0,005$ mV; $n = 17$; painel G) semelhante ao grupo controle. Da mesma forma, a análise da amplitude da ANSL dos animais do grupo HP evidenciou valores análogos quando comparados aos do grupo NP em condições basais (NP: $0,044 \pm 0,012$; $n = 12$ vs HP: $0,052 \pm 0,009$ mV; $n = 17$; painel H). O painel I da figura 5 representa o comportamento da frequência da ANSL dos animais desnutridos e controles em condições basais (NP: $167,5 \pm 5,9$; $n = 12$ vs HP: $160,5 \pm 4,5$ spikes/seg; $n = 17$), cujos grupos obtiveram resultados semelhantes.

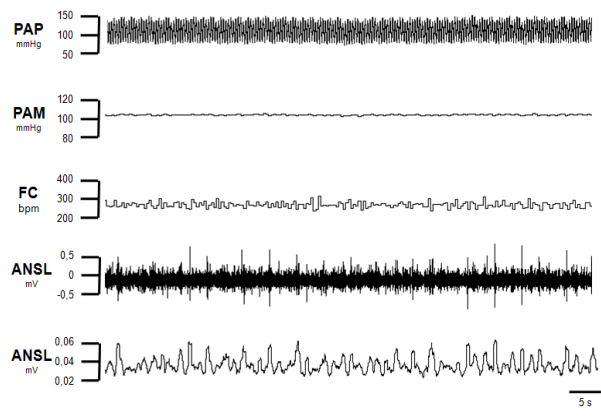
A)

Grupo Normoproteico

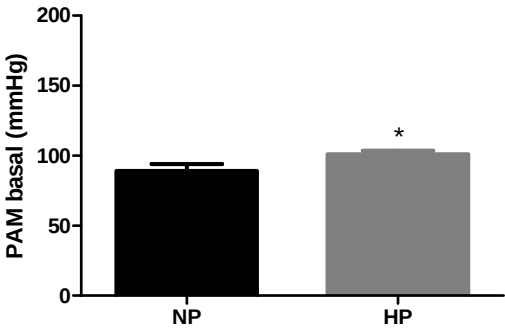


B)

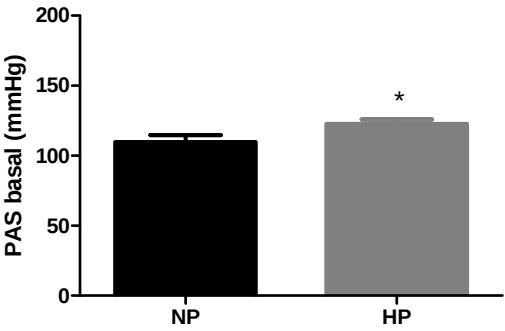
Grupo Hipoproteico



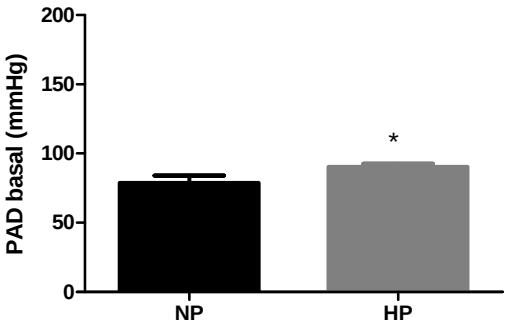
C)



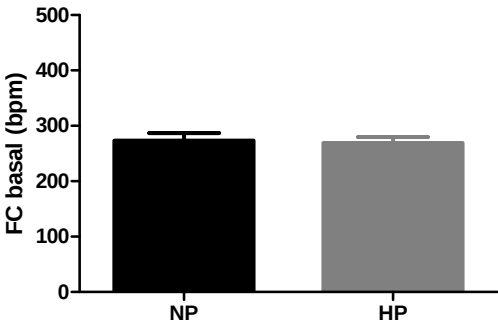
D)



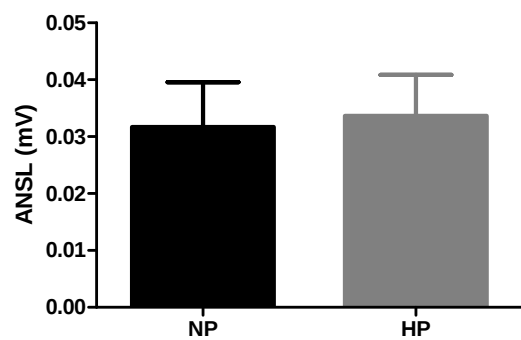
E)



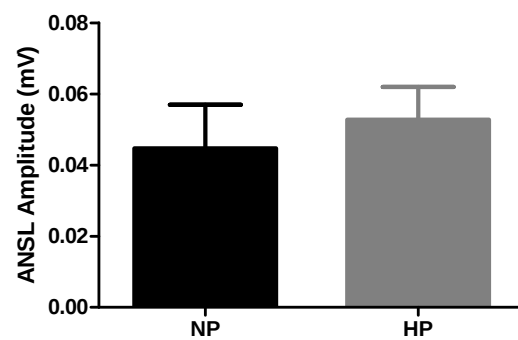
F)



G)



H)



I)

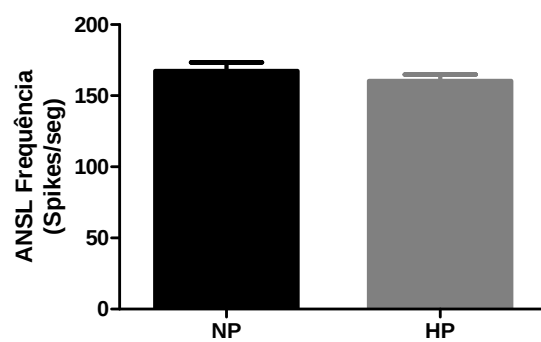
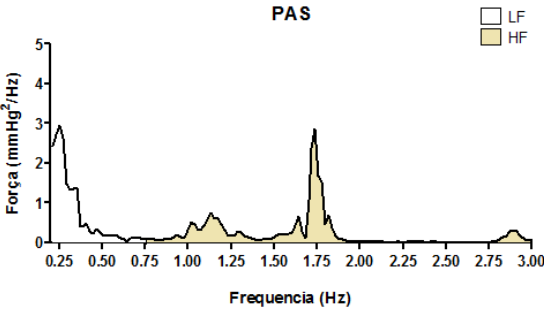


Figura 7. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade basal do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida. Traçado representativo de um animal do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B) com traçados de pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), atividade nervosa simpática lombar (sinal bruto, ANSL) e ANSL integrada (J). Valores da PAM basal (painel C), pressão arterial sistólica basal (PAS, painel D), pressão arterial diastólica basal (PAD, painel E), FC basal (painel F), variação média da ANSL (painel G), de amplitude da ANSL (painel H), e de frequência da ANSL (painel I) basal de ratos anestesiados aos 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, n = 12; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, n = 17) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM. (*) $P < 0,05$ quando comparado com o grupo NP (teste "t" de Student não pareado ou teste de Mann Whitney).

A figura 8 mostra a análise linear da variabilidade cardíaca em animais anestesiados através do espectro de um animal representativo do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B). Quando avaliada a pressão sistólica no domínio da frequência, os animais desnutridos apresentaram valores semelhantes das bandas LF (NP: $2,5 \pm 1,2$; $n = 7$ vs HP: $2,7 \pm 1,2$ mmHg²; $n = 11$) e HF (NP: $1,5 \pm 0,4$; $n = 7$ vs HP: $2,4 \pm 0,6$ mmHg²; $n = 11$; painel C) quando comparados aos animais controle. A análise do intervalo de pulso no domínio da frequência demonstra que os animais desnutridos não apresentaram diferença nas bandas LF (NP: $23,2 \pm 5,9$; $n = 7$ vs HP: $29,5 \pm 7,6$ NU; $n = 11$), HF (NP: $82,2 \pm 5,4$; $n = 7$ vs HP: $70,4 \pm 7,6$ NU; $n = 11$; painel D) e na relação LF/HF (NP: $0,2 \pm 0,09$; $n = 7$ vs HP: $0,2 \pm 0,09$; $n = 11$; painel E) em relação aos animais controle.

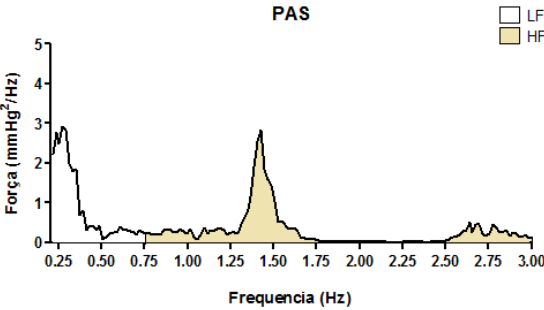
A)

Grupo Normoproteico



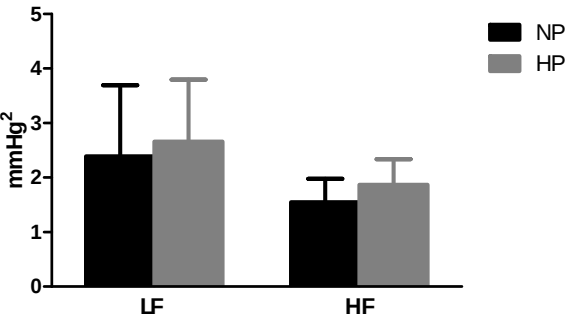
B)

Grupo Hipoproteico



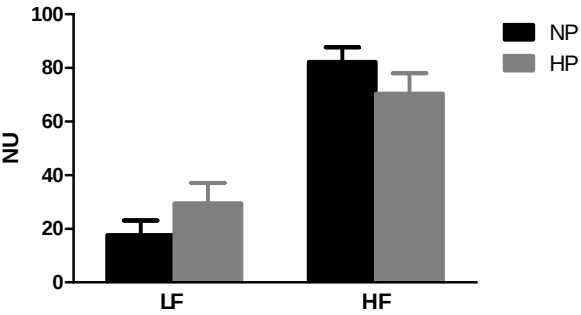
C)

Pressão Sistólica



D)

Intervalo de Pulso



E)

Intervalo de Pulso

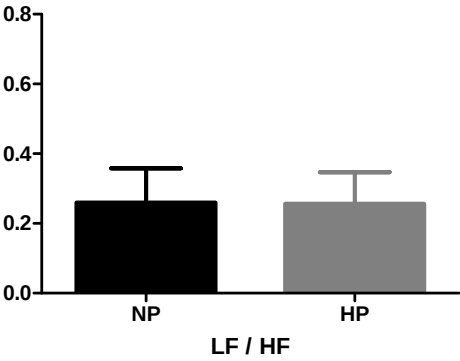


Figura 8. Parâmetros de variabilidade cardíaca de ratos machos anestesiados com 90 dias de vida. Espectro representativo de um animal do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B). As banda de baixa frequência (LF, 0.2 - 0.75 Hz) estão destacadas em branco e as banda de alta frequência (HF, 0.75 - 3.0 Hz) estão destacadas em amarelo. Análise espectral da pressão sistólica (painel C), do intervalo de pulso (painel D) e relação LF/HF (painel E) em ratos de 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, n = 7; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, n = 11) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM.

Mediante análise simbólica, um método não linear de avaliação da variabilidade cardíaca, observamos na figura 9 que os animais desnutridos apresentaram semelhante padrão 0V (NP: $27,9 \pm 4,8$; $n = 7$ vs HP: $31,7 \pm 6,7$ %; $n = 11$) bem como os padrões da família 2V (NP: $16,5 \pm 4,7$; $n = 7$ vs HP: $14,4 \pm 2,6$ %; $n = 11$).

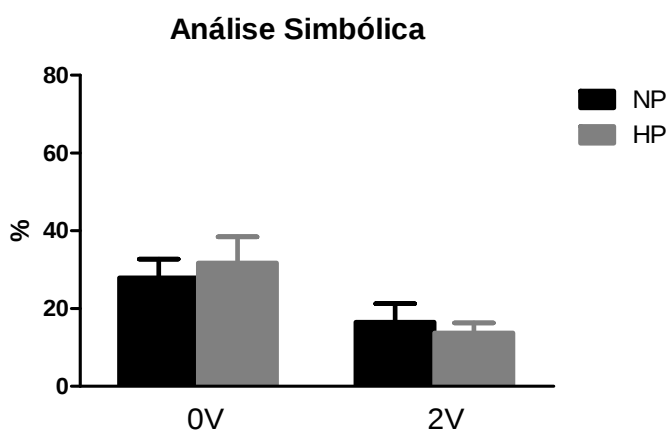


Figura 9. Avaliação não linear da variabilidade cardíaca de ratos machos anestesiados com 90 dias de vida. Análise simbólica da frequência cardíaca em ratos de 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, $n = 7$; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, $n = 11$) provenientes de mães submetidas a dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM.

A figura 10 ilustra a SBR espontânea em animais anestesiados, avaliada indiretamente pelo método de sequência. Os dados foram semelhantes entre os grupos (NP: $0,34 \pm 0,02$; $n = 7$ vs HP: $0,27 \pm 0,03$ ms/mmHg; $n = 11$).

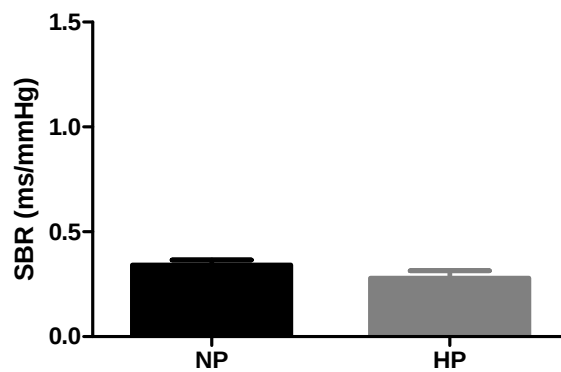
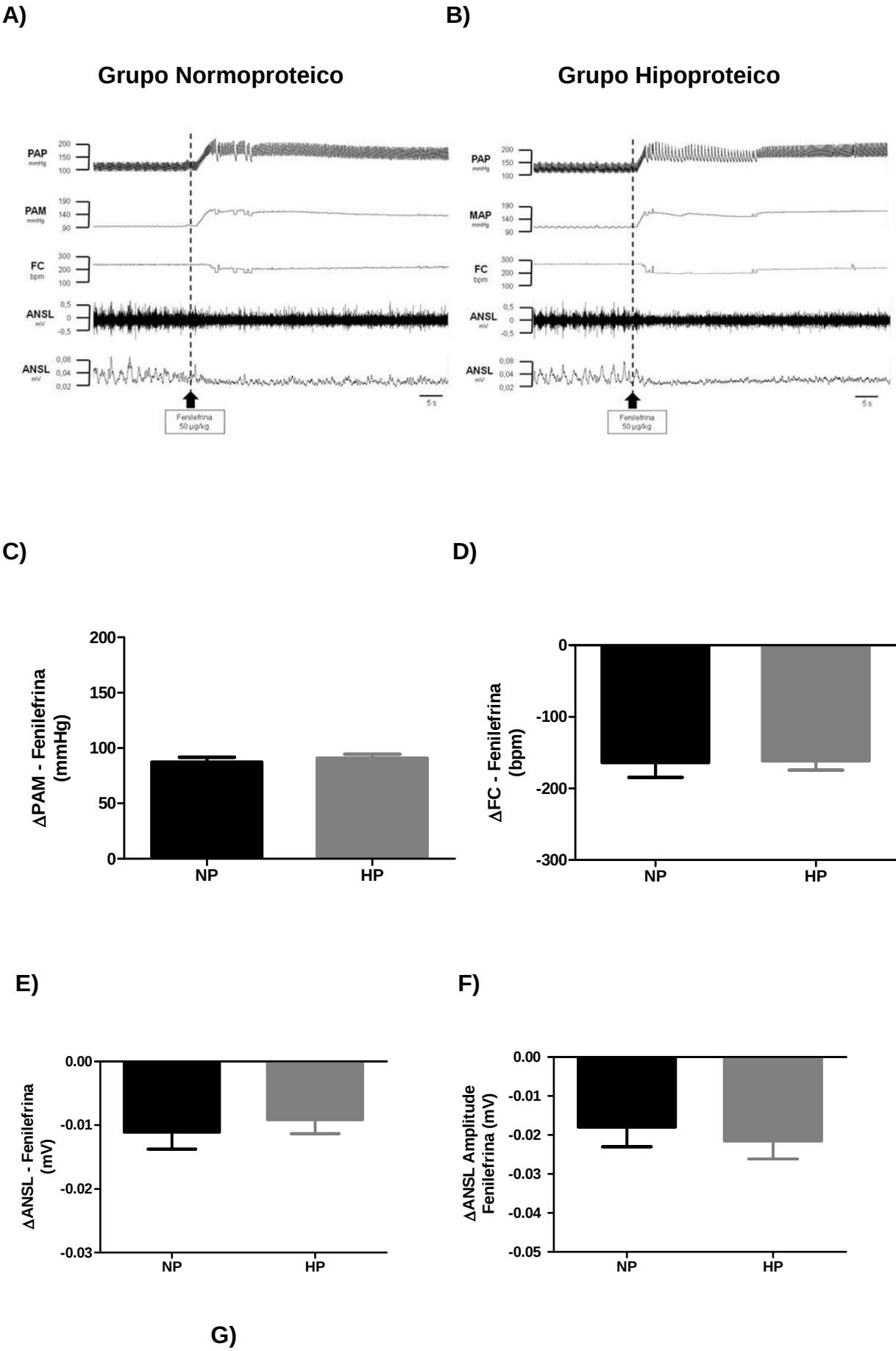


Figura 10. Sensibilidade barorreflexa espontânea de ratos machos anestesiados com 90 dias de vida. Análise da sensibilidade barorreflexa (SBR) espontânea em ratos de 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, $n = 7$; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, $n = 11$) provenientes de mães submetidas a dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM.

A figura 11 expõe o traçado da PAP, PAM, FC, ANSL original e ANSL integrada de um animal representativo do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B) diante da ativação do BR com Fen. Os animais desnutridos apresentaram valores semelhantes de variação de PAM (NP: $87,4 \pm 4,2$; $n = 12$ vs HP: $90,8 \pm 3,5$ mmHg; $n = 17$; painel C) e FC (NP: -163 ± 20 ; $n = 12$ vs HP: -161 ± 12 bpm; $n = 17$; painel D) quando comparados aos controles. De modo semelhante, os animais do grupo HP não apresentaram diferença na variação média da ANSL (NP: $-0,011 \pm 0,002$; $n = 12$ vs HP: $-0,009 \pm 0,002$ mV; $n = 17$; painel E), bem como amplitude (NP: $-0,018 \pm 0,004$; $n = 12$ vs HP: $-0,021 \pm 0,004$ mV; $n = 17$; painel F) e frequência (NP: $-16,9 \pm 3,7$; $n = 12$ vs HP: $-15,9 \pm 4$ spikes/seg; $n = 17$; painel G) quando comparados aos controles.



C)

200
150
100
50
0
ΔPAM - Fenilefrina (mmHg)

NP HP

D)

0
-100
-200
-300
ΔFC - Fenilefrina (bpm)

NP HP

E)

0.00
-0.01
-0.02
-0.03
ΔANSL - Fenilefrina (mV)

NP HP

F)

0.00
-0.01
-0.02
-0.03
-0.04
-0.05
ΔANSL Amplitude Fenilefrina (mV)

NP HP

G)

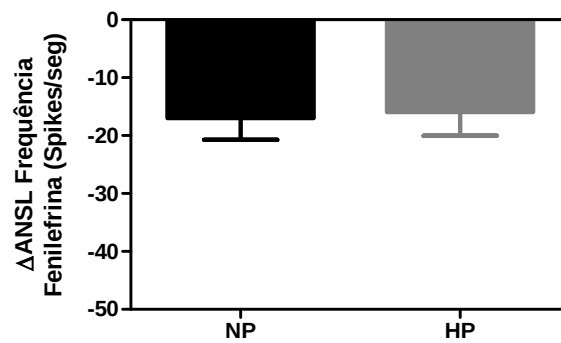
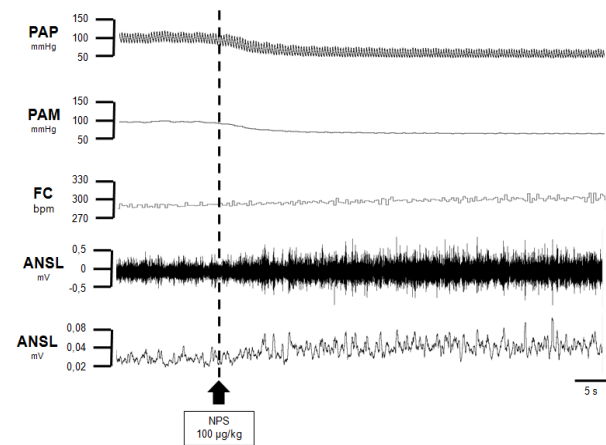


Figura 11. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida submetidos à ativação do barorreflexo com fenilefrina. Traçado representativo de um animal do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B) com traçados de pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), atividade nervosa simpática lombar (sinal bruto, ANSL) e ANSL integrada (J). Valores da variação da PAM (Δ PAM, painel C), da FC (Δ FC, painel D), da média de ANSL (Δ ANSL, painel E), da amplitude de ANSL (Δ ANSL Amplitude, painel F), e da frequência de ANSL (Δ ANSL Frequência, painel G) após administração em bolus de fenilefrina (50 μ g/kg, indicado pela seta preta no painel A e B) em ratos anestesiados aos 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, n = 12; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, n = 17) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM.

A figura 12 exibe o registro da PAP, PAM, FC, ANSL original e ANSL integrada de um animal representativo do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B) diante da inibição do BR com NPS. Os animais desnutridos apresentaram valores semelhantes de variação de PAM (NP: $52,8 \pm 3,2$; $n = 12$ vs HP: $58 \pm 1,3$ mmHg; $n = 17$; painel C) e FC (NP: 21 ± 3 ; $n = 11$ vs HP: 26 ± 6 bpm; $n = 17$; painel D) quando comparados aos controles. Quando inibimos o BR com NPS, os animais desnutridos apresentaram valores semelhantes de variação média da ANSL (NP: $0,014 \pm 0,004$; $n = 12$ vs HP: $0,013 \pm 0,002$ mV; $n = 17$; painel E), bem como amplitude (NP: $0,023 \pm 0,011$; $n = 12$ vs HP: $0,018 \pm 0,004$ mV; $n = 17$; painel F) e frequência (NP: $12 \pm 3,9$; $n = 12$ vs HP: $9,9 \pm 2,2$ spikes/seg; $n = 17$; painel G) quando comparados aos controles.

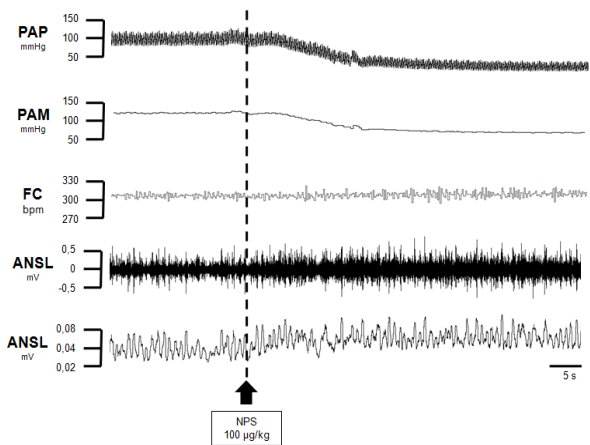
A)

Grupo Normoproteico

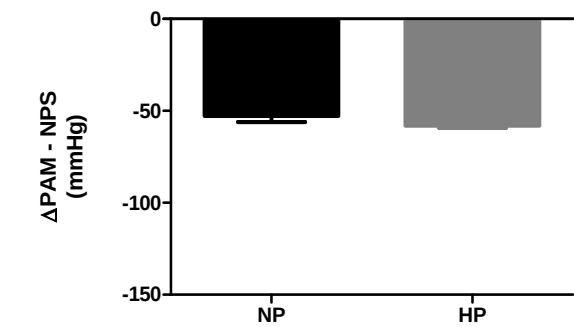


B)

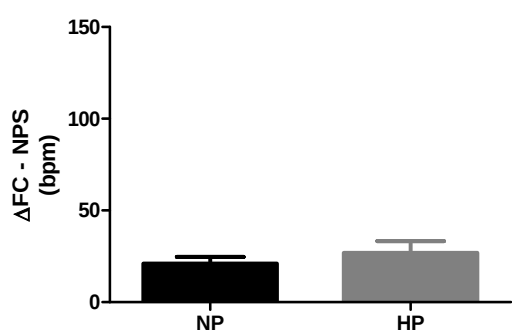
Grupo Hipoproteico



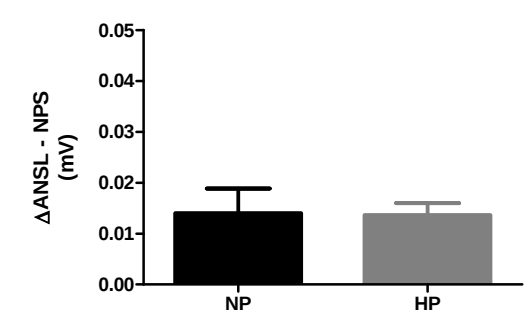
C)



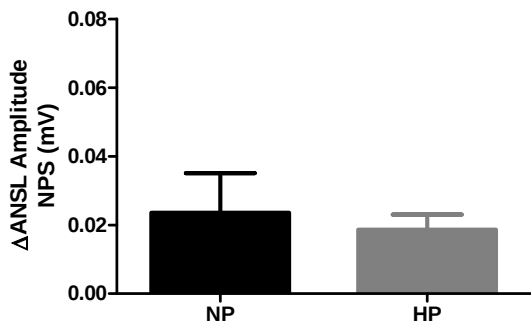
D)



E)



F)



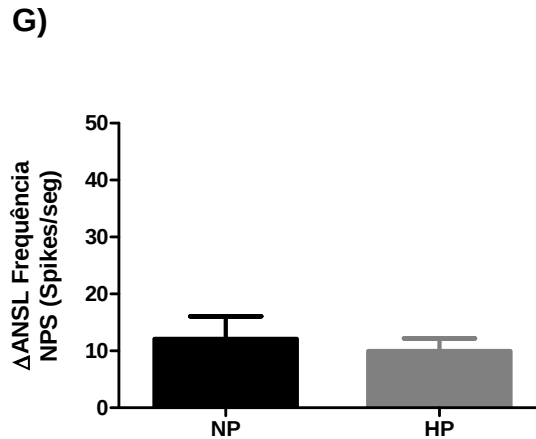
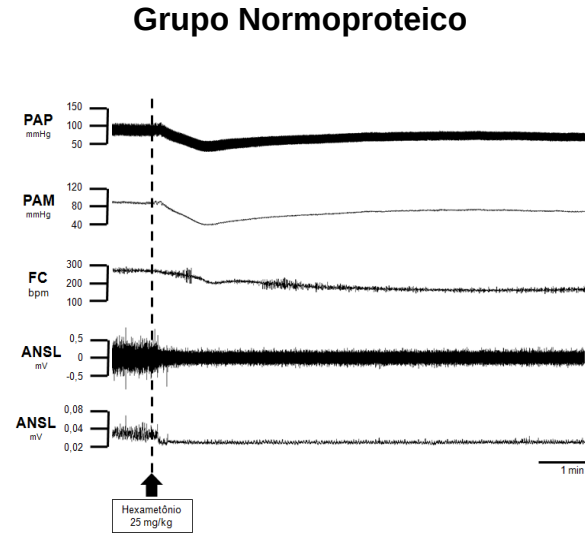


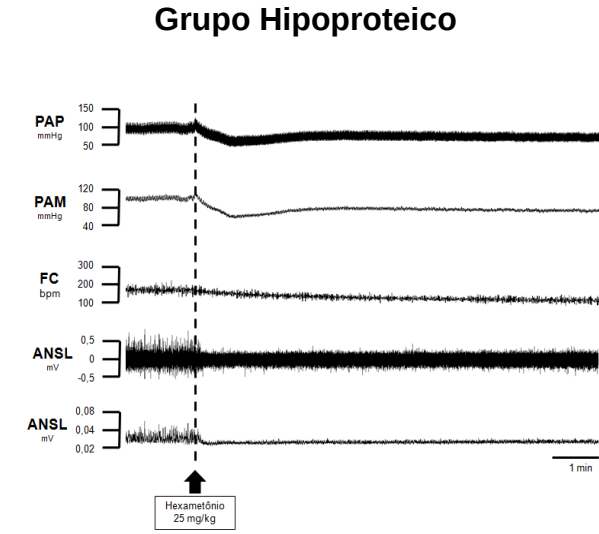
Figura 12. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida submetidos à inibição do barorreflexo com nitroprussiato de sódio (NPS). Traçado representativo de um animal do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B) com traçados de pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), atividade nervosa simpática lombar (sinal bruto, ANSL) e ANSL integrada (J). Valores da variação da PAM (Δ PAM, painel C), da FC (Δ FC, painel D), da média de ANSL (Δ ANSL, painel E), da amplitude de ANSL (Δ ANSL Amplitude, painel F), e da frequência de ANSL (Δ ANSL Frequência, painel G) após administração em bolus de NPS (100 μ g/kg, indicado pela seta preta no painel A e B) em ratos anestesiados aos 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, n = 12; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, n = 17) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM.

A figura 13 apresenta o traçado da PAP, PAM, FC, ANSL original e ANSL integrada de um animal representativo do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B). A partir do bloqueio ganglionar com hexametônio, os animais desnutridos apresentaram valores semelhantes de variação de PAM (NP: $-47,6 \pm 5,2$; $n = 12$ vs HP: $-44,9 \pm 3,3$ mmHg; $n = 17$; painel C) e FC (NP: $-84,8 \pm 25$; $n = 12$ vs HP: $-84,6 \pm 22$ bpm; $n = 17$; painel D) quando comparados aos controles. De tal maneira, os animais desnutridos não apresentaram diferença na variação média da ANSL (NP: $-0,018 \pm 0,006$; $n = 12$ vs HP: $-0,017 \pm 0,003$ mV; $n = 17$; painel E), bem como amplitude (NP: $-0,021 \pm 0,008$; $n = 12$ vs HP: $-0,029 \pm 0,007$ mV; $n = 17$; painel F) e frequência (NP: $-22,3 \pm 3,8$; $n = 12$ vs HP: $-20,7 \pm 4,1$ spikes/seg; $n = 17$; painel G) quando comparados aos controles.

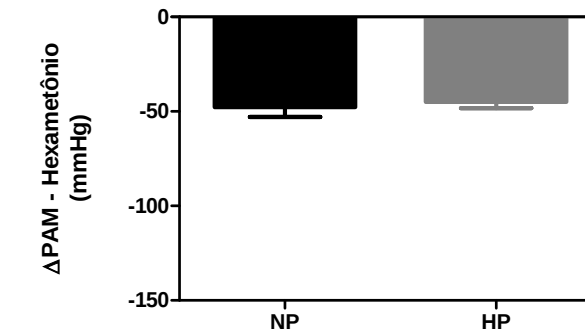
A)



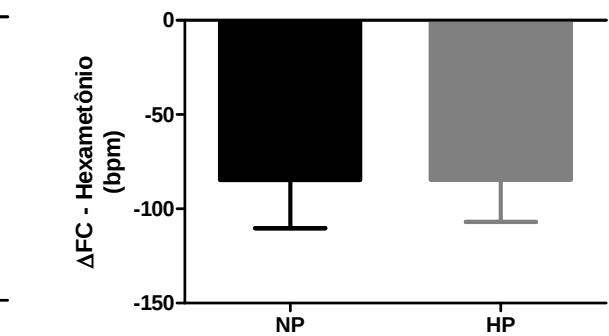
B)



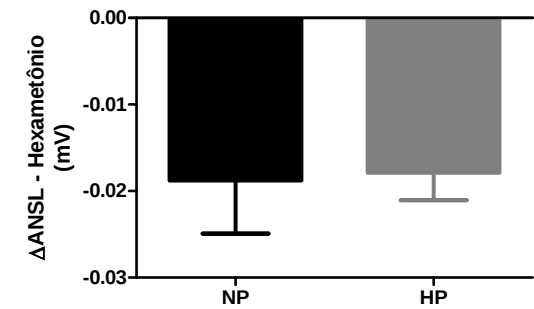
C)



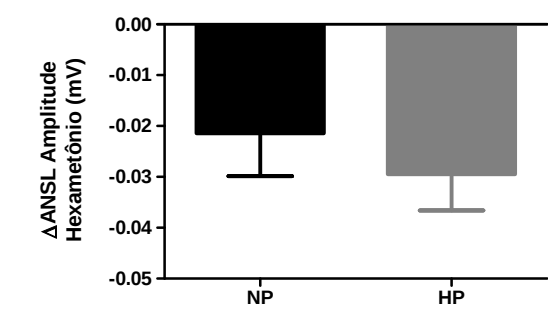
D)



E)



F)



G)

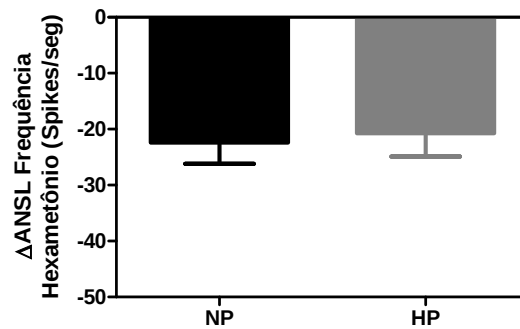


Figura 13. Parâmetros hemodinâmicos e da atividade do nervo simpático lombar de ratos machos anestesiados aos 90 dias de vida submetidos à bloqueio ganglionar com hexametônio. Traçado representativo de um animal do grupo normoproteico (painel A) e hipoproteico (painel B) com traçados de pressão arterial pulsátil (PAP), pressão arterial média (PAM), frequência cardíaca (FC), atividade nervosa simpática lombar (sinal bruto, ANSL) e ANSL integrada (J). Valores da variação da PAM (Δ PAM, painel C), da FC (Δ FC, painel D), da média de ANSL (Δ ANSL, painel E), da amplitude de ANSL (Δ ANSL Amplitude, painel F), e da frequência de ANSL (Δ ANSL Frequência, painel G) após administração em bolus de hexametônio (25 mg/kg, indicado pela seta preta no painel A e B) em ratos anestesiados aos 90 dias de vida (grupo normoproteico, NP; barras pretas, $n = 12$; e grupo hipoproteico, HP; barras cinza, $n = 17$) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante a gestação e lactação. Os valores foram expressos como média $\pm$ EPM.

7. DISCUSSÃO

Evidências experimentais recentes do nosso laboratório apoiam a relação entre desnutrição proteica perinatal e HAS na fase adulta (BRITO-ALVES et al., 2014; BARROS et al., 2015), contudo os mecanismos responsáveis pelo surgimento da disfunção cardiovascular não são completamente entendidos. No presente estudo, avaliamos o nível basal e o controle barorreflexo da PA e ANSL na prole de animais que sofreram desnutrição na fase da gestação e lactação.

As principais conclusões deste estudo revelam que animais submetidos à restrição proteica perinatal apresentam aos 90 dias de vida I) predominante influência do SNS quando não anestesiados; II) integridade do controle barorreflexo da PA evidenciado a partir de avaliação do BR espontâneo e induzido; e III) preservação da modulação barorreflexa da atividade simpática a partir de registros diretos do nervo simpático lombar. Esses dados indicam que o aumento do tônus simpático e consequente HAS neste modelo experimental não está relacionado com alterações no mecanismo barorreflexo.

O insulto nutricional materno correlaciona-se com retardo no crescimento físico e atrasos de desenvolvimento neurológico de uma maneira independente do sexo, além de afetar outros sistemas (BELLUSCIO et al., 2014). Estudos têm demonstrado que a desnutrição, quando aplicada nos períodos críticos do desenvolvimento, aumenta a predisposição de o indivíduo desenvolver doenças cardiovasculares (FORSDAHL, 1977; HALES e BARKER, 1992). Assim, a associação entre desnutrição proteica na gestação (BRAWLEY et al., 2003), lactação (LUZARDO et al., 2011) ou pós desmame (COSTA-SILVA et al., 2009; MURÇA et al., 2012) e aumento dos níveis de pressão sanguínea na vida adulta já havia sido anteriormente descrito em estudos experimentais. Particularmente, observa-se que a prole submetida à privação proteica na fase perinatal, que compreende gestação e lactação, apresenta HAS aos 90 dias de vida (FERNANDEZ-TWINN et al., 2006; TORRES et al., 2008; BRITO-ALVES et al., 2014; BARROS et al., 2015), o que corrobora com nossos achados.

O funcionamento adequado do sistema cardiovascular está na dependência de diferentes sistemas controladores que garantem ajustes apropriados da frequência e contratilidade cardíacas, e do estado contrátil dos vasos de capacitância e resistência. Entre outros, participam desse controle o sistema nervoso autônomo, balanceando a atividade simpática e parassimpática, e os sensores periféricos, onde destacamos a influência dos barorreceptores arteriais.

Admite-se, portanto, que alterações na PA, como as encontradas na HAS, poderiam resultar da disfunção dos sistemas de controle cardiovascular, entre eles o barorreflexo arterial (IRIGOYEN et al., 2001).

Oscilações de origem autonômica desempenham um importante papel na manutenção da eletrofisiologia cardíaca (KAPA et al., 2010). A PA e a FC estão constantemente submetidas a flutuações no tônus autonômico, determinadas pela atuação simpática e parassimpática, estímulos como respiração e graus variáveis de estimulação dos barorreceptores arteriais (HAINSWORTH et al., 1970; HAINSWORTH, 1991), são os responsáveis por este padrão dinâmico da atividade autonômica.

Desta forma, vários métodos foram desenvolvidos para avaliar a função autonômica através do comportamento variável espontâneo da PA e FC (CASTRO et al., 1992). Métodos não invasivos, capazes de detectar alterações precoces na modulação autonômica cardíaca (ROBERTS, 2009), como análises lineares da variabilidade da PAS e IP no domínio da frequência, são ferramentas úteis para estudar o tônus simpátovagal nas disfunções cardiovasculares (STAUSS, 2007).

A decomposição da PAS e IP em espectros, técnica muito utilizada em modelos experimentais, permite a caracterização quantitativa dada em termos absolutos e relativos das atividades simpática e parassimpática cardíacas, por meio das frequências das ondas e suas respectivas origens fisiológicas (PAGANI e MALLIANI, 1994).

O estudo no domínio da frequência ou a análise espectral tem alcançado considerável interesse por ser um método não invasivo que estima atividade neural e de outros sistemas para oscilações da PA e FC a curto e longo prazo. Os algoritmos mais utilizados para o desenvolvimento da potência espectral são a transformada rápida de Fourier e a análise autorregressiva. Com esse tipo de análise podemos obter os espectros com suas respectivas potências a partir de bandas de frequência predeterminadas (TASK FORCE, 1996).

De maneira geral, temos o componente de muito baixa frequência (VLF, do inglês *very low frequency*, 0 - 0.2 Hz), mediado pela termorregulação e modulação hormonal do sistema cardiovascular, como o sistema renina-angiotensina-aldosterona; o componente de baixa frequência (LF, 0.2 - 0.75 Hz), mediado pelo reflexo barorreceptor, com influências mistas do simpático e parassimpático; e o componente de alta frequência (HF, 0.75 - 3 Hz), indicador de tônus vagal que

expressa a influência parassimpática sobre o nó sinusal e sistema respiratório (PUMRLA et al., 2002; STRAUSS e PERSSON, 2006; BERTAGNOLLI et al., 2008).

Sabendo que as variações dos intervalos R-R estão na dependência de moduladores biológicos, o componente LF no espectro da PAS correlaciona-se à ação barorreflexa e da atividade simpática, enquanto a densidade HF pode ser associada à influência da frequência respiratória (FR) sobre o sistema cardiovascular (MALLIANI et al., 1991). Em nosso estudo, observamos que os animais desnutridos na fase perinatal apresentam aumento do espectro LF da PAS, sugerindo indiretamente a atuação do SNS no controle da PA, quando comparados aos seus pares. Na análise do IP, as bandas de LF correspondem principalmente à participação do SNS e as bandas de HF são consideradas um produto da atividade eferente parassimpática (MONTANO et al., 2009), enquanto que a relação LF/HF consiste um índice que reflete a interação simpátovagal cardíaca (KUWAHARA, 1994). Encontramos aumento do componente LF e redução das bandas HF, com consequente aumento na relação LF/HF para o coração, o que reforça a hipótese da participação do SNS na manutenção de níveis elevados de PA.

Além disso, devemos considerar o método de avaliação não-linear da modulação autonômica cardíaca, que consiste na análise da dinâmica simbólica a partir da variabilidade do IP. Tem sido utilizada como ferramenta para quantificação de informação carregada por uma série temporal de três batimentos consecutivos, onde são identificadas as famílias de padrões de variação (0V, 1V e 2V) (PORTA et al., 2001; 2007). O padrão 0V corresponde às oscilações de baixa frequência, relacionado com a modulação simpática cardíaca, enquanto a família 2V, está pautada à influência eferente parassimpática ou de alta frequência (GUZZETTI et al., 2005). Mediante essa avaliação notamos um aumento percentual das sequências 0V, fortalecendo a relação de hiperatividade simpática e desenvolvimento de HAS.

Juntos, esses dados, observados em animais não anestesiados, sugerem fortemente um desequilíbrio autonômico para o sistema cardiovascular, reforçam a relação de hiperatividade simpática e HAS e corroboram com estudo recente de nosso laboratório (BARROS et al., 2015). Contudo, as alterações na variabilidade da PAS e IP foram abolidas quando repetimos o protocolo em animais em condições de anestesia. Estudos tem evidenciado a diminuição dos componentes LF e HF de uma forma dependente da profundidade da anestesia induzida pelo tiopental (TSUCHIYA

et al., 2006), sugerindo uma forte influência do anestésico nas oscilações espontâneas da PAS e IP.

Sabe-se que o BR arterial é a principal forma de controle rápido da PA, enquanto o comprometimento funcional dos barorreceptores pode contribuir para o estabelecimento de alterações primárias em outros sistemas que influenciam o desempenho cardiovascular adequado. Dados da literatura têm sugerido uma associação entre disfunção barorreflexa e hiperatividade simpática, com desenvolvimento posterior de hipertensão arterial (FLORAS et al., 1988; SOUZA et al., 2001; TSYRLIN et al., 2013).

Alguns modelos experimentais de HAS têm demonstrado alterações no controle BR dos níveis pressóricos. A SBR é um índice comumente utilizado para avaliar a eficiência do mecanismo em controlar a PA, e representa a capacidade de resposta reflexa da FC diante das oscilações na PA, tendo como objetivo a manutenção da pressão sanguínea em níveis relativamente estreitos. É calculado a partir da derivação da FC em função de variação da PAM ($\Delta FC/\Delta PAM$) (ABDALA et al., 2003).

Em ratos espontaneamente hipertensos (REH) com 13 semanas de vida, foi observado prejuízo na SBR, quando submetida a teste com Fen (VALENTE et al., 2009). De forma semelhante, ratos com hipertensão renovascular (modelo 2R1C) com 14-15 semanas de vida apresentam uma significativa redução da SBR, além de maior ANS cervical (TSYRLIN et al., 2013).

Estudo posterior, utilizando um modelo de restrição proteica após lactação, demonstrou que a desnutrição causa elevação dos níveis de PA e disfunção BR. Além disso, os ratos desnutridos apresentaram aumento de latência do BR, ou seja, atraso no desencadeamento das respostas reflexas de FC quando comparada com a dos animais controles, o que os autores correlacionam com um desequilíbrio autonômico para o coração (LOSS et al., 2007), sugerindo uma ampla participação do controle BR no processo de desenvolvimento da hipertensão. Assim, uma das hipóteses testadas no nosso trabalho foi que a disfunção barorreflexa poderia estar envolvida no processo de instalação da HAS em animais submetidos à desnutrição proteica perinatal.

A eficiência dos barorreceptores em animais de experimentação pode ser estimada através de métodos indiretos, como de sequência espontânea, e induzida mediante infusão de drogas vasoativas. Juntos, esses métodos de avaliação

fornece informações complementares sobre o BR, provendo implicações acerca de disfunção autonômicas e cardiovasculares (BONYHAY et al., 2013).

Algoritmos computadorizados têm sido desenvolvidos para quantificar as flutuações espontâneas da PA e FC. Esse método identifica simultaneamente sequências curtas entre o sistograma (série temporal da PAS) e o tacograma (série temporal do IP) (PARATI et al., 2000). Para avaliar a SBR, o método utiliza pequenas variações espontâneas de PA e intervalo R-R, baseando-se na detecção de sequências de batimentos consecutivos nos quais aumentos progressivos da PAS são seguidos, com apenas um batimento de atraso, por aumentos progressivos do IP ou, de modo contrário, diminuições progressivas de PAS são seguidas por diminuições progressivas de IP, (ROBBE et al., 1987; PARATI et al., 1988; FRATOLLA et al., 1997; PARATI e RIENZO, 2002).

Em animais submetidos à restrição proteica perinatal, observamos resultados semelhantes de SBR espontânea quando comparamos aos ratos controle, ratificando a integridade do mecanismo BR nestes animais. Apesar dos valores alcançados usando o método de sequência espontânea sejam similares aos obtidos quando a PA é alterada por infusão de drogas vasoativas, o uso dessas substâncias tem sido extensivamente empregado por permitir a exploração da atividade barorreflexa em uma larga faixa de funcionamento (PARLOW et al., 1995).

Assim, os procedimentos farmacológicos para testar a SBR geram modificações transitórias importantes das variáveis hemodinâmicas, a fim de analisar a alteração posterior do intervalo R-R em função da variação da PA, o que propicia uma curva barorreflexa desde o limiar de ativação à saturação dos receptores envolvidos (SMYTH et al., 1969; RUDAS et al., 1999; HUNT e FARQUHAR, 2005). São descritos na literatura pelo menos três métodos padronizados de avaliação das respostas de FC às alterações da PA, tais como o índice de SBR, regressão linear e curva sigmóide (FARAH et al., 1999).

Em modelos animais, a SBR pode ser avaliada pela infusão endovenosa de doses crescentes de substância vasopressora, como a Fen (agonista seletivo do receptor α 1-adrenérgico que atua principalmente nos vasos de resistência) produzindo aumentos da PA que estimula os barorreceptores arteriais e reflexamente induz reduções da FC e da atividade simpática. Posteriormente, o teste é seguido pela administração de substância vasodilatadora, como o NPS (doador de óxido nítrico que causa vasodilatação arterial e venosa) que reduz a PA, induzindo

taquicardia reflexa e aumento da atividade simpática periférica (SMYTH et al., 1969; EBERT, 1990; BRAGA et al., 2008).

Portanto, em nosso trabalho, na avaliação através do método farmacológico, utilizamos Fen e NPS numa larga faixa de variação de doses progressivamente maiores. Os nossos dados sugerem que a resposta reflexa sobre a FC, induzida por uma ativação ou inibição BR nos animais desnutridos são semelhantes aos animais controles, sugerindo a integridade do BR em animais expostos à desnutrição proteica perinatal. Portanto, estes dados sugerem que a hiperatividade simpática observada nos animais submetidos a desnutrição proteica perinatal não deve estar associada a disfunção no mecanismo BR.

Dados semelhantes foram encontrados em animais com HAS induzida pela exposição à hipóxia crônica intermitente (HCI), onde o desenvolvimento desta patologia não está associada a disfunção do BR. Ratos submetidos a um protocolo de 10 dias de HCI, exibem elevados níveis basais de PA, o que não é secundário ao comprometimento da função BR, avaliada pelo método de sequência espontânea e farmacologicamente com Fen e NPS, indicando uma possível influência da atividade do sistema respiratório sobre a PA (ZOCCAL et al., 2009).

Estudos prévios do nosso laboratório demonstram que este modelo experimental apresenta aos 90 dias de vida, além do aumento da PA, alteração no ritmo respiratório (BRITO-ALVES et al., 2014), e mais recentemente foi observado que animais aos 30 dias de vida apresentam hiperatividade simpática-respiratória e respostas amplificadas frente à ativação dos quimiorreceptores periféricos (BRITO-ALVES et al., 2015). Essas alterações precedem o início da HAS em ratos jovens expostos à desnutrição proteica durante a gestação e lactação e sugerem a participação do componente respiratório na gênese da HAS.

Está bem estabelecido que a alteração no funcionamento do sistema autonômico é um contribuinte importante para o desenvolvimento e manutenção de numerosas doenças cardiovasculares, tal qual a HAS (MATSUKAWA et al., 1998; LEENEM et al., 2002; ESLER et al., 2006; GUYENET et al., 2006; MALPAS, 2010). Como o BR representa o maior mecanismo reflexo envolvido na modulação fisiológica do tônus simpático, especula-se que a redução na influência inibitória exercida pelos receptores aórticos e carotídeos sobre a ANS poderia causar hiperatividade desse sistema e esta, por sua vez, contribuir para o estabelecimento da HAS (KUMADA et al., 1990; JULIEN, 2008).

Assim, corroborando com os dados da literatura que apontam a relação de um prejuízo na função do BR, hiperatividade simpática e desenvolvimento de HAS, um estudo demonstrou que ratos hipertensos, induzidos pelo tratamento com L-NAME (do inglês, *NG-nitro-L-arginine methyl ester*, inibidor da enzima óxido nítrico sintase), apresentam atenuação da SBR e aumento do tônus simpático cardíaco (LANTELME et al., 1994; SCROGIN et al., 1998; SOUZA et al., 2001), o que estaria contribuindo para a elevação da PA observada neste modelo experimental.

Inúmeros métodos estão disponíveis para avaliar a função do SNS, incluindo a mensuração dos níveis de catecolaminas plasmática, urinária e tecidual, bloqueio agudo ou crônico de transmissão ganglionar ou receptores adrenérgicos periféricos, desnervação local, spillover de norepinefrina tecidual ou regional, análise espectral e registros diretos da ANS (microneurografia) (STOCKER e MUNTZEL, 2013).

A despeito de diversas abordagens utilizadas para estimar a ANS, os registros de microneurografia são considerados a melhor forma para avaliar diretamente a atividade simpática, uma vez que documenta características fundamentais ao padrão de descargas elétricas do nervo. Devido à intrincada gênese do tônus simpático, à característica difusa da atividade e ao padrão aleatório observado, demonstra-se a superioridade do método de registro direto dos grandes circuitos abdominais a fim de avaliar o tônus simpático periférico (LUNDIN et al., 1984) .

Sabemos que a ANS não é uniforme, variando bastante entre os diferentes leitões (CLAASSEN et al., 1996). Assim, apesar da complexidade técnica e de análise, preparações multifibras das eferências simpáticas renal, esplênica e lombar tem sido utilizadas em diferentes espécies (NINOMYIA et al., 1988; HEESCH et al., 1996; KANBAR et al., 2008; MUELLER et al., 2011).

Como a ANS sofre importante influência da ação dos barorreceptores arteriais, em humanos e ratos, o controle BR da ANS é comumente avaliado pelo registro da atividade de um nervo simpático periférico evocada pela administração intravenosa de drogas vasoativas, geralmente Fen e NPS, baseando - se na mensuração das respostas simultâneas de PA e ANS (RUDAS et al., 1999; MIKI et al., 2003; CHENG et al., 2004; TANK et al., 2005).

Dessa forma, investigamos os níveis basais e o controle BR da ANSL em animais anestesiados submetidos à restrição proteica perinatal. Para isto, realizamos registros simultâneos do nervo simpático lombar e das variáveis

hemodinâmicas em período basal, e durante avaliação farmacológica do BR. Inicialmente, observamos que, aos 90 dias de vida, os animais desnutridos apresentam PA significativamente maior que os animais controles, porém níveis semelhantes de ANSL, sob condições de anestesia. Em seguimento ao nosso protocolo, realizamos a avaliação do controle BR da ANSL e, tal qual em animais não anestesiados, o BR desses animais estava íntegro, demonstrando que a desnutrição proteica perinatal não altera a capacidade dos barorreceptores em regular a ANS no domínio lombar em ratos adultos jovens.

A despeito de níveis pressóricos elevados, promovidos por situação de estresse emocional agudo em ratos conscientes, Kanbar e cols. (2007) investigaram o controle BR da ANS renal por registro direto. Os autores observaram integridade do mecanismo BR mediante infusão de drogas vasoativas, uma vez que não houve diferença no funcionamento dos barorreceptores antes e após a exposição a um ambiente leve estressor (KANBAR et al., 2007). Por outro lado, em outro modelo de hipertensão, foi observado que, mesmo em condições de anestesia, a PA permanece aumentada (LI e PAN, 2010). Igualmente, estudo recente mostrou que ratos submetidos a um protocolo de HCI apresentam níveis aumentados de PA, que ainda se mantém após anestesia e não estão associados com um prejuízo no controle BR da ANS renal, visto que a SBR espontânea e induzida estão preservadas, bem como níveis de ANS no domínio renal (YAMAMOTO et al., 2014).

Ademais, evidências sugerem um distinto controle regional do mecanismo BR da ANS em espécies animais (MORRISON, 2001). Relevante estudo mostrou atividade de controle BR coordenada, com flutuações espontâneas nos índices lombar e renal positivamente correlacionadas, apesar de discreta atividade no domínio lombar diante da infusão de Fen e NPS quando comparada às robustas respostas apresentadas pelo nervo simpático renal (KANBAR et al., 2008).

No presente estudo, realizamos o registro direto da atividade do nervo simpático lombar em nível de L3-L4 em animais anestesiados. Considerações anatômicas (STRACK et al., 1988) e funcionais (MIKI et al., 2004; KOBAYASHI et al., 2006) apontam que a cadeia simpática lombar a este nível se dirige especialmente aos vasos sanguíneos dos músculos esqueléticos do membro posterior do animal. Deste modo, a elevação da ANSL está intimamente relacionada à vasoconstrição e aumento do fluxo sanguíneo ilíaco (MIKI et al., 2004). Porém, não deve ser ignorada a proporção de fibras nervosas cutâneas presentes na cadeia lombar neste nível

(HABLER et al., 1994; STAUSS et al., 1999). Além disso, a cadeia simpática lombar contém uma proporção de fibras nervosas cutâneas pouco barossensíveis (HABLER et al., 1994), e com alguma atividade não correlacionada aos ciclos cardíacos, o que configura um comportamento semirrítmico com o sistema cardiovascular (STOCKER e MUNTZEL, 2013).

A fim de definir e caracterizar a ANSL, as análises relacionadas se revestem de importância por se concentrarem na padronização das descargas elétricas em condições basais e frente a diversos estímulos. As alterações da ANS podem refletir aumentos na amplitude de rajadas do nervo, ou no número de disparos, que determina a frequência de atividade simpática (GUILD et al., 2010; MALPAS, 2010). As evidências apontam que, em diferentes espécies, uma maior amplitude da atividade simpática pode refletir um recrutamento ou ativação de novas fibras no nervo, enquanto que uma alteração na frequência pode refletir as diferenças na atividade dos neurônios que compõem o nervo (MALPAS, 2010).

Para assinalar o comportamento do nervo simpático lombar nos nossos animais, avaliamos a atividade média, amplitude e frequência de disparos do nervo lombar em animais anestesiados submetidos à restrição proteica perinatal e observamos que os resultados encontrados foram semelhantes aos controles. Valores discretos de registro de atividade no domínio lombar estão de acordo com observações anteriores em ratos anestesiados (SCISLO et al., 1998; 2008).

Enquanto os registros diretos podem fornecer informações sobre a função e controle diferencial do SNA, esta abordagem tem sido limitada pelo estresse devido a cirurgia; dificuldades associadas às comparações entre espécies animais e modelos experimentais; a falta de resolução temporal em estados patológicos crônicos, devido à curta viabilidade da preparação; e pelos efeitos da anestesia (STOCKER e MUNTZEL, 2013). Diante dos efeitos sobre o sistema autonômico e cardiovascular, acreditamos obter respostas atenuadas da ANSL pelo influente anestésico empregado na experimentação.

A investigação de aspectos do controle autonômico e sua influência sobre órgãos internos devem sempre levar em consideração os efeitos do agente anestésico utilizado, uma vez que podem alterar a atividade simpátovagal, bem como seus mecanismos compensatórios (SVORC et al., 2013). Sabe-se que a indução anestésica pode acarretar alterações hemodinâmicas e complicações cardiovasculares e respiratórias graves (GOELZ et al., 1990).

Foi demonstrado que o pentobarbital, anestésico da classe dos barbitúricos, reduz a PA e a resposta taquicárdica, afetando diretamente a atividade do SNS em ratos (SHIMOKAWA et al., 1998). Além disso, a anestesia com pentobarbital causa significativa redução reflexa da FC mediada pela ativação vagal e da função barorreflexa cardíaca (WATKINS e MAIXNER, 1991). Mais recentemente, estudo demonstrou que a anestesia com pentobarbital aumenta a atividade parassimpática e diminui a atividade simpática e dos barorreceptores por uma forma dependente do ciclo claro-escuro, salientando que este tipo de anestesia pode ser aplicável em experiências cardiovasculares, mas não em estudos cronobiológicos por modificar a ritmicidade diária do sistema nervoso autônomo (SVORC et al., 2013).

A utilização do tiopental, barbitúrico de efeito hipnótico e sedativo, produz decréscimo tanto na PA quanto no DC, apesar da discreta taquicardia (KERGER et al., 1997). Há inibição dos barorreceptores aórtico e carotídeo, agravando a depressão cardiovascular (FAN et al., 1996). Observa-se, ainda, redução na FR, aumento na PaCO_2 (pressão parcial de gás carbônico no sangue arterial) e consequente acidose respiratória (SVENDEN e CARTER, 1985). Entretanto, foi demonstrado que a interferência dos barbitúricos em experimentos cardiovasculares é mínima em detrimento às outras classes de anestésicos (BENCZE et al., 2013). Uma vez comparado aos agentes anestésicos inalatórios, o tiopental pode ser aplicado eficazmente e com segurança para a manutenção da anestesia e está associada com menores alterações de hemodinâmica no período intra-operatório e recuperação anestésica mais rápida (SHOROGHI et al., 2011).

Em nível celular, o efeito dos anestésicos consiste principalmente em inibir a transmissão sináptica, devido a uma redução da liberação de neurotransmissores, inibição da ação do neurotransmissor ou redução da excitabilidade da célula pós-sináptica seja pela hiperpolarização da membrana através da ativação dos canais de potássio (K^+) ou ativação direta dos receptores GABA_A aumentando o fluxo de cloreto (Cl^-) (FRANKS e LIEB, 1994).

Por sua complexa ação, os barbitúricos podem ativar ou inibir os receptores de GABA por meio de modulação alostérica em função da sua concentração no receptor (BORGHESE et al., 2006). A principal ação dos barbitúricos se destina aos canais de Cl^- mediado pelos receptores GABA_A , consiste em intensificar a eficácia do GABA ao aumentar o tempo de abertura destes canais, permitindo, assim, um influxo muito maior de íons Cl^- para cada canal ativado. Isso leva a um maior grau de

hiperpolarização e a uma diminuição da excitabilidade da célula-alvo (ZHOU et al., 2012).

Os barbitúricos afetam não apenas os receptores GABA_A, mas também aqueles envolvidos na neurotransmissão excitatória. Esta classe de anestésicos diminui a ativação do receptor AMPA (do inglês, *α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid*) e NMDA (do inglês, *N-methyl-D-aspartate*) pelo glutamato, reduzindo, assim, tanto a despolarização da membrana quanto a excitabilidade neuronal. Em concentrações anestésicas, também diminui a atividade dos canais de sódio (Na⁺) dependentes de voltagem, inibindo a descarga neuronal de alta frequência (ZHOU et al., 2012).

Há muito se sabe que o L-glutamato é o neurotransmissor excitatório do barorreflexo no NTS (TALMAN et al., 1980; LEONE e GORDON, 1989; GORDON e TALMAN, 1992). O componente parassimpático parece ser mediado por receptores NMDA e não-NMDA, ponderando que a microinjeção sequencial de substâncias bloqueadoras destes receptores produziu um silenciamento completo da resposta bradicárdica frente à estimulação elétrica do BR. Além disso, o componente simpatoinibitório das respostas foi apenas parcialmente bloqueadas pelas microinjeções, sugerindo que outras classes de receptores, tais como metabotrópicos ou distintos mediadores químicos estejam envolvidos na neurotransmissão do BR no NTS (MACHADO et al., 2000).

O RVLM, considerada como uma das regiões mais importantes do cérebro envolvidas com controle reflexo da atividade simpática para o sistema cardiovascular em animais anestesiados (DAMPNEY et al., 2002) e acordados (MENEZES e FONTES, 2007), possui atividade neuronal desencadeada por potenciais de ação regulares (SUN et al., 1988a; 1988b). Embora modulada constantemente, estas descargas neuronais são resultado de uma atividade marca-passo intrínseca e de uma rede de conexões oscilatórias (GUYENET et al., 1989; GUYNET, 1990; DAMPNEY, 1994; PIGUET e SCHLICHTER, 1998). O RVLM regula a função cardiovascular mediante ativação funcional de inúmeros eferentes simpáticos e pode controlar diferentemente os domínios aos quais se dirige (GUYENET, 2006).

Nesse contexto, um estudo avaliou simultaneamente a ANS nos nervos pré-ganglionar adrenal, renal e lombar sob condições experimentais de excitação glutamatérgica e antagonismo dos receptores GABA_A no RVLM. Encontrou correlação positiva entre os nervos, porém respostas extensivamente maiores de

ANS pré-ganglionar adrenal em relação aos demais, além de menor atividade no eferente lombar diante da excitação glutamatérgica e semelhante simpatoexcitação eliciada pela desinibição do RVLM entre os nervos avaliados. As consequências funcionais da maior ativação de fibras pré-ganglionares se devem, pelo menos em parte, à adrenalina liberada pela glândula adrenal, a despeito da ação da noradrenalina liberada das terminações nervosas pós-ganglionares, como as que se destinam ao domínio renal e lombar (MUELLER et al., 2011).

A despeito das diferenças regionais de atuação, consideramos a ANSL como representante do tônus simpático sistêmico, porém sabemos que o controle BR desse sistema é variável, muito embora as curvas de estímulo-resposta do BR sejam semelhantes entre diversos nervos simpáticos periféricos (KAMIYA et al., 2005).

8. CONCLUSÃO

O BR arterial é o principal mecanismo de controle em curto prazo da PA sendo responsável por manter os níveis pressóricos dentro de uma faixa estreita de variação frente a diversos estímulos, e atua controlando a atividade nervosa simpática para o sistema cardiovascular. Nossos resultados demonstram que a desnutrição proteica perinatal não foi capaz de induzir alterações no controle BR da ANSL em ratos conscientes e anestesiados com 90 dias de vida. Uma vez que observamos aumento do tônus simpático em animais conscientes, acreditamos que a indução anestésica tenha sido responsável por mitigar a ANS no domínio lombar.

Baseado nas nossas experimentações e associadas às alterações no sistema respiratório recentemente destacadas pelo nosso grupo de pesquisa, sugerimos que a hiperatividade simpática esteja contribuindo para o desenvolvimento da HAS observada na vida adulta de animais expostos à desnutrição proteica na fase perinatal.

REFERÊNCIAS

ABDALA, A. P.; HAIBARA, A. S.; COLOMBARI, E. Cardiovascular responses to substance P in the nucleus tractus solitarii: microinjection study in conscious rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 285, n. 2, p. H891-8, 2003.

ACCORSI-MENDONÇA, D.; ALMADO, C. E. L.; FERNANDES, L. G.; et al. Controle neural da circulação e hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens*, v. 12, n. 4, p. 235-41, 2005.

AGOTE, M.; GOYA, L.; RAMOS, S.; et al. Glucose up take and glucose transporter proteins in skeletal muscle from undernourished rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v. 281, p. 1101-9, 2001.

BARKER, D. J.; CLARK, P. M. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev Reprod*, v. 2, n. 2, p. 105-12, 1997.

BARKER, D. J.; BULL, A. R.; OSMOND, C.; et al. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *British Medical Journal*, v. 301, n. 6746, p. 259-62, 1990.

BARKER, D. J. P.; OSMOND, C.; FORSEN, T. J.; et al. Maternal and social origins of hypertension. *Hypertension*, v. 50, p. 565-71, 2007.

BARROS, M. A. V.; BRITO-ALVES, J. L.; NOGUEIRA, V. O.; et al. Maternal low-protein diet induces changes in the cardiovascular autonomic modulation in male rat offspring. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases*, v. 25, p. 123-30, 2015.

BASCHAT, A. E.; HARMAN, C. R. Venous Doppler in assessment of fetal cardiovascular status. *Curr Opin Obstet Gynecol*, vol. 18, n. 2, p. 156-63, 2006.

BELCHIOR, A. C. S.; ANGELI, J. K.; FARIA, T. O.; et al. Post-Weaning Protein Malnutrition Increases Blood Pressure and Induces Endothelial Dysfunctions in Rats. *PLoS ONE*, v. 7, n. 4, p. 34876, 2012.

BELLUSCIO, L. M.; BERARDINO, B. G.; FERRONI, N. M.; et al. Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and evokes anxiety and depressive-like behaviors. *Physiol Behav*, v. 129, p. 237-54, 2014.

BELMAR, J.; CARRENO, P.; HERNANDEZ, A.; et al. Malnutrition early in life impairs alpha-2 adrenoreceptor regulation of noradrenaline release in the rat cerebral cortex. *Nutrition Research*, v. 16, n. 10, p. 1727-34, 1996.

BENABE, J. E.; MARTINEZ-MALDONADO, M. The impact of malnutrition on kidney function. *Miner Electrolyte Metab*, v. 24, n. 1, p. 20-6, 1998.

BENABE, J. E.; FERNÁNDEZ-REPOLLET, E.; TAPIA, E.; et al. Angiotensin II and catecholamines interaction in short-term low protein feeding. *Kidney International*, v. 44, p. 285-93, 1993a.

BENABE, J. E.; WANG, S.; WILCOX, J. N.; et al. Modulation of ANG II receptor and its mRNA in normal rat by low-protein feeding. *Am J Physiol*, v. 265, p. F660-9, 1993b.

BENCZE, M.; BEHULIAK, M.; ZICHA, J. The impact of four different classes of anesthetics on the mechanisms of blood pressure regulation in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res*, v. 62, p. 471-8, 2013.

BERTAGNOLLI, M.; SCHENKEL, P. C.; CAMPOS, C.; et al. Exercise training reduces sympathetic modulation on cardiovascular system and cardiac oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*, v. 21, p. 1188-93, 2008.

BLESSING, W. W. Depressor neurons in rabbit caudal medulla act via GABA receptors in rostral medulla. *Am J Physiol*, v. 254, n. 4, 1988.

BOGUSZEWSKI, M. C.; JOHANNSSON, G.; FORTES, L. C.; et al. Low birth size and final height predict high sympathetic nerve activity in adulthood. *J Hypertens*, v. 22, p. 1157-63, 2004.

BONYHAY, I.; RISK, M.; FREEMAN, R. High-pass filter characteristics of the baroreflex – a comparison of frequency domain and pharmacological methods. *PLoS ONE*, v. 8, n. 11, p. e79513, 2013.

BORGHESE, C. M.; WERNER, D. F.; TOPF, N.; et al. An isoflurane- and alcohol-insensitive mutant GABA(A) receptor alpha(1) subunit with near-normal apparent affinity for GABA: characterization in heterologous systems and production of knockin mice. *J Pharmacol Exp Ther*, v. 319, p. 208-18, 2006.

BRAGA, V. A.; BURMEISTER, M. A.; SHARMA, R. V.; DAVISSON, R. L. Cardiovascular responses to peripheral chemoreflex activation and comparison of different methods to evaluate baroreflex gain in conscious mice using telemetry. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 295, p. R1168–74, 2008.

BRAVO, E. L.; RAHEY, M. A.; NALLY, J. V. Renal denervation for resistant hypertension. *Am J Kidney Dis*, v. 54, n. 5, p. 795-7, 2009.

BRAWLEY, L.; ITOH, S.; TORRENS, C.; et al. Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatric Research*, v. 54, n. 1, 2003.

BRITO-ALVES, J. L.; NOGUEIRA, V. O.; CAVALCANTE-NETO, M. P.; et al. Maternal protein restriction increases respiratory and sympathetic activities and sensitizes peripheral chemoreflex in male rat offspring. *J Nutri*, v. 114, p. 202804, 2015.

BRITO-ALVES, J. L.; NOGUEIRA, V. O.; OLIVEIRA, G. B.; et al. Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. *Br J Nutr*, p. 1-10, 2014.

CALKINS, K.; DEVASKAR, S. U. Fetal origins of adult disease. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*, v. 41, p. 158-76, 2011.

CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; HAIBARA, A. S. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens*, vol. 8, p. 30-40, 2001.

CASTRO, C. L. B.; NÓBREGA, A. C. L.; ARAÚJO, C. G. S. Testes autonômicos cardiovasculares. Uma revisão crítica. *Arq Bras Cardiol*, 59, p. 75-85, 1992.

CHAPLEAU, M. W.; CUNNINGHAM, J. T.; SULLIVAN, M. J.; et al. Structural versus functional modulation the arterial baroreflex. *Hypertension*, v. 26, p. 341-7, 1995.

CHEEMA, K. K.; DENT, M. R.; SAINI, H. K.; et al. Prenatal exposure to maternal undernutrition induces adult cardiac dysfunction. *Br J Nutr*, v. 93, n. 4, p. 471-7, 2005.

CHENG, Y.; COHEN, B.; ORE´A, V.; et al. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton Neurosci*, v. 111, p. 80-8, 2004.

CHOU, H. C.; WANG, L. F.; LU, K. S.; et al. Effects of maternal undernutrition on renal angiotensin II and chymase in hypertensive offspring. *Acta Histochem*, v. 110, p. 497-504, 2008.

CLAASSEN, D. E.; MORGAN, D. A.; HIRAI, T.; et al. Nonuniform sympathetic nerve responses after sustained elevation in arterial pressure. *Am J Physiol*, v. 271, n. 5, p. 1264-9, 1996.

CLEMENTE, A. P. G.; SANTOS, C. D.; SILVA, A. M. B.; et al. A baixa estatura leve está associada ao aumento da pressão arterial em adolescentes com sobrepeso. *Arq Bras Cardiol*, v. 98, n. 1, p. 6-12, 2012.

CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, E. M. Papel dos principais componentes na gênese da hipertensão arterial: sistema nervoso simpático. In: BRANDÃO, A. A.; AMODEO, C.; NOBRE, F. *Hipertensão*. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 53-9, 2012.

CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, E. M. Sistema nervoso simpático e hipertensão arterial sistêmica. *Revista da Sociedade Brasileira de Hipertensão*, v. 8, n. 1, 2005.

CORRAL, S.; FALCÃO, F. P.; MARTINELLI, L. K.; et al. Desenvolvimento e aplicações de um novo instrumento para estimulação do barorreflexo. *Scientia Medica*, v. 17, n. 2, p. 63-71, 2007.

COSTA, M. C. M. A. Quarenta anos de nutrição no Nordeste: Uma retrospectiva. Recife: *Editora Universitária da Universidade Federal de Pernambuco*, p. 19-23, 1995.

COSTA-SILVA, J. H.; SILVA, P. A.; PEDI, N.; et al. Chronic undernutrition alters renal active Na⁺ transport in young rats: potential hidden basis for athophysiological alterations in adulthood? *Eur J Nutr*, v. 48, p. 437-45, 2009.

DAMPNEY, R. A. L. Functional Organization of Central Pathways Regulation the Cardiovascular System. *Physiological Reviews*, v. 74, n. 2, p. 323-64, 1994.

DAMPNEY, R. A. L.; COLEMAN, M. J.; FONTES, M. A. P.; et al. Central mechanisms underlying short-term and long-term regulation of the cardiovascular system. *Proceedings of the Australian Physiological and Pharmacological Society*, v. 32, n. 1, 2001.

DAMPNEY, R. A. L.; FONTES, M. A.; HIROOKA, Y.; et al. Role of angiotensin II receptors in the regulation of vasomotor neurons in the ventrolateral medulla. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 29, p. 467-72, 2002.

DAMPNEY, R. A. L.; HORIUCHI, J.; TAGAWA, T.; et al. Medullary and supramedullary mechanisms regulating sympathetic vasomotor tone. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 177, n. 209-18, 2003.

DIAS, D. P.; OLIVEIRA, M.; SALGADO, H. C.; et al. Ovariectomy does not affect the cardiac sympathovagal balance of female SHR but estradiol does. *Braz J Med Biol Res*, v. 43, p. 969-75, 2010.

DO CARMO PINHO, F. M.; NIGRO, D.; FORTES, Z. B.; et al. Intrauterine undernutrition- renal and vascular origin of hypertension. *Cardiovasc Res*, v. 60, p. 228-34, 2003.

DRUMMOND, H. A.; PRICE, M. P.; WELSH, M. J.; et al. A molecular component of the arterial baroreceptor mechanotransducer. *Neuron*, v. 21, p. 1435-41, 1998.

DRUMMOND, H. A.; WELSH, M. J.; ABOUD, F. M. ENaC subunits are molecular components of the arterial baroreceptor complex. *Ann N Y Acad Sci*, v. 940, p. 42-7, 2001.

EBERT, T. J. Differential effects of nitrous oxide on baroreflex control of heart rate and peripheral sympathetic nerve activity in humans. *Anesthesiology*, v. 72, p. 16-22, 1990.

ESLER, M; STRAZNICKY, N.; EIKELIS, N.; et al. Mechanisms of sympathetic activation in obesity-related hypertension. *Hypertension*, v. 48, p. 787-96, 2006.

FAN, W.; REYNOLDS, P.J.; ANDRESEN, M.C. Baroreflex frequency-response characteristics to aortic depressor and carotid sinus nerve stimulation in rats. *Am J Physiol*, v. 271, p. 2218-27, 1996.

FARAH, V. M.; MOREIRA, E. D.; PIRES, M. D.; et al. Comparison of three methods for the determination of baroreflex sensitivity in conscious rats. *Braz J Med Biol Res*, v. 32, n. 3, p. 361-9, 1999.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; EKIZOGLU, S.; WAYMAN, A.; et al. Maternal low protein diet programs cardiac beta-adrenergic response and signaling in 3-mo-old male offspring. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, v. 291, p. R429-36, 2006.

FERREIRA, F.; FILIPUTTI, E.; ARANTES, V. C.; et al. Decreased cholinergic stimulation of insulin secretion by islets from rats fed a low protein diet is associated with reduced protein kinase calpha expression. *J Nutr*, v. 133, n. 3, p. 695-9, 2003.

FLORAS, J. S.; HASSAN, M. O.; JONES, J. V.; et al. Consequences of impaired arterial baroreflexes in essential hypertension: effects on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *J Hypertens*, v. 6, p. 525-35, 1988.

FRANCO, M. C.; CASARINI, D. E.; CARNEIRO-RAMOS, M. S.; et al. Circulating renin-angiotensin system and catecholamines in childhood: is there a role for birthweight? *Clin Sci*, v. 114, p. 375-80, 2008.

FRANKS, N. P.; LIEB, W. R. Molecular and cellular mechanisms of general anaesthesia. *Nature*, v. 367, p. 607-14, 1994.

FRATTOLA, A.; PARATI, G.; GAMBA, P.; et al. Time and frequency domain estimates of spontaneous baroreflex sensitivity provide early detection of autonomic dysfunction in diabetes mellitus. *Diabetologia*, v. 40, p. 1470-5, 1997.

FORSDAHL, A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Br J Prev Soc Med*, v. 31, n. 2, p. 91-5, 1977.

GIACOMELLI, F. R. B.; MARÇAL-NATALI, M. R. A utilização de ratos em modelos em modelos experimentais de carências nutricionais. *Arq Ciênc Saúde Unipar*, v. 3, p. 239-49, 1999.

GIL, J. S.; LOPES, H. F. Fisiopatologia da pré-hipertensão. *Rev Bras Hipertens*, v. 6, n. 2, p. 87-91, 2006.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Developmental plasticity and human disease: research directions. *J Intern Med*, v. 261, p. 461-71, 2007.

GOELZ, M. F.; HAHN, A. W.; KELLEY, S. T. Effects of halothane and isoflurane on mean arterial blood pressure, heart rate, and respiratory rate in adult Pekin ducks. *Am J Vet Res*, v. 51, n. 3, p. 458-60, 1990.

GONÇALVES, A. R. R.; ZATZ, R.; HEIMANN, J. C. O papel do rim no controle da pressão arterial. *Hipertensão*, v. 3, n. 1, p. 6-14, 2000.

GORDON, F. J. Aortic baroreceptor reflex are mediated by NMDA receptors in caudal ventrolateral medulla. *Am J Physiol*, v. 252, n. 3, 1987.

GORDON, F. J.; TALMAN, W. T. Role of excitatory amino acids and their receptors in bulbospinal control of cardiovascular function. In: *Central Neural Mechanisms in Cardiovascular Regulation*, edited by Kunos G and Ciriello J., Boston, MA: *Birkhauser*, v. 2, p. 209–25, 1992.

GUILD, S. J.; BARRETT, C. J.; MCBRYDE, F. D.; et al. Quantifying sympathetic nerve activity: problems, pitfalls and the need for standardization. *Exp Physiol*, v. 95, p. 41–50, 2010.

GUYENET, P. G. The sympathetic control of blood pressure. *Nat Rev Neurosci*, v. 7, p. 335–46, 2006.

GUYENET, P. G. Role of ventral medulla oblongata in blood pressure regulation. In *Central Regulation of Autonomic Functions*, edited by Loewy AD and Spyer KM, New York: *Oxford University Press*, p. 145-67, 1990.

GUYENET, P. G.; HASELTON, J. R.; SUN, M. K. Sympathoexcitatory neurons of the rostroventrolateral medulla and the origin of the sympathetic vasomotor tone. *Progress in Brain Research*, v. 81, p. 105-16, 1989.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 11° ed. Rio de Janeiro: *Elsevier*, 2011.

GUZZETTI, S.; BORRONI, E.; GARBELLI, P. E.; et al. Symbolic dynamics of heart rate variability: a probe to investigate cardiac autonomic modulation. *Circulation*, v. 112, n. 4, p. 465-70, 2005.

GUZZETTI, S.; PIICCALUGA, E.; CASATI, R., et al. Sympathetic predominance in essential hypertension: a study employing spectral analysis of heart rate variability. *J Hypertens*, v. 6, p. 711-7, 1988.

HABLER, H. J.; JANIG, W.; KRUMMEL, M.; et al. Reflex patterns in postganglionic neurons supplying skin and skeletal muscle of the rat hindlimb. *J Neurophysiol*, v. 72, p. 2222–36, 1994.

HAIBARA, A. S.; SANTOS, R. A. S. Descobrimiento e importância dos barorreceptores. *Rev Bras Hipertens*, v. 7, n. 2, 2000.

HAINSWORTH, R. Reflexes from the heart. *Physiol Rev*, v. 71, p. 617-58, 1991.

HAINSWORTH, R.; LEDSOME, J. R.; CARSWELL, F. Reflex responses from aortic barorreceptores. *Am J Physiol*, v. 218, p. 423-9, 1970.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. Type 2 (non-insulindependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*, v. 35, n. 7, p. 595-601, 1992.

HEESCH, C. M.; CRANDALL, E.; TURBEK, J. A. Converting enzyme inhibitors cause pressure-independent resetting of baroreflex control of sympathetic outflow. *Am J Physiol*, v. 270, p. 728-37, 1996.

HEIMANN, J. C.; VIDONHO JUNIOR, A. F.; RUIVO, G. F. Mecanismos hipertensores em indivíduos portadores de nefropatia crônica. *Rev Bras Hipertens*, v. 9, n. 2, p. 135-40, 2002.

HUNT, B. E.; FARQUHAR, W. B. Nonlinearities and Asymmetries of the Human Cardiovagal Baroreflex. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005.

ICHIKAWA, I.; PURKERSON, M. L.; KLAHR, S.; et al. Mechanism of reduced glomerular filtration rate in chronic malnutrition. *J Clin Invest*, v. 65, p. 982-8, 1980.

IRIGOYEN, M. C.; CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; KRIEGER, E. M. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. *Rev Bras Hipertens*, v. 8, p. 55-62, 2001.

IRIGOYEN, M. C.; FIORINO, P.; DE ANGELIS, K.; et al. Simpático e hipertensão arterial: reflexos cardiocirculatórios. *Rev Bras Hipertens*, v. 12, n. 4, p. 229-34, 2005a.

IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, E. M.; CONSOLIM-COLOMBO, F. M. Controle fisiológico da pressão arterial pelo sistema nervoso. *Rev Soc Bras Hipertens*, v. 8, n. 1, 2005b.

IRIGOYEN, M. C.; MOREIRA, E. D.; IDA, F.; et al. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. *Hypertension*, v. 26, n. 6 Pt 2, p. 1111-6, 1995.

JESKE, I.; REIS, D. J.; MILDNER, T. A. Neurons in the barosensory área of the caudal ventrolateral medulla project monosynaptically on to sympathoexcitatory bulbospinal neurons in the rostral ventrolateral medulla. *Neuroscience*, v. 65, n. 2, 1995.

JOHANSSON, S.; NORMAN, M.; LEGNEVALL, L.; et al. Increased catecholamines and heart rate in children with low birth weight: perinatal contributions to sympathoadrenal overactivity. *J Intern Med*, v. 261, p. 480-7, 2007.

JULIEN C. Baroreflex control of sympathetic nerve activity and blood pressure variability. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v. 35, p. 512-5, 2008.

KAMIYA, A.; KAWADA, T.; YAMAMOTO, K.; et al. Muscle sympathetic nerve activity averaged over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change. *Circulation*, v. 112, p. 384-6, 2005.

KANBAR, R.; CHAPUIS, B.; OREA, V.; et al. Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 295, p. R8-R14, 2008.

KANBAR, R.; OREA, V.; BARRES, C.; et al. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 292, p. R362-7, 2007.

KAPA, S.; VENKATACHALAM, K. L.; ASIRVATHAM, S. J. The autonomic nervous system in cardiac electrophysiology: an elegant interaction and emerging concepts. *Cardiol Rev*, v. 18, n. 6, p. 275-84, 2010.

KASHIHARA, K. Roles of Arterial Baroreceptor Reflex During Bezold-Jarisch Reflex. *Curr Cardiol Rev*, v. 5, n. 4, p. 263-7, 2009.

KENNEY, M. J.; WEISS, M. L.; HAYWOOD, Jr. The paraventricular nucleus: an important component of the central neurocircuitry regulating sympathetic nerve outflow. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 177, n. 7-15, 2003.

KERGER, H.; SALTZMAN, D.J.; GONZALES, A. et al. Microvascular oxygen delivery and intestinal oxygenation during sodium pentobarbital anesthesia. *Anesthesiology*, v. 86, p. 372-86, 1997.

KIRCHHEIM, H. R. Systemic arterial baroreceptor reflexes. *Physiological Reviews*, v. 56, p. 100-77, 1976.

KOBA, S.; YOSHIDA, T.; HAYASHI, N. Differential sympathetic outflow and vasoconstriction responses at kidney and skeletal muscles during fictive locomotion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 290, p. H861–8, 2006.

KORNER, P. I. Role of cardiac output , volume and resistance factors in the pathogenesis of hypertension. *Clin Sci*, v. 5, 1979.

KRIEGER, E. M.; BRUM, P. C.; NEGRAO, C. E. Role of arterial baroreceptor function of cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. *Biol res*, v. 3, 1998.

KRIEGER, E. M.; IRIGOYEN, M. C.; KRIEGER, J. E. Fisiopatologia da hipertensão. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, v. 9, p. 1-7, 1999.

KRIEGER, E. M.; SALGADO, H. C.; MICHELINI, L. C. Resetting of the baroreceptors. *Int Rev Physiol*, v. 26, p. 119–46, 1982.

KUMADA, M.; TERUI, N.; KUWAKI, T. Arterial baroreceptor reflex: its central and peripheral neural mechanisms. *Prog Neurobiol*, v. 35, p. 331-61, 1990.

KUWAHARA, M.; YAYOU, KI.; ISHII, K.; et al. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. *J Electrocardiol*, v. 27, p. 333–7, 1994.

LANTELME, P.; LO, M.; SASSARD, J. Decreased cardiac baroreflex sensitivity is not due to cardiac hypertrophy in NG-nitro-Larginine methyl ester-induced hypertension. *J Hypertens*, v. 12, p. 791–5, 1994.

LAPILLONNE, A. Intrauterine growth retardation and adult outcome. *Bull Acad Natl Med*, v. 195, p. 477-84, 2011.

LEENEN, F. H.; RUZICKA, M.; HUANG, B. S. The brain and salt-sensitive hypertension. *Curr Hypertens Rep*, v. 4, p. 129–35, 2002.

LEHNINGER, A. Principles of Biochemistry. *Sarvier*, 4ª ed. São Paulo: 2005.

LEON-QUINTO, T.; MAGNAN, C.; PORTHA, B. Altered activity of the autonomous nervous system as a determinant of the impaired beta-cell secretory response after protein-energy restriction in the rat. *Endocrinology*, v. 139, p. 3382-9, 1998.

LEONE, C.; GORDON, F. J. Is L-glutamate a neurotransmitter of baroreceptor information in the nucleus of the tractus solitarius? *J Pharmacol Exp Ther*, v. 250, n. 3, p. 953–62, 1989.

LI, D. P.; PAN, H. L. Increased group I metabotropic glutamate receptor activity in paraventricular nucleus supports elevated sympathetic vasomotor tone in hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 299, p. R552–61, 2010.

LOPES, H. F.; SILVA, H. B.; BARRETO FILHO, J. A.; et al. Lipid metabolism alterations in normotensive subjects with positive family history of hypertension. *Hypertension*, v. 30, n. 2, p. 629-31, 1997.

LOPES, H. F.; SILVA, H. B.; CONSOLIM-COLOMBO, F. M.; et al. Autonomic abnormalities demonstrable in young normotensive subjects who are children of hypertensive parents. *Braz J Med Biolog Res*, v. 33, p. 51-4, 2000.

LOSS, I. O.; FERNANDES, L. G.; MARTINS, C. D.; et al. Baroreflex dysfunction in rats submitted to protein restriction. *Life Sci*, v. 81, n. 11, p. 944-50, 2007.

LUCAS, A. Programming by early nutrition: an experimental approach. *J Nutr*, v. 128, n. 2, p. 401-6, 1998.

LUCAS, S. R.; COSTA, S., V; MIRAGLIA, S. M.; et al. Functional and morphometric evaluation of offspring kidney after intrauterine undernutrition. *Pediatr Nephrol*, v. 11, n. 6, p. 719-23, 1997.

LUKOYANOV, N. V.; ANDRADE, J. P. Behavioral effects of protein deprivation and rehabilitation in adult rats: relevance to morphological alterations in the hippocampal formation. *Behavioural Brain Research*, v. 112, p. 85-97. 2000.

LUNDIN, S.; RICKSTEN, S. E.; Thorén, P. Renal sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats and normotensive controls, as studied by three different methods. *Acta Physiol Scand*, v. 120, p. 265-72, 1984.

LUZARDO, R.; SILVA, P. A.; EINICKER-LAMAS, M.; et al. Metabolic programming during lactation stimulates renal Na⁺ transport in the adult offspring due to an early impact on local angiotensin II pathways. *PLoS ONE*, v. 6, n. 7, 2011.

MACHADO, B. H.; BRODY, M. J. Role of the nucleus ambiguus in the regulation of heart rate and arterial pressure. *Hypertension*, v. 11, n. 6, 1988.

MACHADO, B. H.; CASTANIA, J. A.; BONAGAMBA, L. G. H.; et al. Neurotransmission of autonomic components of aortic baroreceptor afferents in the NTS of awake rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 279, p. H67-H75, 2000.

MACHADO, B. H.; MAUAD, H.; CHIANCA JUNIOR, D. A.; et al. Autonomic processing of the cardiovascular reflexes in the nucleus tractus solitarii. *Braz J Med Biol Res*, v. 30, n. 4, p. 533-43, 1997.

MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; et al. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation*, v. 84, n. 2, p. 482-92, 1991.

MALPAS, S. C. Sympathetic nervous system overactivity and its role in the development of cardiovascular disease. *Physiol Rev*, v. 90, p. 513-57, 2010.

MARK, A. L. The sympathetic nervous system in hypertension: a potential long-term regulator of arterial pressure. *J Hypertension*, v. 5, 1996.

MARTINEZ-MALDONADO, M.; BENABE, J. E.; WILCOX, J. N.; et al. Renal renin, angiotensinogen, and ANG I-converting-enzyme gene expression: influence of dietary protein. *Am J Physiol*, v. 264, p. F981-8, 1993.

MATSUKAWA, T.; SUGIYAMA, Y.; WATANABE, T.; et al. Gender difference in age-related changes in muscle sympathetic nerve activity in healthy subjects. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 275, p. R1600-4, 1998.

MENEZES, R. C.; FONTES, M. A. Cardiovascular effects produced by activation of GABA receptors in the rostral ventrolateral medulla of conscious rats. *Neuroscience*, v. 144, n. 1, p. 336-43, 2007.

- MICHELINI, L. C. Regulação momento a momento da pressão arterial na normotensão e na hipertensão. *Hipertensão*, v. 3, p. 90-8, 2000.
- MIKI, K.; ODA, M.; KAMIJYO, N.; et al. Lumbar sympathetic nerve activity and hindquarter blood flow during REM sleep in rats. *J Physiol*, v. 557, p. 261-71, 2004.
- MIKI, K.; YOSHIMOTO, M.; TANIMIZU, M. Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol*, v. 548, p. 313-22, 2003.
- MOORE, K. L. Embriologia Básica. São Paulo, *Dominus*, 1974.
- MORGAN, D. A.; ANDERSON, E. A.; MARK, A. L. Renal sympathetic nerve activity is increased in obese Zucker rats. *Hypertension*, v. 25, p. 834-8, 1995.
- MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 26, p. 471-83, 2002.
- MORRISON, S. F. Differential control of sympathetic outflow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 281, p. R683-98, 2001.
- MONTANO, N.; PORTA, A.; COGLIATI, C.; et al. Heart rate variability explored in the frequency domain: a tool to investigate the link between heart and behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, v. 33, n. 2, p. 71-80, 2009.
- MONTEIRO, F. M. F.; LAHLOU, S.; ALBUQUERQUE, J. A.; et al. Influence of a multideficient diet from northeastern Brazil on resting blood pressure and baroreflex sensitivity in conscious, freely moving rats. *Braz J Med Biol Res*, v. 34, p. 271-280, 2001.
- MUELLER, P. J.; MISCHER, N. A.; SCISLO, T. J. Differential activation of adrenal, renal, and lumbar sympathetic nerves following stimulation of the rostral ventrolateral medulla of the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 300, p. R1230-40, 2011.
- MULLINS, L. J.; BAILEY, M. A.; MULLINS, J. J. Hypertension, Kidneys and Trangenics: a fresh perspectives. *Physiol Rev*, v. 86, n. 2, p. 709-46, 2006.

MURÇA, T. M.; MAGNO, T. S.; DE MARIA, M. L.; et al. Cardiac responses of rats submitted to postnatal protein restriction. *Appl Physiol Nutr Metab*, v. 37, n. 3, p. 455-62, 2012.

NINOMYIA, I.; MATSUKAWA, K.; NISHIMURA, N. Central and baroreflex control of sympathetic nerve activity to the heart and kidney in a daily life of the cat. *Clin Exp Hypertens*, v. 10, p. 19-31, 1988.

OLIVEIRA, E. L.; CARDOSO, L. M.; PEDROSA, M. L.; et al. A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean arterial pressure and heart rate in Fisher rats. *Nutr Neurosci*, v. 7, n. 4, p. 201-5, 2004.

PAGANI, M.; MALLIANI, A. Power spectral analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. *Circulation*, v. 90, p. 1826-31, 1994.

PAPADEMETRIOU, V.; DOUMAS, M.; TSIIOUFIS, K. Renal sympathetic denervation for the treatment of difficult-to-control or resistant hypertension. *Int J Hypertens*, v. 2011, p. 196518, 2011.

PARATI, G.; DI RIENZO, M. Assessing spontaneous baroreflex function: methodological considerations. *Clin Sci (Lond)*, v. 103, p. 89–91, 2002.

PARATI, G.; DI RIENZO, M.; BERTINIERI, G.; et al. Evaluation of the baroreceptor-heart rate reflex by 24-hour intra-arterial blood pressure monitoring in humans. *Hypertension*, v. 12, p. 214–22, 1988.

PARATI, G.; DIRIENZO, M.; MANCIA, G. How to measure baroreflex sensitivity: from the cardiovascular laboratory to daily life. *J Hypertension*, v. 18, p. 7-19, 2000.

PARLOW, J.; VIALE, J. P.; ANNAT, G.; et al. Spontaneous cardiac baroreflex in humans. Comparison with drug-induced responses. *Hypertension*, v. 25, p. 1058-68, 1995.

PEDROSA, M. L.; MORAES-SANTOS, T. Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats. *Braz J Med Biol Res*, v. 20, n. 3-4, p. 331-38, 1987.

PIGUET, P.; SCHLICHTER, R. Lability of the pacemaker activity in the rat rostro-ventrolateral medulla: effects of noradrenaline. *Brain Research*, v. 796, n. 1-2, p. 1-12, 1998.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; RAKE, A.; et al. Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *J Nutr*, v. 130, n. 10, p. 2582-9, 2000.

PORTA, A.; GUZZETTI, S.; MONTANO, N.; et al. Entropy, entropy rate, and pattern classification as tools to typify complexity in short heart period variability series. *IEEE Trans Biomed Eng*, v. 48, p. 1282-91, 2001.

PORTA, A.; TOBALDINI, E.; GUZZETTI, S.; et al. Assessment of cardiac autonomic modulation during graded head-up tilt by symbolic analysis of heart rate variability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 293, p. H702-8, 2007.

PUMPRLA, J.; HOWORKA, K.; GROVES, D.; et al. Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. *Int J Cardiol*, v. 84, p. 1-14, 2002.

RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSEK, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med*, v. 295, p. 349-53, 1976.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, v. 123, p. 1939-51, 1993.

REYES DEL PASO, G. A.; LANGEWITZ, W.; MULDER, L. J.; et al. The utility of low frequency heart rate variability as an index of sympathetic cardiac tone: a review with emphasis on a reanalysis of previous studies. *Psychophysiology*, v. 50, p. 477-87, 2013.

RIVIERE, G.; MICHAUD, A.; BRETON, C.; et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and ACE activities display tissue-specific sensitivity to undernutrition-programmed hypertension in the adult rat. *Hypertension*, v. 46, p. 1169-74, 2005.

ROBBE, H. W.; MULDER, L. J.; RUDEL, H.; et al. Assessment of baroreceptor reflex sensitivity by means of spectral analysis. *Hypertension*, v. 10, p. 538-43, 1987.

ROBERTS, W. Heart rate variability with deep breathing as a clinical test of cardiovagal function. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, v. 76, Suppl 2, p. S37-S40, 2009.

RUDAS, L.; CROSSMAN, A. A.; MORILLO, C. A.; et al. Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 276, p. H1691–8, 1999.

SABINO, J. P.; DA SILVA, C. A.; DE MELO, R. F.; et al. The treatment with pyridostigmine improves the cardiocirculatory function in rats with chronic heart. *Autonomic Neurosci Basic Clin*, v. 173, p. e58-64, 2013.

SAGAWA, K. Baroreflex control of systemic arterial pressure and vascular bed. 1983.

SALDIVA, S. R. D. M.; ESCUDER, M. M. L.; VENANCIO, S. I.; et al. Prevalence of obesity in preschool children from five towns in São Paulo State, Brazil. *Cad Saúde Púb*, v. 20, p. 1627-32, 2004.

SATHISHKUMAR, K.; ELKINS, R.; YALLAMPALLI, U.; et al. Protein Restriction during Pregnancy Induces Hypertension and Impairs Endothelium-Dependent Vascular Function in Adult Female Offspring. *J Vasc Res*, v. 46, p. 229-39, 2009.

SAWAYA, A. L.; MARTINS, P. A.; GRILLO, L. P.; et al. Long-term effects of early malnutrition on body weight regulation. *Nutr Rev*, v. 62, p. 127-33, 2004.

SAWAYA, A. L.; MARTINS, P.; HOFFMAN, D.; et al. The link between childhood undernutrition and risk of chronic diseases in adulthood: a case study of Brazil. *Nutr Rev*, v. 61, n. 5 Pt 1, p. 168-75, 2003.

SAWAYA A.L. & ROBERTS S.B. Stunting and future risk of obesity: principal physiological mechanisms. *Cad Saude Publica*, v. 19, p. 21-8, 2003.

SAWAYA, A. L.; SESSO, R.; FLORENCIOS, T. M.; et al. Association between chronic undernutrition and hypertension. *Matern Child Nutr*, v. 1, p. 155-63, 2005.

SCISLO, T. J.; AUGUSTYNIAK, R. A.; O'LEARY, D. S. Differential arterial baroreflex regulation of renal, lumbar, and adrenal sympathetic nerve activity in the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 275, p. R995–1002, 1998.

SCISLO, T. J.; ICHINOSE, T. K.; O'LEARY, D. S. Stimulation of NTS A1 adenosine receptors differentially resets baroreflex control of regional sympathetic outputs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 294, p. H172–82, 2008.

SCROGIN, K. E.; HATTON, D. C.; CHI, Y.; et al. Chronic nitric oxide inhibition with L-NAME: effects on autonomic control of the cardiovascular system. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, v. 274, p. R367–74, 1998.

SHEPHERD, J. T.; MANCIA, G. Reflex control of the human cardiovascular system. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, v. 105, n. 3-100, 1986.

SHIMOKAWA, A.; KUNITAKE, T.; TAKASAKI, M.; et al. Differential effects of anesthetic on sympathetic nerve activity and arterial baroreceptor reflex in chronically instrumented rats. *J Auton Nerv Syst*, v. 72, n. 1, p. 46–54, 1998.

SHOROGH, M.; FARAHBAKHSH, F.; SHEIKHVATAN, M.; et al. Anesthetic recovery and hemodynamic effects of continuous thiopental infusion versus halothane for maintenance anesthesia in patients undergoing ocular surgery. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 26, n. 3, 2011.

SILVA, V. C.; ALMEIDA, S. S. Early protein malnutrition impairs social memory in adult rats. *Nutr Rev*, v. 19, p. 195-201, 2006.

SMYTH, H. S.; SLEIGHT, P.; PICKERING, G. W. Reflex regulation of arterial pressure during sleep in man: a quantitative method of assessing baroreflex sensitivity. *Circ Res*, v. 24, p. 109-21, 1969.

SOUZA, H. C. D.; BALLEJO, G.; SALGADO, M. C. O.; et al. Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 280, p. H844–50, 2001.

SPYER, K. Neural organization and control of the baroreceptor reflex. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, v. 88, n. 1, p. 23-124, 1981.

STAUSS, H. M. Identification of blood pressure control mechanisms by power spectral analysis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v. 34, p. 362–8, 2007.

STAUSS, H. M.; PERSSON, P. B. Cardiovascular variability and the autonomic nervous system. *J Hypertens*, v. 24, p. 1902-5, 2006.

STAUSS, H. M.; STEGMANN, J. U.; PERSSON, P. B.; et al. Frequency response characteristics of sympathetic transmission to skin vascular smooth muscles in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v. 277, p. R591–R600, 1999.

STOCKER, S. D.; MUNTZEL, M. S. Recording sympathetic nerve activity chronically in rats: surgery techniques, assessment of nerve activity, and quantification. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, v. 305, p. H1407–16, 2013.

STRACK, A. M.; SAWYER, W. B.; MARUBIO, L. M.; et al. Spinal origin of sympathetic preganglionic neurons in the rat. *Brain Res*, v. 455, p. 187–91, 1988.

SUN, M. K.; HACKETT, J. T. E.; GUYENET, P. G. Sympathoexcitatory neurons of rostral ventrolateral medulla exhibit pacemaker properties in presence of a glutamate receptor antagonist. *Brain Research*, v. 438, p. 23-40, 1988a.

SUN, M. K.; YOUNG, B. S.; HACKETT, J. T.; et al. Reticulospinal pacemaker neurons of the rat rostral ventrolateral medulla with putative sympathoexcitatory function: an intracellular study in vitro. *Brain Research*, v. 442, p. 229-39, 1988b.

SVENDEN, P.; CARTER, A. M. Influence of injectable anaesthetic combinations on blood gas tensions and acid-base status in laboratory rats. *Acta Pharmacol Toxicol*, v. 57, p. 1-7, 1985.

SVORC, P. Jr.; BACOVÁ, I.; SVORC, P.; et al. Autonomic Nervous System under Ketamine/ xylazine and Pentobarbital Anaesthesia in a Wistar Rat Model: A Chronobiological View. *Prague Medical Report*, v. 114, n. 2, p. 72–80, 2013.

TALMAN, W. T.; PERRONE, M. H.; REIS, D. J. Evidence for L-Glutamate as the neurotransmitter of baroreceptor afferent nerve fibers. *Science*, v. 209, n. 4458, 1980.

TANK, J.; DIEDRICH, A.; SZCZEC, E.; et al. Baroreflex regulation of heart rate and sympathetic vasomotor tone in women and men. *Hypertension*, v. 45, p. 1159–64, 2005.

Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology: Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation*, v. 93, p. 1043-65, 1996.

TONKISS, J.; TRZCINSKA, M.; GALLER, J. R.; et al. Prenatal malnutrition-induced changes in blood pressure: dissociation of stress and nonstress responses using radiotelemetry. *Hypertension*, v. 32, n. 1, p. 108-14, 1998.

TORRES, T. S.; D'OLIVEIRA SILVA, G.; AGUILA, M. B.; et al. Effects of rosiglitazone (a peroxysome proliferator-activated receptor gamma agonist) on the blood pressure and aortic structure in metabolically programmed (perinatal low protein) rats. *Hypertension research: official journal of the Japanese Society of Hypertension*, v. 31, p. 965-75, 2008.

TROPIA, F. C.; CARDOSO, L. M.; PEDROSA, M. L.; et al. Effects of low-protein diet on the baroreflex and Bezold-Jarisch reflex in conscious rats. *Nutr Neurosci*, v. 4, n. 2, p. 99-107, 2001.

TSUCHIYA, S.; KANAYA, N.; HIRATA, N.; et al. Effects of thiopental on bispectral index and heart rate variability. *Eur J Anaesthesiol*, v. 23, n. 6, p. 454-9, 2006.

TSYRLIN, V. A.; GALAGUDZA, M. M.; KUZMENKO, N. V.; et al. Arterial baroreceptor reflex counteracts long-term blood pressure increase in the rat model of renovascular hypertension. *PLoS ONE*, v. 8, n. 6, p. e64788, 2013.

VAN HOLDE, K. E. Chromatin. *Springer*, 1988.

VALENTI, V. E.; FERREIRA, C.; MENECHINI, A.; et al. Evaluation of Baroreflex Function in Young Spontaneously Hypertensive Rats. *Arq Bras Cardiol*, v. 92, n. 3, p. 205-9, 2009.

V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*, v. 1, n. 48, 2006.

WALLIN, B. G.; CHARKOUDIAN, N. Sympathetic neural control of integrated cardiovascular function: insights from measurements of human sympathetic nerve activity. *Muscle nerve*, v. 5, 2007.

WATKINS, L., MAIXNER, W. The effect of pentobarbital anesthesia on the autonomic nervous system control of heart rate during baroreceptor activation. *J Auton Nerv Syst*, v. 36, n. 2, p. 107-14, 1991.

WILLIAMS, B. The year in hypertension. *JACC*, v. 55, n. 1, p. 66-73, 2010.

World Health Organization (WHO). Global Health Observatory in Nutrition - Child Malnutrition: Children aged <5 years overweight, 2008. Conteúdo acessado a partir de <http://apps.who.int/ghodata/?vid=2469>, às 22:00, em 07/09/2012.

WYSS, J. M. The role of sympathetic nervous system in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, vol. 2, p. 265-73, 1993.

XU, N.; TSAI, C. L.; LEE, J. T. Transient homologous chromosome pairing marks the onset of X inactivation. *Science*, v. 311, p. 1149-52, 2006.

YAMAMOTO, K.; EUBANK, W.; FRANZKE, M.; et al. Resetting of the sympathetic baroreflex is associated with the onset of hypertension during chronic intermittent hypoxia. *Auton Neurosci*, v. 173, p. 22–7, 2014.

YU, S. M.; TSAI, S. Y.; GUH, J. H.; et al. Mechanism of catecholamine-induced proliferation of vascular smooth muscle cells. *Circulation*, v. 94, p. 547-54, 1990.

ZAT, R. Fisiopatologia renal. São Paulo: *Atheneu*, 2002.

ZHANG, K.; LI, Y. F.; PATEL, K. P. Blunted nitric oxide-mediated inhibition of renal neural discharge within PVN of rats with heart failure. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, v. 281, p. H995-1004, 2001.

ZHOU, C.; LIU, J.; CHEN, X. D. General anesthesia mediated by effects on ion channels. *World J Crit Care Med*, v. 1, n. 3, p. 80-93, 2012.

ZHU, H.; POOLE, J.; LU, Y.; et al. Sympathetic nervous system, genes and human essential hypertension. *Curr Neurovasc Res*, v. 2, n. 4, p. 303-17, 2005.

ZOCCAL, D. B.; BONAGAMBA, L. G. H.; PATON, J. F. R.; et al. Sympathetic-mediated hypertension of awake juvenile rats submitted to chronic intermittent hypoxia is not linked to baroreflex dysfunction. *Exp Physiol*, v. 94.9, p. 972–83, 2009.

ZOCCAL, D. B.; SIMMS, A. E.; BONAGAMBA, L. G.; et al. Increased sympathetic outflow in juvenile rats submitted to chronic intermittent hypoxia correlates with enhanced expiratory activity. *J Physiol*, v. 586, p. 3253-65, 2008.

APÊNDICE

Artigo a ser Submetido à Revista: **The Journal of Nutrition**

Fator de Impacto: **4.2**

Qualis Capes: **A2 (Medicina II)**

**HYPERTENSION IN THE RAT OFFSPRING SUBJECTED TO PERINATAL
PROTEIN MALNUTRITION IS NOT RELATED TO THE BAROREFLEX
DYSFUNCTION**

Kássya M Paulino-Silva¹; João H Costa-Silva, ^{1*}.

1Department of Physical Education and Sport Sciences, Academic Center of Vitoria
(CAV), Federal University of Pernambuco, 55608-680, Brazil

***Corresponding author:**

João H Costa-Silva

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte – CAV - UFPE

Rua Alto do Reservatório, S/N, Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE.

CEP: 55608-680

Phone/fax: 55 81 35233351

Email: joao.hcsilva@ufpe.br

ABSTRACT

Background: The relationship between perinatal malnutrition and increased sympathetic activity in the development of hypertension is unclear, however it is known that the baroreflex (BR) is the main mechanism reflection involved in physiological modulation of sympathetic activity.

Objectives: We propose to investigate the effects of maternal protein malnutrition on the BR control of the offspring.

Methods: Wistar rat dams were fed a control [normal-protein (NP); 17% protein] or an LP (8% protein) diet during pregnancy and lactation, and their male offspring were studied at 90 days-old. In unanesthetized and anesthetized animals evaluated the BR by drug infusion (phenylephrine and sodium nitroprusside) and the variability of the cardiovascular system. Furthermore, in anesthetized rats perform direct recording of lumbar sympathetic nervous activity.

Results: At 90 days-old, we found no differences in BR control of blood pressure in anesthetized animals and unanesthetized. We observed an autonomic imbalance to the cardiovascular system by examining variability in unanesthetized LP rats, which was not seen in anesthetized animals. Additionally, lumbar sympathetic activity levels were similar between groups.

Conclusion: The perinatal protein malnutrition was not able to induce changes in the BR control in conscious rats and anesthetized with 90 days-old.

Keywords: Protein undernutrition, hypertension, baroreflex, sympathetic overactivity, autonomic cardiovascular control.

INTRODUCTION

The regulation of blood pressure (BP) is one of the most complex physiological functions and depends on integrated actions of cardiovascular, renal, neural and endocrine systems. Effective control of BP is the result of the activity of feedback systems that operate in the short and long-term (1; 2).

The arterial baroreceptors make up the most important BP control mechanism in the short term, acting moment by moment. Located in the aortic arch and carotid sinus, they are primarily responsible for BP regulating reflex (3). As a result of baroreceptor afferent, the sympathetic nervous system (SNS) emerges as the major efferent pathway in regulating the caliber and vascular reactivity. Evidence on the participation of the SNS in normal controlling cardiovascular and metabolic functions and its role in the genesis and maintenance of various diseases were broad (4).

In this context, systemic arterial hypertension, a multifactorial clinical condition characterized by high and sustained levels of BP, currently regarded as a condition of high cardiovascular morbidity and mortality, is a health care example in which the SNS has a stake in the development and clinical presentation patients (5).

As the baroreflex (BR) is the main reflex mechanism involved in physiological modulation of sympathetic activity, the reduction in the inhibitory influence of the aortic and carotid baroreceptors on SNS activity results in hyperactivity of this system, which could contribute to the development of hypertension (6; 7).

Since other factors may be involved in the genesis of hypertension, epidemiological studies have shown that low birth weight due to intrauterine growth retardation or stunting by nutritional deficiency in early life is associated with increased risk of developing non-communicable diseases, such as diabetes, obesity

and hypertension in adulthood (8; 9; 10; 11; 12.). This may be due, at least in part, to increased sympathetic activity (13).

According to the World Health Organization (WHO), approximately three million people, mostly children, die annually from problems related to nutritional deficiencies and changes in the perinatal environment (14). Several studies have shown that cardiovascular diseases and conditions associated with it, such as hypertension, may arise due to a weak development during fetal life and early childhood. This disease would be consequence of a framework of "programming", where a stimulus or insult at a critical or sensitive period early in life results in physiological and metabolic changes in the long term, as during human development, there are critical time windows in which the maturation should take place, and this failure of maturation process may be unrecoverable (15; 16).

Studies have sought to clarify the relationship between malnutrition and increased sympathetic activity in the development of hypertension. Recent studies have demonstrated that maternal protein restriction may lead to sympathetic overactivity on the male offspring (17; 18), however the central and peripheral mechanisms involved are still poorly understood. In this regard, we propose to investigate the effects of maternal protein malnutrition on the BR control of the offspring. Our hypothesis is that perinatal protein malnutrition induced in the offspring a baroreflex dysfunction, with consequent increase in sympathetic activity, which could contribute to the hypertension in adulthood.

METHODS

The experimental protocol was approved by the Ethical Committee of the Federal University of Pernambuco, Brazil (protocol 016256/2013-83), and followed the Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals (19).

Animals and Experimental Groups

Virgin female albino Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were obtained from the Academic Center of Vitoria de Santo Antão, Federal University of Pernambuco, Brazil. The rats were maintained in a room with controlled temperature ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$) and light-dark cycle (12:12-hour). Standard laboratory feed pellets (52% carbohydrate, 21% protein, and 4% lipids, Labina; Purina Agriband) and water were consumed. Male and female rats up to the three months were mated (2 females for 1 male) and the day on which spermatozoa were identified in a vaginal smear was considered the date of conception, and pregnant rats were transferred to individual cages. Two experimental groups were designated according to diet manipulation: dams fed a 17% casein diet [normal-protein (NP) group; $n = 6$] and dams fed a 8% casein diet (LP group; $n = 6$) and water *ad libitum*.

The diets were elaborated at the Laboratory of Experimental Nutrition – Academic Center of Vitoria de Santo Antão, Federal University of Pernambuco, according to the American Institute of Nutrition – AIN-93 (20; 21).

The casein was previously analyzed and found to be 85% pure (85 g of protein for each 100 g of casein). The diets were isoenergetic and were fed during pregnancy and lactation. Only the amount of protein and carbohydrate was changed (21).

Offspring were standardized as litters of 8 pups 24 h after birth. Male offspring were used in each litter and females were used only to standardize the size of each litter to 8 pups. At weaning, 3 or 4 male offspring from each litter were randomly housed in collective cages and received a standard diet ad libitum. At least 2 or 3 male offspring from each litter were used to compose the NP or LP groups and to perform the experimental protocol. All experiments were conducted on male Wistar rats at 90 days of age.

Measurement of Arterial Pressure and Heart Rate

One day before the experiments, the NP (n = 12) and LP (n = 12) rats were anesthetized with ketamine (80 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg), and the femoral artery and vein were cannulated (PE-50 connected to PE-10; Clay Adams). The catheters were filled with heparinized saline (NaCl 0.9%), tunneled subcutaneously, and exteriorized through the back of the neck. After surgery, the rats were administered an injection of ketoprofen (5 mg/kg, intraperitoneally), penicillin G (50.000 IU, subcutaneously) and a period of 24 h was allowed to pass until the rats had fully recovered from the surgical and anesthetic procedures. The next day, the mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) of unanesthetized freely moving rats were recorded by connecting the arterial catheter to a pressure transducer. The signals were amplified (ML866/P, Power Lab; ADInstruments), sampled at 2 kHz, and digitalized by using appropriate software (LabChart7 Pro; ADInstruments). Recordings of the baseline pulsatile arterial pressure, MAP, and HR were made for 30–60 min. The signals were then captured by an acquisition system and data analysis was performed (PowerLab; ADInstruments). All data were analyzed off-line with the use of appropriate software (LabChart 7 Pro; ADInstruments).

Cardiovascular Variability

Beat-by-beat series of mean and systolic arterial pressure (SAP) were generated of the pulsatile arterial pressure of the NP and LP rats (Chart Pro; ADInstruments). A series of pulse interval (PI) were obtained by measuring the intervals between consecutive diastolic arterial pressure values, which were used as a measure of HR variability (22).

SAP and PI variability were studied in the frequency domain by spectral analysis. The series of SAP and PI from the basal recording period were resampled at 10 Hz and divided into contiguous segments of 512 values, overlapping by 50%. After Hanning windowing, the spectra of each segment of either the SAP or PI series were calculated using the fast Fourier transform algorithm (Cardioseries software, version 2.4) (17; 23).

The spectra were integrated into two frequency bands: low (LF: 0.2–0.75 Hz) and high (HF: 0.75–3.0 Hz). The oscillations slower than 0.2 Hz were not quantified in this study. Moreover, the LF or HF power of the PI spectra was calculated in normalized units (NU), that is, the contribution of either LF or HF power relative to the total power of the PI spectra in the frequency range between 0.2 and 3.0 Hz. The ratio of the power of LF to that of HF of the PI spectra, that is, LF/HF, was also calculated (17; 24).

Oscillations of SAP and HR at the LF are representative of the modulatory effects of sympathetic activity controlling vascular tonus and heart activity, whereas oscillations at the HF are associated with a respiratory or parasympathetic modulation of blood vessels or the heart, respectively (25; 26; 27). Besides, the symbolic analysis was used, a non-linear method based on the conversion of the

series into a sequence of symbols (28). These analyzes were carried out on unanesthetized and anesthetized animals.

Baroreflex Sensitivity

Spontaneous Baroreflex Sensitivity: In this study, the spontaneous BR sensitivity was calculated through sequence method by computer software CardioSeries (v.2.4) in unanesthetized freely moving rats and anesthetized rats. Ramps of progressive increases or decreases in SAP or PI were automatically detected in the beat-by-beat series from the basal recording period. Sequences, defined by ramps of four SAP values associated with parallel PI changes showing linear correlation coefficients higher than 0.8, were identified. Spontaneous BR was calculated as the slope (ms/mmHg) of the linear regression lines between SAP and the subsequent PI (29; 30). That analyze were carried out on unanesthetized and anesthetized animals.

Evoked Baroreflex Sensitivity: Evoked baroreflex sensitivity was evaluated as the ratio of the reflected HR variation by the variation in MAP induced by phenylephrine (Phe) or sodium nitroprusside (SNP) in unanesthetized rats to move freely (31; 32). The doses used were adjusted in a wide range of variation, thus activate the BR with Phe (0.1 - 8µg/Kg) and inhibit BR with sodium nitroprusside (SNP; 0.5 - 50µg/Kg) in both groups of rats studied. The ratio of reflex changes in HR to drug-induced (Phe/SNP) changes in arterial pressure (AP) has conventionally been used to assess BR sensitivity, the maximum HR changes corresponding to maximum and minimum changes in MAP were used to calculate the baroreceptor reflex sensitivity of HR.

Baroreceptors were always activated first (Phe infusion) before unloading (SNP infusion) to minimize any potential effects of reflex release of humoral agents such as vasopressin or angiotensin II on baroreflex function.

Surgery and Experimental Protocol for the Record LSNA

The rats were anesthetized with thiopental sodium (40 mg/kg iv, supplemented with 10 mg/kg iv as needed) and the lumbar chains were accessed through a midline abdominal incision after gentle retraction of the intestines, abdominal aorta and vein cava. One of the chains was dissected and placed on a bipolar electrode at the L3-L4 level. Approximately 3 mm of the left lumbar sympathetic trunk was carefully isolated from the connective tissue (33). The curved bipolar electrode was placed in contact with the sympathetic trunk, a third electrode was placed in the abdominal wall and served as a grounding electrode. When optimal nerve activity was confirmed by observing the rhythmic bursts of nerve activity, the wires of the nerve-electrode preparation was embedded in a mineral oil (nujol, Schering-Plough).

Assessment of Baroreflex Control of LSNA

After stabilization of the electrical signal, recordings were made of about 30 minutes from lumbar SNA (LSNA), and followed with the assessment of BR control of LSNA in anesthetized animals. BR control of LSNA was determined by means of sequential intravenous infusion of Phe (50 µg/kg, iv) and SNP (100 µg/kg, iv) (34).

Thus, the MAP, HR and LSNA were recorded simultaneously during the increase in MAP, elicited by injection of Phe until complete disappearance of the action potentials of LSNA, associated with bradycardia. Next, after LSNA returned to the basal level, following MAP normalization, recording of LSNA continued during the

decrease in MAP elicited by injection of SNP reaching maximal activity of LSNA, associated with tachycardia. The contribution of the SNS to maintenance of the BP was evaluated by the intravenous injection of hexamethonium (25 mg/kg, Sigma), a ganglionic blocker that suppresses sympathetic activity.

Then, rats were euthanized with an intravenous overdose of thiopental sodium and the residual electrical activities were recorded for an additional 20-min period, which provided estimates of the background noise.

Off-line Data Analysis of LSNA

The LSNA were band-pass filtered (300 – 3.000 Hz) and amplified with a gain of 100.000. All of the analyses of rectified and integrated signals were performed off-line by using the software Spike 5 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK) with custom-written scripts. Before analyses of the LSNA, recordings were subtracted from the electrical noise obtained after the death of the animal, so that for each LSNA record, the corresponding background noise was subtracted from the time series.

For baseline measurements, LSNA activity was assessed by its mean activity (mV), amplitude (mV) and frequency (spikes per second). The sympathetic response to evaluation of BR was assessed by difference between the lowest or maximal activity observed during BR activation or inhibition, respectively, in relation to the activity before the stimulus. Therefore, it present the mean variation in ANSL (Δ LSNA; mV), amplitude variation of LSNA (Δ Amplitude LSNA; mV) and frequency variation of LSNA (Δ Frequency LSNA; in spikes / second) caused by the infusion of vasoactive drugs.

Statistical analysis

Data are expressed as mean $\pm$ SEM (standard error of mean). The data were tested for normality and homogeneity of variance by the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk test. The comparison between the normo protein and low protein groups was performed by the unpaired Student "t" test, for data with normal distribution and the Mann Whitney test for data with non-normal distribution. The comparisons were performed using GraphPad Prism software (GraphPad, v.5), and differences were considered significant at $p < 0.05$.

RESULTS

Cardiovascular measurements in unanesthetized rats

Baseline recordings of the MAP and HR of representative 90-day-old rats are shown in Fig. 1. At 90 days, the male rats born to the LP dams exhibited an increase in the baseline MAP (NP: 101 ± 3 vs. LP: 111 ± 2 mmHg; $p < 0.05$; panel C), but similar baseline HR compared with the NP group (NP: 342 ± 6 vs. LP: 356 ± 5 bpm; panel D).

In relation to cardiovascular variability (Fig. 2), it was observed that LF oscillations of the SAP (panel C) were increased in the LP animals (NP: 2.6 ± 0.4 vs. LP: 4 ± 0.4 mmHg²; $p < 0.05$), whereas, the HF components of the SAP were similar in both groups (NP: 1.9 ± 0.2 vs. LP: 1.8 ± 0.2 mmHg²). Besides, the LF bands of the PI (panel D) were increased in the LP animals (NP: 29.2 ± 3.4 vs. LP: 41.9 ± 2.5 NU; $p < 0.05$), whereas the HF bands of the PI were smaller in these animals compared with the NP animals (NP: 70.7 ± 3.8 vs. LP: 60.3 ± 3.1 NU; $p < 0.05$).

Moreover, the protein restriction during the perinatal period elicited an increase in the LF/HF ratio of the PI (NP: 0.4 vs. LP: 0.8; $p < 0.05$; panel E). Similar to the observations in the PI variability, in the HR variability evaluated by the symbolic analysis, the percentage of occurrences of the patterns of 0V sequences was significantly higher (NP: 37.5 ± 3.8 vs. LP: $48.5 \pm 2.8\%$; $p < 0.05$), and the patterns and sequences 2V were significantly lower in the LP group compared with the NP group (NP: 11.4 ± 2.9 vs. LP: $8.6 \pm 1.5\%$; $p < 0.05$).

In relation to spontaneous BR sensitivity, no difference was detected in the gain of the BR measured by sequence analysis (NP: 0.7 ± 0.1 vs. LP: 0.9 ± 0.1

ms/mmHg). Besides, no difference was found in BR sensitivity evoked by Phe or SNP, at all the doses used, as shown in Tab. 1.

Cardiovascular evaluation and sympathetic nerve activity in anesthetized rats

Baseline recordings of the MAP, HR and LSNA of representative 90-day-old rats are shown in Fig. 3. At 90 days, the levels of baseline MAP in the LP animals were significantly increased (NP: 89 ± 4 vs. LP: 101 ± 2 mmHg; $p < 0.05$; panel C), but there were no changes in the levels of baseline HR compared with the NP group (NP: 273 ± 13 vs. LP: 269 ± 10 bpm; panel D). The malnourished animals showed LSNA average (NP: 0.0320 ± 0.008 vs. LP: 0.0282 ± 0.005 mV; panel E), amplitude (NP: 0.044 ± 0.012 vs. LP: 0.052 ± 0.009 mV; panel F) and frequency (NP: 167.5 ± 5.9 vs. LP: 160.5 ± 4.5 spikes/sec; panel G) similar to the control group.

In relation to cardiovascular variability (Fig. 4) of the SAP, LF oscillations (NP: 2.5 ± 1.2 vs. LP: 2.7 ± 1.2 mmHg², panel C) and HF oscillations (NP: 1.5 ± 0.4 vs. LP: 2.4 ± 0.6 mmHg²) were similar among animals. Well, no difference was found of the LF component (NP: 23.2 ± 5.9 vs. LP: 29.5 ± 7.6 NU) and HF component (NP: 82.2 ± 5.4 vs. LP: 70.4 ± 7.6 NU) of the PI (panel D).

Protein restriction during the perinatal period did not change the LF/HF ratio of the PI (NP: 0.2 vs. LP: 0.2; panel E). Similar to the observations in the PI variability, in the HR variability evaluated by the symbolic analysis, the percentage of occurrences of the patterns of 0V sequences (NP: 27.9 ± 4.8 vs. LP: $31.7 \pm 6.7\%$), and the patterns and sequences 2V (NP: 16.5 ± 4.7 vs. LP: $14.4 \pm 2.6\%$) were similar between groups.

No difference was detected in the gain of the BR measured by sequence analysis (NP: 0.34 ± 0.02 vs. LP: 0.27 ± 0.03 ms/mmHg). Baroreflex control of LSNA

of representative 90-day-old rats after activating the BR with Phe is showed of the Fig. 5, malnourished animals presented similar values MAP variation (NP: 87.4 ± 4.2 vs. LP: 90.8 ± 3.5 mmHg; panel C) and HR (NP: -163 ± 20 vs. LP: -161 ± 12 bpm; panel D) when compared to controls.

Similarly, animals LP group showed no difference in mean change of LSNA (NP: -0.011 ± 0.002 vs. LP: -0.009 ± 0.002 mV; panel E), as well as amplitude (NP: -0.018 ± 0.004 vs. LP: -0.021 ± 0.004 mV; panel F) and frequency (NP: -16.9 ± 3.7 vs. LP: -15.9 ± 4 spikes/sec; panel G) when compared to controls. When inhibit BR with SNP (Fig. 6), malnourished animals showed similar values MAP variation (NP: 52.8 ± 3.2 vs. LP: 58 ± 1.3 mmHg; panel C) and HR (NP: 21 ± 3 vs. LP: 26 ± 6 bpm; panel D) when compared to controls. Furthermore, malnourished animals showed similar values mean variation in LSNA (NP: 0.014 ± 0.004 vs. LP: 0.013 ± 0.002 mV; panel E), both amplitude (NP: 0.023 ± 0.011 vs HP: 0.018 ± 0.004 mV; panel F) and frequency (NP: 12 ± 3.9 vs HP: 9.9 ± 2.2 spikes/sec; panel G) when compared to controls.

The hemodynamic parameters and activity of lumbar sympathetic nerve of anesthetized rats at 90-day-old submitted to ganglionic blockade with hexamethonium (Fig. 7) show similar results of the MAP variation (NP: -47.6 ± 5.2 vs HP: -44.9 ± 3.3 mmHg; painel C) and HR (NP: -84.8 ± 25 vs HP: -84.6 ± 22 bpm; panel D) when compared to controls. Similarly, animals LP group showed no difference in mean change of LSNA (NP: -0.018 ± 0.006 vs HP: -0.017 ± 0.003 mV; painel E), as well as amplitude (NP: -0.021 ± 0.008 vs HP: -0.029 ± 0.007 mV; painel F) and frequency (NP: -22.3 ± 3.8 vs HP: -20.7 ± 4.1 spikes/seg; painel G) when compared to controls.

DISCUSSION

In the present study, we evaluated the involvement of baroreflex control of BP on the development of hypertension induced by maternal protein restriction in male adult offspring. The main findings were I) integrity of the BR control evidenced from evaluation of spontaneous and evoked BR in anesthetized rats; and II) preserving BR modulation of sympathetic activity from direct records of lumbar sympathetic nerve in unanesthetized rats. These data provide evidences indicating that the hypertension in this experimental model is not related to changes in BR mechanism.

Maternal nutritional insult correlates with delayed physical growth and neurodevelopmental delays in an independent way of sex, and affect other systems (35). Studies have shown that malnutrition when applied at critical periods increases the individual's predisposition to develop cardiovascular disease (36; 37). Thus, the association between protein malnutrition during pregnancy (38), lactation (39) or post weaning (40; 41) and rising BP levels in adulthood had previously been described in experimental studies. In particular, it is observed that the offspring submitted to protein deprivation in the perinatal phase consisting of pregnancy and lactation, had hypertension at 90 days-old (17; 42), which was associated to sympathetic overactivity at this age (17). However, the mechanisms responsible for the appearance of these cardiovascular dysfunctions and the possible involvement of baroreflex mechanisms were not fully understood.

It is well described that proper functioning of the cardiovascular system is dependent on different controllers systems, including the autonomic nervous system, balancing the sympathetic and vagal activity, and peripheral sensors, where we highlight the influence of arterial baroreceptors (3; 43; 44). It is assumed, therefore,

that changes in the PA, as found in hypertension could be result from dysfunction of cardiovascular control systems, including the BR (6; 7; 45; 46; 47).

In this way the BP and HR are constantly subject to fluctuations in autonomic tone, determined by the sympathetic and parasympathetic activity (48; 49), which could induce variations of the components of SAP and PI spectrum, such LF bands (correlated to BR function and sympathetic activity) and HF (correlated to ventilatory function and parasympathetic activity) (17; 50).

In the present study, it was observed that the malnourished animals have increased LF of the SAP spectrum, indirectly suggesting the SNS performance in BP control compared to their peers. On PI analysis, LF bands correspond mainly to the participation of the SNS and the HF bands are considered a product of efferent parasympathetic activity (50), while the LF / HF ratio is an index that reflects the cardiac sympathovagal interaction (51). We found increased LF component and reduction of HF bands, with consequent increase in LF / HF ratio for the heart, which reinforces the hypothesis of participation of SNS in maintaining high levels of BP. Likewise the study of IP variability by symbolic analysis suggested a increase of the cardiac sympathetic modulation in adult male from dams submitted to protein restriction, as previously described by Barros and cols. (17). Together, these data observed in animals unanesthetized, strongly suggest an autonomic imbalance for the cardiovascular system.

BR is the main form of rapid BP control and that a baroreflex dysfunction could lead to a sympathetic overactivity, with subsequent development of hypertension (46; 52; 53). So one of the hypotheses tested in our study was that the BR dysfunction might be involved in the onset of the hypertension in animals subjected to perinatal protein malnutrition. Thus, in order to evaluate these hypotheses, the present study

provided a extensive study of spontaneous and induced BR control of BP in these animals. It was applied different doses of vasoactive drugs, to provide different levels of activation and inhibition of the BR.

No difference was noted in the analysis of spontaneous BR sensitivity. In the same way, pharmacological study of the BR showed that BR control and reflex responses on the HR and LSNA were not changed in the malnourished animals, suggesting the integrity of the baroreceptors and all neuronal network involved in this reflex in these animals. Therefore, these data suggest that sympathetic hyperactivity observed in animals unanesthetized subjected to perinatal protein malnutrition may not be associated with BR dysfunction. These data provide new insight about the development of the hypertension in the male offspring from dams subjected to protein restriction.

Note that the protein malnutrition in late stage in the post-lactation period has been linked to changes in the cardiovascular system control mechanisms, such as increased sympathetic vasomotor tone (54), changes in HR and MAP, plus the increased variability of these parameters when analyzed in the time domain (55) and changes in sensitivity before and after BR autonomic locks, suggesting important autonomic changes (47) in these animals. However, it was recently demonstrated that animals subjected to protein malnutrition at an early stage of development, including pregnancy and lactation, have higher BP levels, autonomic imbalance for the cardiovascular system and change in breathing pattern (17; 42).

The term "programming" or "phenotypic plasticity" has been used to explain that during the development of each organ or system there is a critical window of sensitivity or plasticity, that environmental factors may cause adjustments to the phenotype that remain lifelong (56). The perinatal malnutrition is one of the best-

studied environmental factors as phenotypic plasticity inducer (15; 47; 57; 58; 59). As the development of baroreceptors get along early in the intrauterine stage (43; 60), we believe the nutritional insult at this stage is able to induce adaptations in these forward receptors to new hemodynamic challenges.

As sympathetic activity suffers significant influence of the action of the arterial baroreceptors, in humans and rats, the BR control of SNS activity is commonly assessed by recording the activity of a peripheral sympathetic nerve evoked by intravenous administration of vasoactive drugs, based in the measurement of simultaneous responses from BP and sympathetic activity (61; 62; 63; 64).

Thus, we investigated the baseline and the BR control on the LSNA in anesthetized animals subjected to perinatal protein restriction. For this, we conducted simultaneous lumbar sympathetic nerve and hemodynamic variables in records baseline, and during pharmacological evaluation of the BR. Initially, we note that, at 90 days-old, the malnourished animals show BP significantly higher than the control animals, but similar levels of LSNA in anesthesia conditions. In follow-up to our protocol, we held the BR control assessment LSNA and, like in animals unanesthetized, the BR of these animals was intact, showing that perinatal protein malnutrition did not alter the ability of baroreceptors in regulating the sympathetic activity in the lumbar area in young adult rats.

To mark the lumbar sympathetic nerve behavior in our animals, we evaluated the average activity, amplitude and frequency of the lumbar nerve firings in anesthetized animals subjected to protein restriction. It was observed similar values to control. It is suggested that the anesthetic could be involved in the attenuation of the effects played by the protein restriction.

Despite the regional differences of action, we consider the LSNA as representative of systemic sympathetic tone, but we know that the BR control of this system is variable, although the BR stimulus-response curves are similar among various peripheral sympathetic nerves (65).

Previous studies from our laboratory have shown that this experimental model features 90 days-old, in addition to increased BP, abnormal respiratory rate (42), and more recently it was observed that animals at 30 days of life friendly feature-respiratory hyperactivity and amplified answers against the activation of peripheral chemoreceptors (18). These changes precede the onset of hypertension in young rats exposed to protein malnutrition during pregnancy and lactation and suggest the involvement of the respiratory component in the genesis of hypertension.

Our results demonstrate that perinatal protein malnutrition was not able to induce changes in the BR LSNA control in conscious rats and anesthetized with 90 days-old. Since we observed increased sympathetic tone in conscious animals, we believe that anesthetic induction has been responsible for mitigating the SNS activity in the lumbar area. Based on our trials and associated with changes in the respiratory system recently highlighted by our research group, we suggest that sympathetic hyperactivity is contributing to the development of hypertension observed in adult life of animals exposed to protein malnutrition in the perinatal phase.

REFERENCES

1. Shepherd JT, Mancia G. Reflex control of the human cardiovascular system. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1986;105(3):100.
2. Dampney RAL, Coleman MJ, Fontes MAP, Hirooka Y, Horiuchi J, Polson JW, Potts PD, Tagawa T. Central mechanisms underlying short-term and long-term regulation of the cardiovascular system. *Proceedings of the Australian Physiological and Pharmacological Society* 2001;32(1).
3. Krieger EM, Salgado HC, Michelini LC. Resetting of the baroreceptors. *Int Rev Physiol* 1982;26:119–46.
4. Wyss JM. The role of sympathetic nervous system in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1993;2:265-73.
5. Consolim-Colombo FM, Irigoyen MC, Krieger EM. Sistema nervoso simpático e hipertensão arterial sistêmica. *Rev Soc Bras Hipertens* 2005;8(1).
6. Kumada M, Terui N, Kuwaki T. Arterial baroreceptor reflex: its central and peripheral neural mechanisms. *Prog Neurobiol* 1990;35:331-61.
7. Julien C. Baroreflex control of sympathetic nerve activity and blood pressure variability. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008;35:512–5.
8. Barker DJ, Osmond C, Forsen TJ, Kajantie E, Eriksson JG. Maternal and social origins of hypertension. *Hypertension* 2007;50(3):565-71.
9. Sathishkumar K, Elkins R, Yallampalli U, Yallampalli C. Protein restriction during pregnancy induces hypertension and impairs endothelium-dependent vascular function in adult female offspring. *J Vasc Res* 2008;29;46(3):229–39.
10. Calkins K, Devaskar SU. Fetal origins of adult disease. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2011;41:158-76.

11. Lapillonne A. Intrauterine growth retardation and adult outcome. *Bull Acad Natl Med* 2011;195:477-84.
12. Clemente APG, Santos CD, Silva AAB, Martins VJ, Marchesano AC, Fernandes MB, Albuquerque MP, Sawaya AL. A baixa estatura leve está associada ao aumento da pressão arterial em adolescentes com sobrepeso. *Arq Bras Cardiol* 2012;98(1):6-12.
13. Belchior ACS, Angeli JK, Faria TO, Siman FDM, Silveira EA, Meira EF, Costa CP, Vassallo DV, Padilha AS. Post-Weaning Protein Malnutrition Increases Blood Pressure and Induces Endothelial Dysfunctions in Rats. *PLoS ONE* 2012;7(4):e34876.
14. World Health Organization (WHO). Global Health Observatory in Nutrition - Child Malnutrition: Children aged <5 years overweight, 2008. Conteúdo acessado em <http://apps.who.int/ghodata/?vid=2469>, em 07/09/2012.
15. Barker DJ, Clark PM. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev Reprod* 1997;2(2):105-12.
16. Plagemann A, Harder T, Rake A, Melchior K, Rohde W, Dorner G. Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *J Nutr* 2000;130(10):2582-9.
17. Barros MAV, Brito Alves JL, Nogueira VO, Wanderley AG, Costa-Silva JH. Maternal low-protein diet induces changes in the cardiovascular autonomic modulation in male rat offspring. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014;1–8.
18. Brito Alves JL, Nogueira VO, Cavalcanti Neto MP, Leopoldino AM, Curti C, Colombari DSA, Colombari E, Wanderley AG, Leandro CG, Zoccal DB, Costa-Silva JH. Maternal protein restriction increases respiratory and sympathetic

- activities and sensitizes peripheral chemoreflex in male rat offspring. *J Nutr* 2015;145:1-8.
19. Bayne K. Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. Am Physiol Society 1996;199:208–211.
 20. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;123:1939–51.
 21. Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 1997;127(Suppl):838S–41S.
 22. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation* 1996;93:1043–65.
 23. Tezini GC, Dias DP, Souza HC. Aerobic physical training has little effect on cardiovascular autonomic control in aging rats subjected to early menopause. *Exp Gerontol* 2013;48:147–53.
 24. Cerutti C, Gustin MP, Paultre CZ, Lo M, Julien C, Vincent M, Sassard J. Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. *Am J Physiol* 1991;261:H1292–9.
 25. Malliani A, Pagani M, Lombardi F, Cerutti S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 1991;84:482–92.
 26. Bernardi L, Porta C, Gabutti A, Spicuzza L, Sleight P. Modulatory effects of respiration. *Auton Neurosci* 2001;90:47–56.

27. Zoccal DB, Bonagamba LG, Paton JF, Machado BH. Sympathetic mediated hypertension of awake juvenile rats submitted to chronic intermittent hypoxia is not linked to baroreflex dysfunction. *Exp Physiol* 2009;94:972–83.
28. Porta A, Tobaldini E, Guzzetti S, Furlan R, Montano N, Gneccchi-Ruscione T. Assessment of cardiac autonomic modulation during graded head-up tilt by symbolic analysis of heart rate variability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H702e8.
29. Laude D, Elghozi JL, Girard A, et al. Comparison of various techniques used to estimate spontaneous baroreflex sensitivity (the EuroBaVar study). *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 2004;286:R226–31.
30. Laude D, Baudrie V, Elghozi JL. Tuning of the sequence technique. *IEEE Eng Med Biol Mag* 2009;28:30–4.
31. Gribbin B, Pickering TG, Sleight P, Peto R. Effect of age and high blood pressure on baroreflex sensitivity in man. *Circ Res* 1971;29:424–31.
32. Coleman TG. Arterial baroreflex control of heart rate in the conscious rat. *Am J Physiol* 1980;238:H515–20.
33. Miki K, Oda M, Kamijyo N, Kawahara K, Yoshimoto M. Lumbar sympathetic nerve activity and hindquarter blood flow during REM sleep in rats. *J Physiol* 2004;557:261–71.
34. Kanbar R, Ore´a V, Barre`s C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292:R362–7.
35. Belluscio LM, Berardino BG, Ferroni NM, Ceruti JM, Canepa ET. Early protein malnutrition negatively impacts physical growth and neurological reflexes and

- evokes anxiety and depressive-like behaviors. *Physiol Behav* 2014;129:237-54.
36. Forsdahl A. Are poor living conditions in childhood and adolescence an important risk factor for arteriosclerotic heart disease? *Br J Prev Soc Med* 1977;31(2):91-5.
 37. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulindependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992;35(7):595-601.
 38. Brawley L, Itoh S, Torrens C, Barker A, Bertram C, Poston L, Hanson M. Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatr Res* 2003;54(1):83-90.
 39. Luzardo R, Silva PA, Einicker-Lamas M, Ortiz-Costa S, Carmo MGT, Vieira-Filho LD, Paixão ADO, Lara LS, Vieyra A. Metabolic programming during lactation stimulates renal Na^+ transport in the adult offspring due to an early impact on local angiotensin II pathways. *PLoS ONE* 2011;6(7):e21232.
 40. Costa-Silva JH, Silva PA, Pedi N, Luzardo R, Einicker-Lamas M, Lara LS, Bezerra AM, Castro-Chaves C, Vieyra A. Chronic undernutrition alters renal active Na^+ transport in young rats: potential hidden basis for athophysiological alterations in adulthood? *Eur J Nutr* 2009;48(7):437-45.
 41. Murça TM, Magno TS, De Maria ML, Capuruço CA, Chianca DA Jr, Ferreira AJ. Cardiac responses of rats submitted to postnatal protein restriction. *Appl Physiol Nutr Metab* 2012;37(3):455-62.
 42. Brito Alves JL, Nogueira VO, Oliveira GB, da Silva GS, Wanderley AG, Leandro CG, Costa-Silva JH. Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O_2/CO_2 chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. *Br J Nutr* 2014;111:606–15.

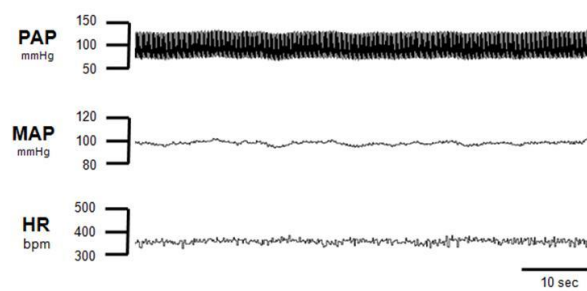
43. Spyer K. Neural organization and control of the baroreceptor reflex. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1981;88(1):23-124.
44. Krieger EM, Brum PC, Negrao CE. Role of arterial baroreceptor function of cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. *Biol res* 1998;3.
45. Irigoyen MC, Consolim-Colombo F. M.; Krieger, E. M. Controle cardiovascular: regulação reflexa e papel do sistema nervoso simpático. *Rev Bras Hipertens* 2001;8:55-62.
46. Souza HC, Ballejo G, Salgado MC, Da Silva VJ, Salgado HC. Cardiac sympathetic overactivity and decreased baroreflex sensitivity in L-NAME hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280(2):H844–50.
47. Loss Ide O, Fernandes LG, Martins CD, Cardoso LM, Silva ME, Dias-da-Silva VJ, Moraes MF, Chianca DA Jr. Baroreflex dysfunction in rats submitted to protein restriction. *Life Sci* 2007;81(11):944-50.
48. Hainsworth R, Ledsome JR, Carswell F. Reflex responses from aortic barorreceptores. *Am J Physiol* 1970;218:423-9.
49. Hainsworth R. Reflexes from the heart. *Physiol Rev* 1991;71:617-58.
50. Montano N, Porta A, Cogliati C, Costantino G, Tobaldini E, Casali KR, Iellamo F. Heart rate variability explored in the frequency domain: a tool to investigate the link between heart and behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2009;33(2):71-80.
51. Kuwahara M, Yayou K, Ishii K, Hashimoto S, Tsubone H, Sugano S. Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. *J Electrocardiol* 1994;27(4):333–7.

52. Floras JS, Hassan MO, Jones JV, Osikowska BA, Sever PS, Sleight P.
Consequences of impaired arterial baroreflexes in essential hypertension: effects on pressor responses, plasma noradrenaline and blood pressure variability. *J Hypertens* 1988;6(7):525-35.
53. Tsyrlin VA, Galagudza MM, Kuzmenko NV, Pliss MG, Rubanova NS, Shcherbin YI. Arterial baroreceptor reflex counteracts long-term blood pressure increase in the rat model of renovascular hypertension. *PLoS ONE* 2013;8(6):e64788.
54. Tropia FC, Cardoso LM, Pedrosa ML, Silva ME, Haibara AS, Moraes MF, Chianca DA Jr. Effects of low-protein diet on the baroreflex and Bezold-Jarisch reflex in conscious rats. *Nutr Neurosci* 2001;4(2):99-107.
55. Oliveira EL, Cardoso LM, Pedrosa ML, Silva ME, Dun NJ, Colombari E, Moraes MF, Chianca DA Jr. A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean arterial pressure and heart rate in Fisher rats. *Nutr Neurosci* 2004;7(4):201-5.
56. Gluckman PD, Hanson MA. Developmental plasticity and human disease: research directions. *J Intern Med* 2007;261:461-71.
57. Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in Young Men after Famine Exposure in Utero and Early Infancy. *N Engl J Med* 1976;295:349-53.
58. Sawaya AL, Martins PA, Grillo LP, Florêncio TT. Long-term effects of early malnutrition on body weight regulation. *Nutr Rev* 2004;62:S127-33.
59. Rivière G, Michaud A, Breton C, VanCamp G, Laborie C, Enache M, Lesage J, Deloof S, Corvol P, Vieau D. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and ACE activities display tissue-specific sensitivity to undernutrition-programmed hypertension in the adult rat. *Hypertension* 2005;46(5):1169-74.

60. Moore KL. Embriologia Básica. São Paulo, Dominus, 1974.
61. Rudas L, Crossman AA, Morillo CA, Halliwill JR, Tahvanainen KU, Kuusela TA, Eckberg DL. Human sympathetic and vagal baroreflex responses to sequential nitroprusside and phenylephrine. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;276:H1691–8.
62. Miki K, Yoshimoto M, Tanimizu M. Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol* 2003;548:313–22.
63. Cheng Y, Cohen B, Oréa V, Barrès C, Julien C. Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton Neurosci* 2004;111(2):80–8.
64. Tank J, Diedrich A, Szczech E, Luft FC, Jordan J. Baroreflex regulation of heart rate and sympathetic vasomotor tone in women and men. *Hypertension* 2005;45(6):1159–64.
65. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K. Muscle sympathetic nerve activity averaged over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change. *Circulation* 2005;112(3):384–6.

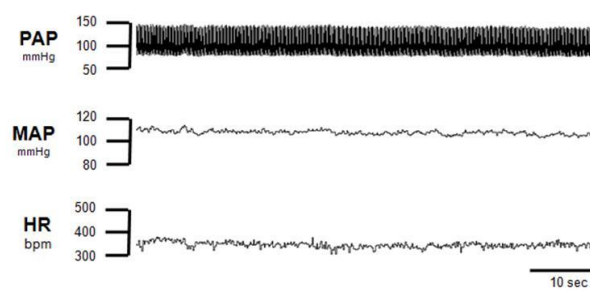
A)

Normo Protein Group

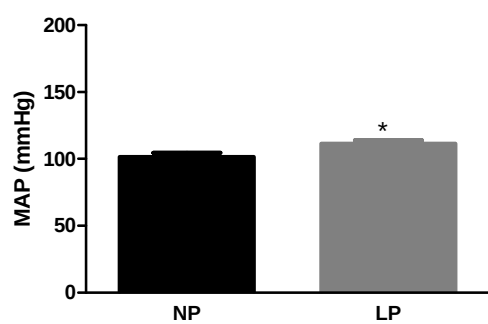


B)

Low Protein Group



C)



D)

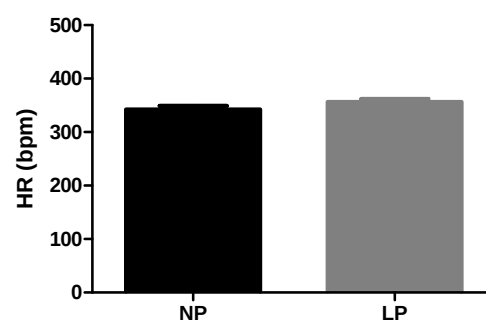
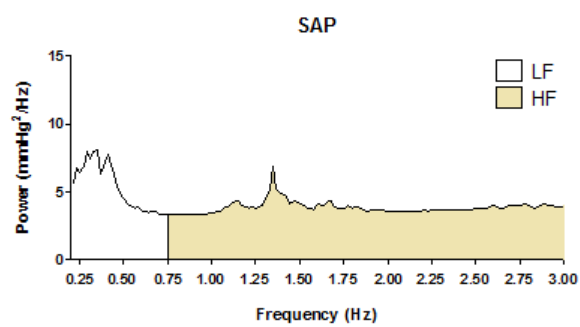


Figure 1. Baseline cardiovascular parameters of male rats unanesthetized with 90-day-old. Tracing representative of an animal normo protein group (panel A) and low protein group (panel B) showing pulsatile blood pressure (PAP), mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) and mean values of PAM (panel C) and HR (panel D) baseline in rats 90 days (normo protein group, NP; black bars, n = 10; and low protein group, LP; gray bars, n = 12) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein) or low protein diet (8% protein) during pregnancy and lactation. Values were expressed as mean $\pm$ SEM. (*) P <0.05 compared with the NP group (Student's unpaired t-test).

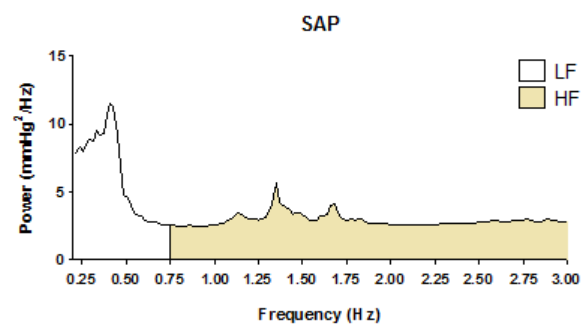
A)

Normo Protein Group

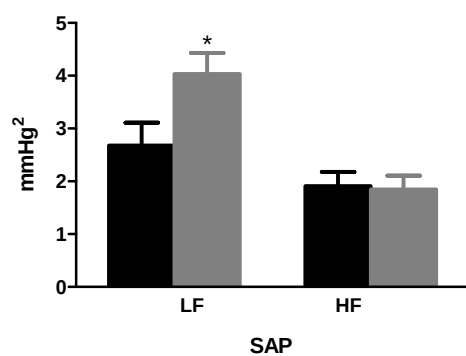


B)

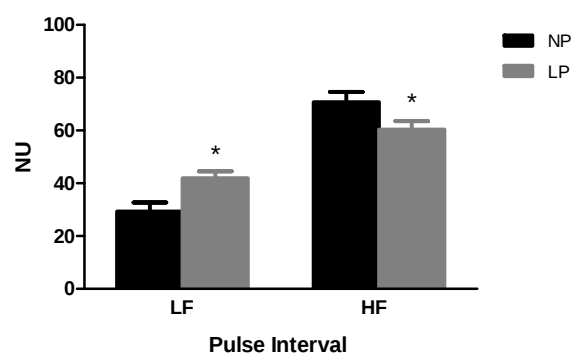
Low Protein Group



C)



D)



E)

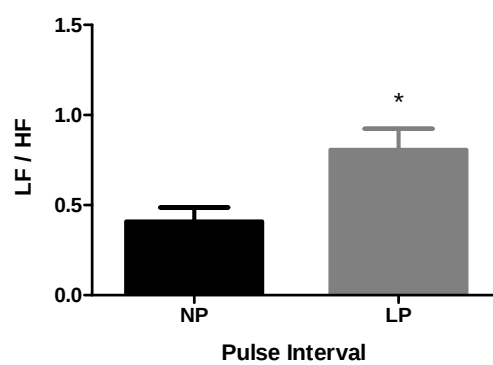
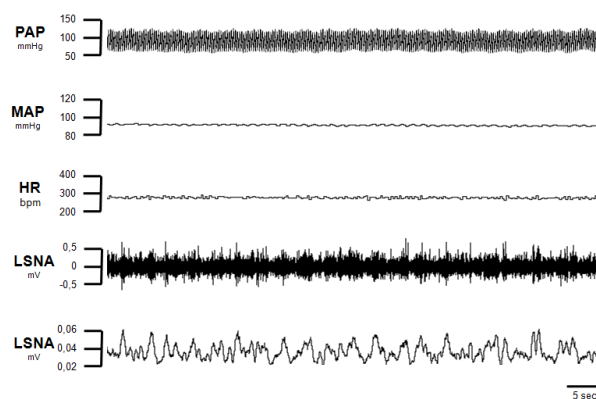


Figure 2. Heart rate variability parameters of unanesthetized male rats with 90-day-old. Average spectrum of the normo protein group (panel A) and low protein group (panel B). The low frequency band (LF, 0.2 - 0.75 Hz) are highlighted in white and the high frequency band (HF, 0.75 - 3.0 Hz) are highlighted in yellow. Spectral analysis of the systolic pressure (panel C), pulse interval (panel D), and LF / HF ratio (panel E) in rats 90-day-old (group normo protein, NP; black bars, n = 10; and low protein group, LP; gray bars, n = 12) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein) or low protein diet (8% protein) during pregnancy and lactation. Values were expressed as mean $\pm$ SEM. (*) P <0.05 compared with the NP group (Student's unpaired t-test, except for LF/HF ratio that was expressed as median and compared using the Mann - Whitney test).

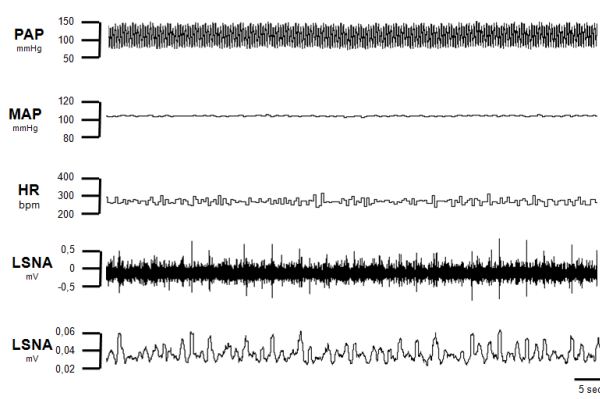
A)

Normo Protein Group

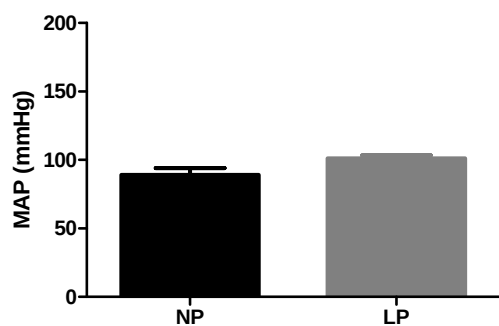


B)

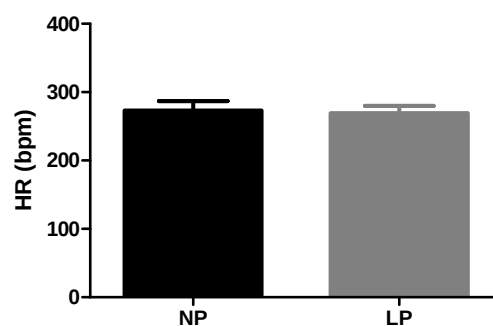
Low Protein Group



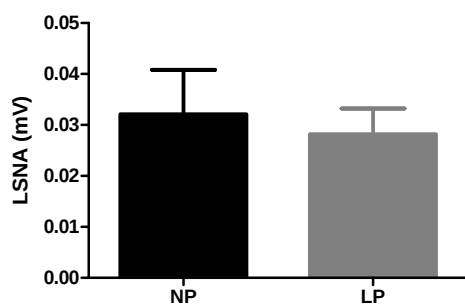
C)



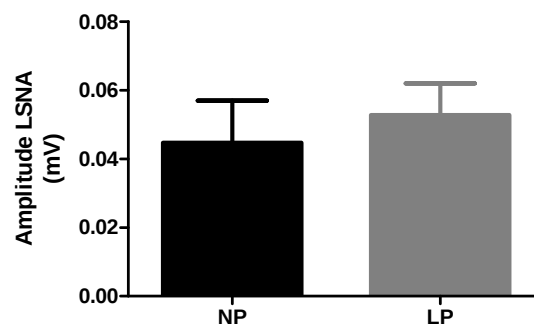
D)



E)



F)



G)

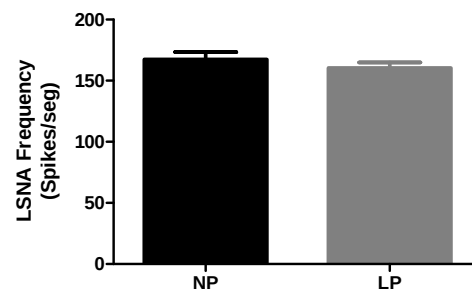
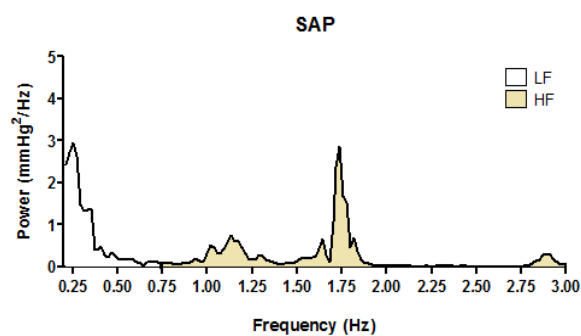


Figure 3. Hemodynamic and basal activity of the lumbar sympathetic nerve of anesthetized rats at 90-day-old parameters. Tracing representative of an animal normo protein group (panel A) and low protein (panel B) with pulsatile blood pressure tracings (PAP), mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), lumbar sympathetic nerve activity (raw signal, LSNA) and integrated LSNA (J). Values of basal PAM (panel C), basal HR (D panel), mean variation in LSNA (E panel), amplitude LSNA (F panel), and frequency of LSNA (panel G) baseline of anesthetized rats at 90-day-old (normo protein group, NP; black bars, $n = 12$; and low protein group, LP; gray bars, $n = 17$) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein) or low protein diet (8% protein) during pregnancy and lactation. Values were expressed as mean $\pm$ SEM. (*) $P < 0.05$ compared with the NP group (Student's unpaired t-test).

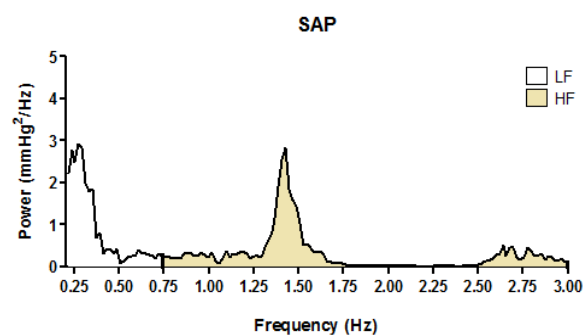
A)

Normo Protein Group

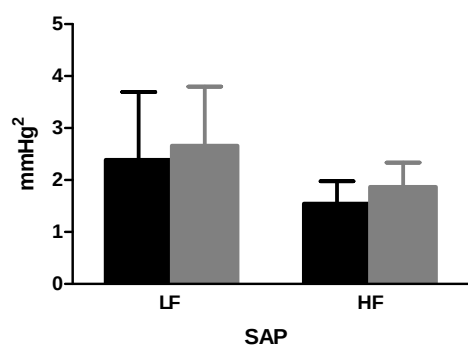


B)

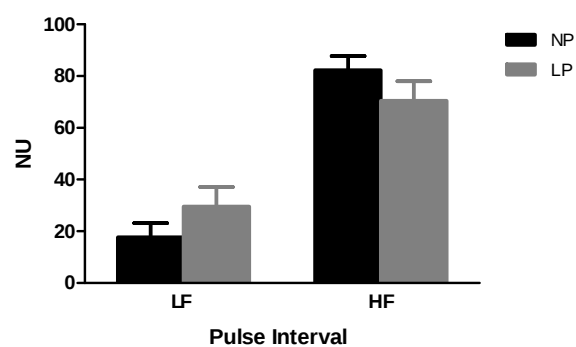
Low Protein Group



C)



D)



E)

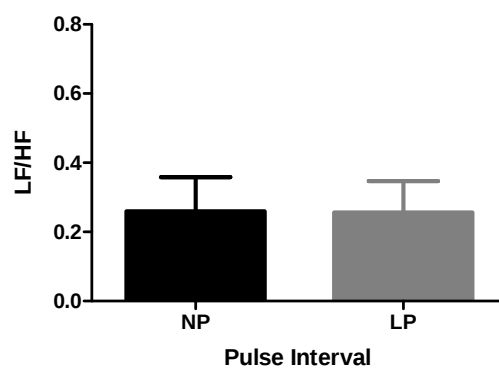
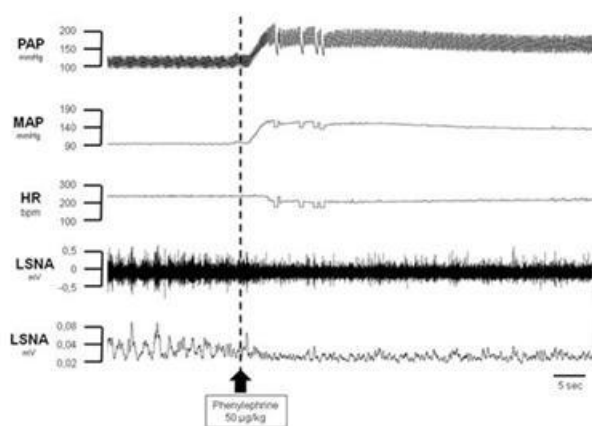


Figure 4. Heart rate variability parameters in anesthetized rats at 90-day-old.

Representative spectrum of an animal group normo protein (panel A) and low protein group (panel B). The low frequency band (LF, 0.2 - 0.75 Hz) are highlighted in white and the high frequency band (HF, 0.75 - 3.0 Hz) are highlighted in yellow. Spectral analysis of systolic pressure (panel C), the pulse interval (panel D) and LF / HF ratio (panel E) in rats 90-day-old (normo protein group, NP; black bars, n = 7; and low protein group, LP; gray bars, n = 11) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein) or low protein diet (8% protein) during pregnancy and lactation. Values were expressed as mean $\pm$ SEM.

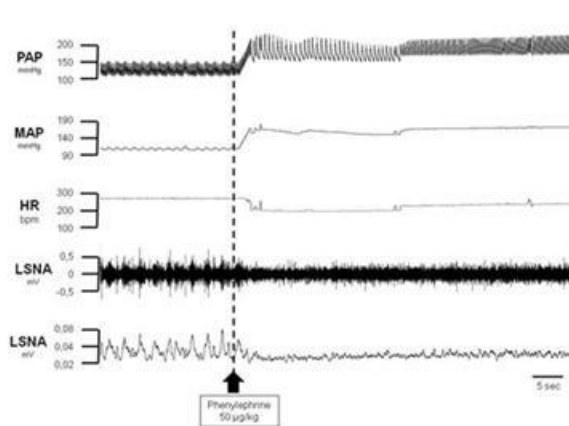
A)

Normo Protein Group

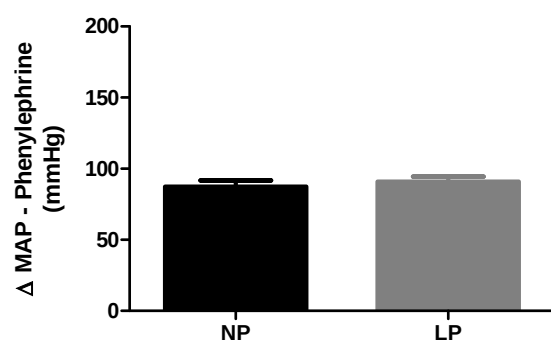


B)

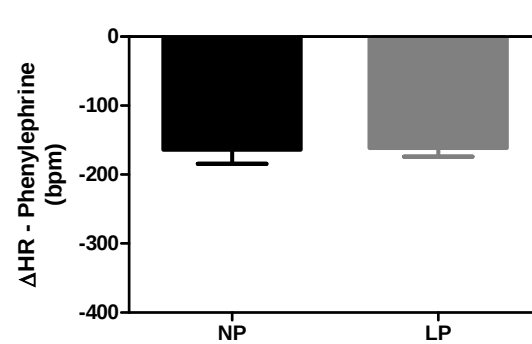
Low Protein Group



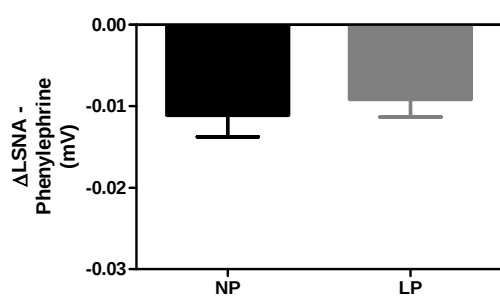
C)



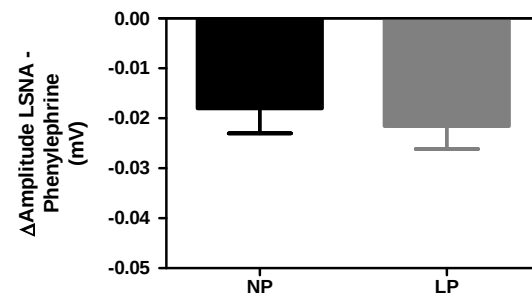
D)



E)



F)



G)

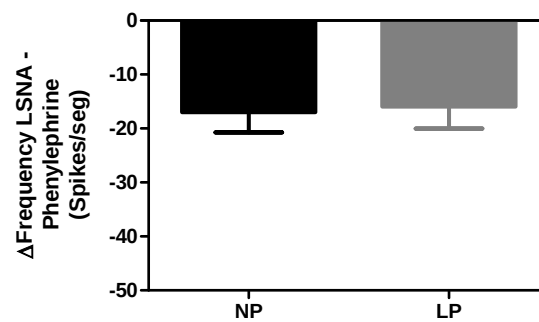
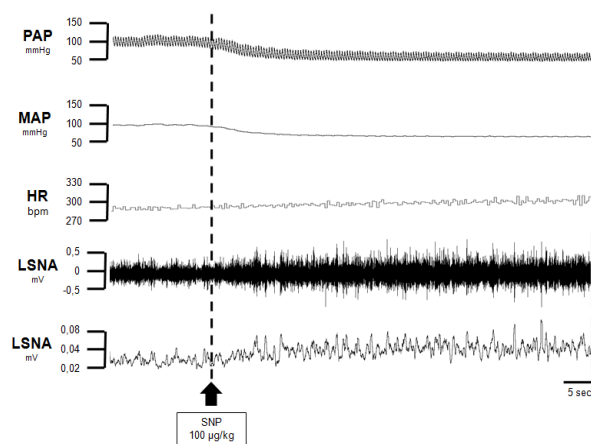


Figure 5. Hemodynamic parameters and activity of lumbar sympathetic nerve of anesthetized rats at 90-day-old submitted to baroreflex activation with phenylephrine. Tracing representative of an animal normo protein group (panel A) and low protein group (panel B) with pulsatile blood pressure tracings (PAP), mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), raw signal and integrated (I) lumbar sympathetic nerve activity (LSNA). Values of the variation in MAP (Δ PAM, panel C), in HR (Δ HR, panel D), in the average LSNA (Δ LSNA, panel E), in the amplitude LSNA (Δ LSNA amplitude, panel F), and in the frequency LSNA (Δ LSNA frequency, panel G) following bolus administration of phenylephrine (50 mg/kg, as indicated by the black arrow in panel A and B) in anesthetized rats at 90-day-old (group normo protein, NP; black bars, n = 12; and low protein group, LP; gray bars, n = 17) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein) or low protein diet (8% protein) during pregnancy and lactation. Values were expressed as mean $\pm$ SEM.

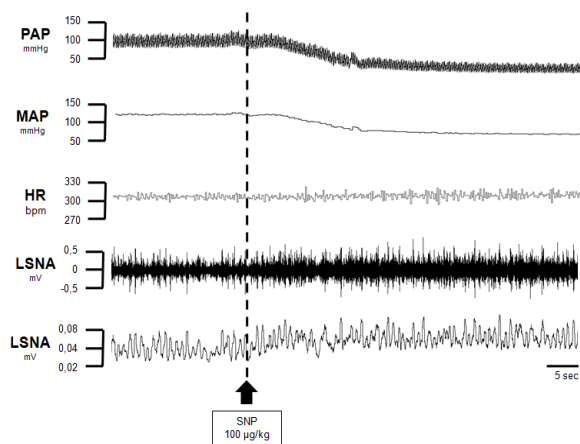
A)

B)

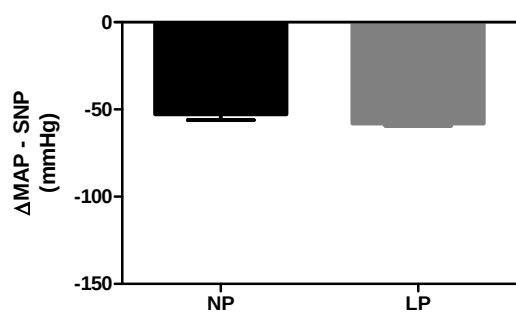
Normo Protein Group



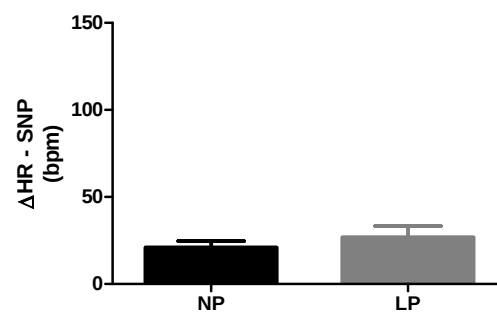
Low Protein Group



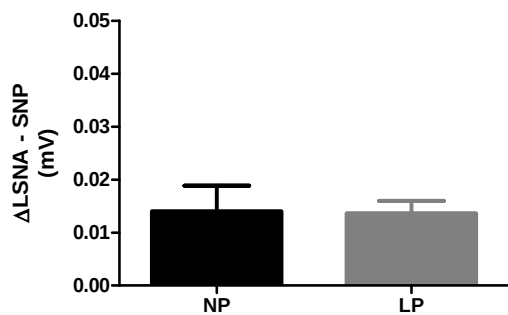
C)



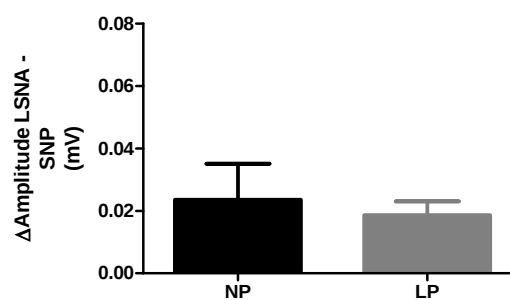
D)



E)



F)



G)

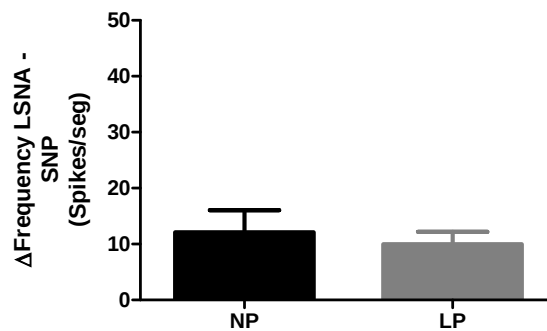
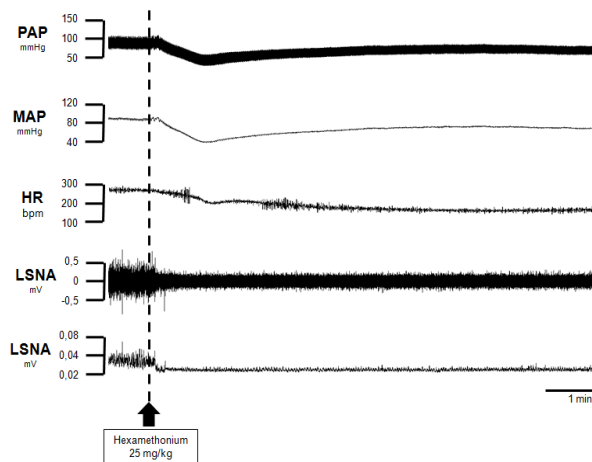


Figure 6. Hemodynamic parameters and activity of lumbar sympathetic nerve of anesthetized rats at 90-day-old submitted to inhibit baroreflex with sodium nitroprusside (SNP). Tracing representative of an animal normo protein group (panel A) and low protein group (panel B) showing of the pulsatile blood pressure (PAP), mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), raw signal and integrated (J) lumbar sympathetic nerve activity (LSNA). Values of the variation in MAP (Δ PAM, panel C), in HR (Δ HR, panel D), in the average LSNA (Δ LSNA, panel E), in the amplitude LSNA (Δ LSNA amplitude, panel F), and in the frequency LSNA (Δ LSNA frequency, panel G) following bolus administration of SNP (100 mg/kg, as indicated by the black arrow in panel A and B) in anesthetized rats at 90-day-old (group normo protein, NP; black bars, $n = 12$; and low protein group, LP; gray bars, $n = 17$) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein) or low protein diet (8% protein) during pregnancy and lactation. Values were expressed as mean $\pm$ SEM.

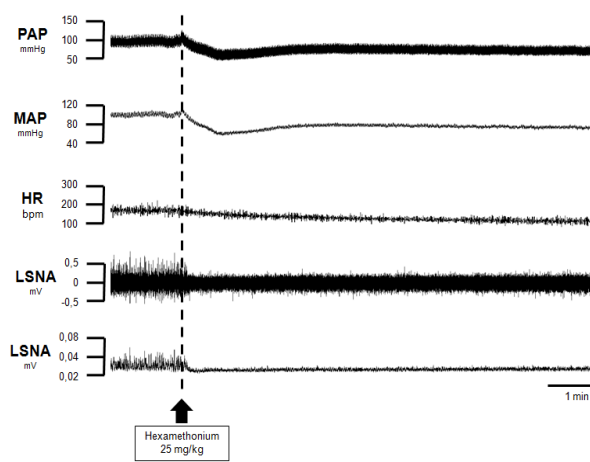
A)

B)

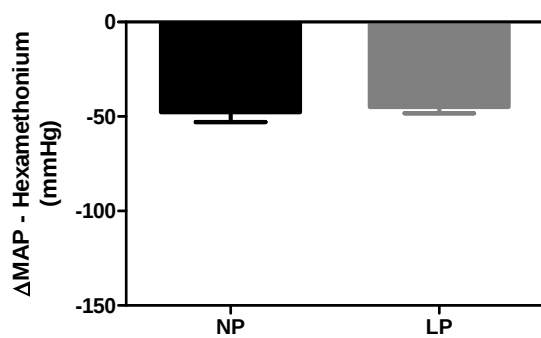
Normo Protein Group



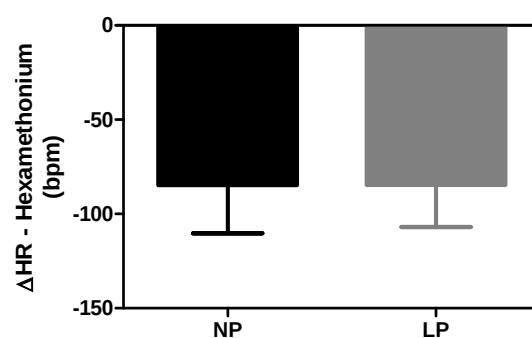
Low Protein Group



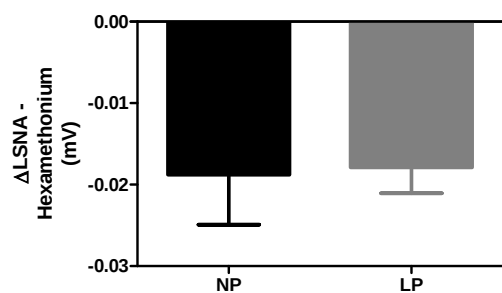
C)



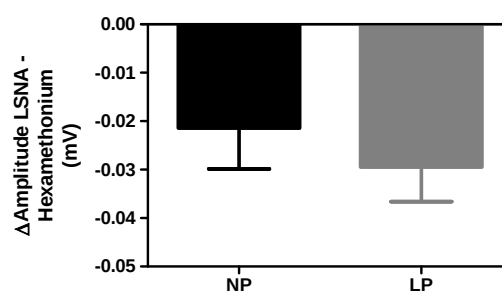
D)



E)



F)



G)

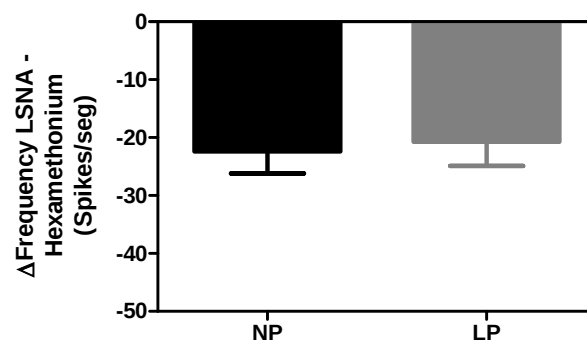


Figure 7. Hemodynamic parameters and activity of lumbar sympathetic nerve of anesthetized rats at 90-day-old submitted to ganglionic blockade with hexamethonium. Tracing representative of an animal normo protein group (panel A) and low protein group (panel B) showing the pulsatile blood pressure (PAP), mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), raw signal and integrated (I) lumbar sympathetic nerve activity (LSNA). Values of the variation in MAP (Δ PAM, panel C), in HR (Δ HR, panel D), in the average LSNA (Δ LSNA, panel E), in the amplitude LSNA (Δ LSNA amplitude, panel F), and in the frequency LSNA (Δ LSNA frequency, panel G) following bolus administration of hexamethonium (25 mg/kg, as indicated by the black arrow in panel A and B) in anesthetized rats at 90-day-old (group normo protein, NP; black bars, n = 12; and low protein group, LP; gray bars, n = 17) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein) or low protein diet (8% protein) during pregnancy and lactation. Values were expressed as mean $\pm$ SEM.

Table 1. Hemodynamic parameters baroreflex sensitivity induced rats unanesthetized with 90-day-old.

BRI	NP	LP
SNP (µg/kg)		
SNP 0,5	-3,9 ± 0,7	-4 ± 0,6
SNP 1	-2,5 ± 0,4	-2,5 ± 0,5
SNP 2,5	-3,7 ± 0,5	-2,4 ± 0,3
SNP 5	-3 ± 0,5	-2,2 ± 0,3
SNP 7,5	-2,4 ± 0,4	-2,1 ± 0,4
SNP 10	-2,4 ± 0,3	-2 ± 0,2
SNP 20	-2 ± 0,1	-1,6 ± 0,1
SNP 30	-1,6 ± 0,1	-1,6 ± 0,2
SNP 40	-2,3 ± 0,3	-1,8 ± 0,2
SNP 50	-2,1 ± 0,2	-1,9 ± 0,1
Phe (µg/kg)		
Phe 0,1	-3,7 ± 0,8	-3,1 ± 0,7
Phe 0,3	-2,5 ± 0,4	-2,4 ± 0,4
Phe 0,5	-2,5 ± 0,2	-3,1 ± 0,7
Phe 1	-2,2 ± 0,2	-3,4 ± 1
Phe 1,5	-1,8 ± 0,3	-2,6 ± 1,1
Phe 2	-2,2 ± 0,2	-2,8 ± 0,4
Phe 3	-2,3 ± 0,3	-2,7 ± 0,5
Phe 4	-2,5 ± 0,2	-3,8 ± 0,9
Phe 6	-2,6 ± 0,2	-3,2 ± 0,7
Phe 8	-2,5 ± 0,2	-3,3 ± 0,6

BRI: induced Baroreflex; NP normo protein (n = 10); LP: low protein (n = 12); SNP: Sodium nitroprusside; Phe: phenylephrine.