

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS

***Avaliação dos efeitos da desnutrição proteica perinatal sobre a
quimiorrecepção central e a função respiratória e cardiovascular de
ratos acordados***

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO – PE
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS

VIVIANE DE OLIVEIRA NOGUEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Licenciatura em
Ciências Biológicas como requisito para
incremento da Disciplina Eletiva do Curso de
Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. João Henrique da Costa Silva

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO – PE
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS

FICHA CATALOGRÁFICA

NOGUEIRA, Viviane de Oliveira

Avaliação dos efeitos da desnutrição proteica perinatal sobre a quimiorrecepção central e a função respiratória e cardiovascular de ratos acordados. Vitória de Santo Antão, PE: 2012.

24f

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco.

Orientador: Costa-Silva, João Henrique da

1. Desnutrição proteica perinatal; 2. Função Cardiovascular; 3. Função Respiratória; 4. Quimiorreceptores centrais

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO – PE

2012

VIVIANE DE OLIVEIRA NOGUEIRA

**Avaliação dos efeitos da desnutrição proteica perinatal sobre a
quimiorrecepção central e a função respiratória e
cardiovascular de ratos acordados**

APROVADO EM ____/____/____.

Orientador: Prof. Drº. João Henrique da Costa Silva

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Drº. João Henrique da Costa Silva
Universidade Federal de Pernambuco
Centro Acadêmico de Vitória

Drª Alice Valença Araújo
Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Fisiologia e Farmacologia

Profª Dijanah Cota Machado
Universidade Federal de Pernambuco
Centro Acadêmico de Vitória

Drª Ana Catarina Rezende Leite
Universidade Federal de Pernambuco

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO - PE

2012

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo amor, carinho e incentivo durante todo o desenvolvimento da pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, a Deus, que renovou minhas forças a cada manhã, capacitando-me para realizar e concluir mais essa etapa da minha vida, aquele que sempre me escuta em minhas orações diárias, aquele que me dá força e inspiração para viver. Obrigada!

Agradeço aos meus pais, Severino Lins de Nogueira Filho e Lucivane Alves de Oliveira Nogueira e ao meu irmão, Valter de Oliveira Nogueira, que mesmo pouco entendendo os meus rumos acadêmicos sempre estiveram presente a me ajudar, em especial a minha mãe por ter me ensinado as verdadeiras bases e princípios da vida, contribuindo na minha formação pessoal, acadêmica e profissional, a ela dedico todas as minhas conquistas, sei que essa é a alegria que posso proporcionar.

Ao meu orientador, professor. Dr. João Henrique da Costa Silva por quem tenho profunda admiração, pela dedicação e participação em todas as etapas deste projeto. Agradecer também, por acreditar em mim, pelo apoio, estímulo, honestidade e pelo imenso e consistente exemplo como pesquisador e orientador. Muito obrigada professor!

Ao meu amigo José Luiz de Brito Alves, pelo apoio, conselho e palavras de incentivo. Agradeço pelos momentos felizes no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia.

As colegas de laboratório, em especial Gerliny Oliveira, Monique Assis, Isabela Leão, Jéssica Maricely, Thainá, Gabriela e Jaciquely pela participação ativa em etapas deste trabalho.

Ao meu namorado, José Antônio, por todo o carinho e respeito, por ter me aturado nos momentos de estresse e por tornar minha vida cada dia mais feliz me mostrando que a felicidade se encontra em coisas simples da vida. :D

A todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA	03
FOLHA DE APROVAÇÃO	04
DEDITÓRIA	05
AGRADECIMENTOS	06
INTRODUÇÃO GERAL	07
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	08
RESUMO	10
INTRODUÇÃO	12
OBJETIVOS	13
OBJETIVO GERAL	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
METODOLOGIA	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
CONCLUSÃO	22
AGRADECIMENTOS	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

I)INTRODUÇÃO GERAL

Estudos epidemiológicos indicam que há uma relação inversa entre o baixo peso ao nascer e o desenvolvimento de doenças na vida adulta, como exemplo, a hipertensão arterial (BARKER, 1988; HOVI e cols. 2010; MARTYN, 1994). Conforme os estudos de Barker (1999), a privação de nutrientes durante períodos críticos de desenvolvimento fetal, como a gestação e a lactação (período perinatal), pode levar ao desenvolvimento de doenças na vida adulta, como a hipertensão arterial. Estudos em ratos têm demonstrado que o consumo de uma dieta deficiente em proteína (6-9%) durante o período pré-natal ou pós-natal (período perinatal) (PENITENTE e cols., 2007; COSTA-SILVA e cols., 2009) induz alterações nas funções cardiovasculares da prole e problemas na capacidade respiratória (DIAS e cols., 2009), levando a hipertensão arterial na vida adulta.

Sabe-se que a etiologia da hipertensão arterial é multifatorial e envolve fatores genéticos e ambientais que podem favorecer o seu desenvolvimento. Entre estes fatores, a hiperativação do sistema nervoso simpático tem sido apontada como uma das principais causas desta hipertensão (JOHANSSON e cols., 2007). Recentemente tem sido proposto que alterações na neurotransmissão em neurônios localizados na superfície ventral do bulbo, onde se localiza a região rostral ventrolateral do bulbo (RVLM) pode desencadear a hiperativação do sistema nervoso simpático, levando a hipertensão arterial (ZOCCAL e cols., 2008; COSTA-SILVA, 2010). Esta região do tronco cerebral é considerada primordial para o controle reflexo e para a geração da atividade simpática e respiratória, pois está diretamente envolvida no processamento dos sinais provenientes dos quimiorreceptores centrais (MIFFLIN, 1992; SIMMS et al., 2009; KLINE, 2010;). Além disso, tem sido proposto que o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio em regiões do tronco cerebral contribui para o desenvolvimento da hipertensão arterial em alguns modelos de hipertensão (BRAGA, 2009; OLIVEIRA-SALES e cols., 2010). Assim, considerando as fortes evidências existentes na literatura, mostrando que a desnutrição proteica durante o período perinatal leva a hipertensão arterial na idade adulta, o presente projeto teve como objetivo estudar mais a fundo os mecanismos responsáveis pela quimiorrecepção central, que possivelmente estão envolvidos na geração da hipertensão arterial. Nossa hipótese foi, portanto, de que a restrição proteica perinatal afeta os mecanismos responsáveis pela quimiorrecepção central, favorecendo o desenvolvimento da hipertensão arterial.

IX) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barker DJ, Osmond C. Low birth weight and hypertension. *BMJ* 297: 134–135, 1988
- Barker DJ. Early growth and cardiovascular disease. *Archives of disease in childhood* 80: 305-307. 1999.
- Braga VA. Dietary salt enhances angiotensin-II-induced superoxide formation in the rostral ventrolateral medulla. *Auton Neurosci* 155: 14-8, 2009.
- Costa-Silva J.H.. Mecanismos bulbo-pontinos envolvidos no acoplamento simpático e respiratório em situações de normóxia e hipóxia em ratos. (Doutorado em Fisiologia) – Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.
- Costa-Silva J.H., Silva P.A., Pedi N., Luzardo R., Einicker-Lamas M., Lara L.S., Bezerra A.M., Castro-Chaves C., Vieyra A. Chronic undernutrition alters renal active Na⁺ transport in young rats: potential hidden basis for pathophysiological alterations in adulthood? *Eur J Nutr* 48: 437-45, 2009.
- Dias C.M., Pássaro C.P., Antunes M.A., Cagido V.R., Einicker-Lamas M., Lowe J., Negri E.M., Damaceno-Rodrigues N.R., Soncini R., Capelozzi V.L., Zin W.A., Rocco P.R. Effects of different nutritional support on lung mechanics and remodelling in undernourished rats. *Respir Physiol Neurobiol* 160: 54-64, 2008.
- Hovi P, Andersson S, Raikkonen K, Strang-Karlsson S, Jarvenpaa AL, Eriksson JG, Pesonen AK, Heinonen K, Pyhala R, Kajantie E. Ambulatory blood pressure in young adults with very low birth weight. *J Pediatr* 156: 54.e1–59.e1, 2010.
- Johansson S., Norman M., Legnevall L., Dalmaz Y., Lagercrantz H., Vanpée M. Increased catecholamines and heart rate in children with low birth weight: perinatal contributions to sympathoadrenal overactivity. *J Intern Med* 261: 480-7, 2007.
- Kline DD. Chronic intermittent hypoxia affects integration of sensory input by neurons in the nucleus tractus solitarius. *Respir Physiol Neurobiol* (in press), 2010.
- Mifflin SW. Arterial chemoreceptor input to nucleus tractus solitarius. *Am J Physiol* 263: 368-375, 1992.
- Oliveira-Sales EB, Colombari DS, Davisson RL, Kasparov S, Hirata AE, Campos RR, Paton JF. Kidney-induced hypertension depends on superoxide signaling in the rostral ventrolateral medulla. *Hypertension* 56: 290-6, 2010.

- Penitente AR, Fernandes LG, Cardoso LM, Silva ME, Pedrosa ML, Silva AL, Haibara AS, Moraes MF, Chianca DA. Malnutrition enhances cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats. *Life Sci* 81: 609-14, 2007.
- Martyn CN, Barker DJ. Reduced fetal growth increases risk of cardiovascular disease. *Health Rep* 6: 45–53, 1994
- Zoccal DB, Simms AE, Bonagamba LG, Braga VA, Pickering AE, Paton JF, Machado BH. Increased sympathetic outflow in juvenile rats submitted to chronic intermittent hypoxia correlates with enhanced expiratory activity. *J Physiol* 586: 3253-65, 2008.

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO PROTEICA PERINATAL SOBRE A QUIMIORRECEPÇÃO CENTRAL E A FUNÇÃO RESPIRATÓRIA E CARDIOVASCULAR DE RATOS ACORDADOS

Viviane de Oliveira Nogueira¹, João Henrique da Costa Silva²

¹ Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas, Centro Acadêmico de Vitória, CEP: 55606-680, Universidade Federal de Pernambuco., ² Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Centro Acadêmico de Vitória, CEP: 55606-680 Universidade Federal de Pernambuco.

Correspondência do autor:

João Henrique da Costa Silva

**Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, Centro Acadêmico de Vitória,
Universidade Federal de Pernambuco**

Rua Alto do Reservatório, s/n, Bela Vista, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil.

CEP: 55608-680

Fone/Fax: 3523-3351

e-mail: joao.hcsilva@ufpe.br

Short title: Desnutrição proteica e quimiorreflexo

Short title: Protein malnutrition and chemoreflex

Resumo: A desnutrição proteica durante a gestação e lactação (período perinatal) pode induzir alterações cardiorrespiratórias, levando ao desenvolvimento da hipertensão arterial. Entretanto, pouco se sabe a respeito dos efeitos da desnutrição sobre a quimiossensibilidade central. Assim, avaliamos os efeitos da desnutrição proteica perinatal sobre os ajustes cardiorrespiratórios induzidos por ativação dos quimiorreceptores. Foram utilizados ratos machos Wistar de mães que receberam dieta normoprotéica (NP-17% de proteína) ou dieta hipoprotéica (HP-8% de proteína) no período perinatal. Após desmame a prole recebeu dieta normoprotéica e aos 30, 90 e 150 dias de vida, os animais foram anestesiados com Xilazina e Ketamina e foi inserido um cateter na artéria femoral para registro da pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca. Aos 30, 60, 90 e 150 dias de vida os animais foram avaliados quanto à frequência respiratória (FR), o volume corrente (VT) e a ventilação (VE) antes

e as a ativação dos quimiorreceptores centrais (mistura gasosa com 7% de CO₂). Foi observado que aos 30, 60 e 90 dias, os animais HP apresentaram aumento na FR e na VE, porém nenhuma alteração foi percebida aos 150 dias. Com relação às alterações de FR e VE à estimulação dos quimiorreceptores centrais, foi observada um aumento entre os grupos aos 30 e 60 dias. Quanto a PAM, aos 90 e 150 dias os ratos HP apresentaram um aumento. Desta forma, podemos concluir que ratos provenientes de mães submetidas à desnutrição proteica perinatal apresentam aumento no ritmo respiratório basal e na quimiossensibilidade central aos 30, 60 e 90 dias. Provavelmente, estes efeitos contribuem para elevação dos níveis de PAM aos 90 e 150 dias.

Palavras-chave: Desnutrição proteica perinatal; respiração e quimiorreceptores centrais

Abstract: The protein malnutrition during gestation and lactation (perinatal period) may induce cardiorespiratory changes, leading to the development of hypertension. However, little is known about the effects of malnutrition on the central chemosensitivity. We evaluated the effects of perinatal protein malnutrition on the cardiorespiratory adjustments induced by activation of chemoreceptors. We used male Wistar rats whose mothers were fed a normal protein (NP-17% protein) or low protein diet (HP-8% protein) in the perinatal period. After weaning the offspring received normal diet and at 30, 90 and 150 days, the animals were anesthetized with ketamine and xylazine and catheter inserted into the femoral artery to record mean arterial pressure (MAP) and heart rate. At 30, 60, 90 and 150 days of life were assessed respiratory rate (RR), tidal volume (VT) and ventilation (VE) before and after activation of central chemoreceptors (gas mixture containing 7% CO₂). It was observed that at 30, 60 and 90 days, the animals showed an increase in HP FR and LV, but no change was seen at 150 days. Regarding the changes in FR and LV stimulation of central chemoreceptors difference was observed between groups at 30 and 60 days. The MAP at 90 and 150 days, the rats showed an increase in HP. Thus, we conclude that rats from mothers submitted to protein malnutrition have increased perinatal respiratory rhythm in the basal and central chemosensitivity to 30, 60 and 90 days. Probably, these effects contribute to higher levels of MAP at 90 and 150 days.

Keywords: Perinatal protein malnutrition, breathing and central chemoreceptors

I) INTRODUÇÃO

Doenças cardiovasculares são causas frequentes de morbimortalidade na população humana (1). Em décadas passadas pesquisas científicas mostraram avanços no diagnóstico e na terapia de doenças cardiovasculares, contudo é necessário compreender os mecanismos patofisiológicos das doenças cardiovasculares e buscar uma saída (1). Segundo a Organização Mundial da Saúde, aproximadamente 30 milhões de crianças nascem anualmente com baixo peso (menos de 2,5 kg), principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil. O baixo peso ao nascer tem sido apontado como um fator de risco para o desenvolvimento de doenças na vida adulta, entre elas doenças cardiovasculares, como a hipertensão arterial (2-5). Estudos de (6, 7) demonstram que um insulto nutricional durante os períodos críticos de desenvolvimento fetal, como a gestação e lactação (período perinatal) compromete não só a saúde materna, mas também o desenvolvimento fetal. Há vários anos pesquisadores tem evidenciado que a exposição precoce no início da vida a insuficiência nutricional pode ter efeitos em longo prazo e uma maior predisposição a doenças na vida adulta (2). Segundo (8), a deficiência nutricional durante a gestação promove mudanças no ambiente fetal, que podem desencadear alterações genéticas e na maturação e no desenvolvimento dos órgãos e sistemas fetais, levando a deficiências funcionais e a programação de doenças cardiovasculares, como a hipertensão arterial na vida adulta destes indivíduos (3, 4, 8, 9)

Para estudar os efeitos da deficiência nutricional, modelos animais como ratos são comumente empregados. Através destes modelos animais, estudos têm demonstrado que o consumo de uma dieta deficiente em proteínas (6-9% m/m) durante o período pré-natal (10, 11) ou durante o período pós-natal (1, 12, 13) induz alterações nas funções cardiovasculares na prole, levando a hipertensão arterial na idade adulta. Sabe-se que a etiologia da hipertensão arterial é multifatorial, dentre os fatores a hiperativação do sistema nervoso simpático tem sido apontada como uma das principais causas. Além disso, estudos recentes têm apontado que alterações na neurotransmissão em neurônios localizados na superfície dorsal e ventral do bulbo podem desencadear a hiperativação do sistema nervoso simpático, levando a hipertensão (14, 15). Essa região bulbar está diretamente relacionada com o controle da atividade cardiovascular e respiratória. Propõe-se que modificações nessa região contribuem para uma hiperativação do sistema nervoso simpático podendo levar a hipertensão arterial. Também foi relatado que animais desnutridos apresentam

alterações no mecanismo de controle da função respiratória, apresentando redução de aproximadamente 40% na capacidade respiratória (16), sugerindo que os mecanismos de controle da função respiratória nestes animais podem estar alterados. Em relação aos mecanismos centrais, algumas áreas do tronco cerebral, como o núcleo do trato solitário (NTS) e a região rostral ventro-lateral do bulbo (RVLM) têm sido apontada como principais áreas no controle da atividade simpática e respiratória, pois estão diretamente envolvidas na recepção dos sinais provenientes dos quimiorreceptores centrais (17-19). Apesar de alguns estudos relatarem que um aporte insuficiente de proteína em períodos críticos de desenvolvimento fetal (período perinatal) são associado com a maior chance de desenvolver hipertensão arterial e alterações ventilatórias, pouco se sabe a respeito dos mecanismos centrais que estão envolvidos com essas doenças nestes indivíduos.

Assim, considerando as fortes evidências existentes na literatura, mostrando que a desnutrição proteica durante o período perinatal leva a hipertensão arterial na idade adulta, o projeto teve como um de seus objetivos, avaliar os efeitos da desnutrição proteica no período perinatal sobre os mecanismos responsáveis pela quimiorrecepção central e a função cardiovascular e respiratória, e assim, melhor compreender os mecanismos centrais envolvidos na geração dos distúrbios cardiovasculares e respiratórios apresentados por estes indivíduos.

II) OBJETIVOS

Objetivo geral

Caracterizar os efeitos da desnutrição proteica durante o período perinatal (gestação e lactação) sobre a quimiorrecepção central e a função cardiovascular e respiratória.

Objetivos específicos

Em animais submetidos à desnutrição perinatal:

- 1- Examinar as funções cardiovasculares e respiratórias basais;
- 2- Avaliar a sensibilidade dos quimiorreceptores centrais, bem como as respostas ventilatórias decorrentes de sua ativação;

III) METODOLOGIA

Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos provenientes do biotério do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram

mantidos adequadamente com controle de temperatura ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) e umidade, sendo mantidos em ciclo claro-escuro de 12h.

Os protocolos e procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas – UFPE (Protocolo: 23076044454/2010-94).

Dietas

Para manipulação nutricional foram utilizadas duas dietas, as mesmas eram confeccionadas no Centro Acadêmico de Vitória de acordo com o American Institute of Nutrition (AIN 76 e AIN 93). As dietas foram nomeadas de acordo com o teor de proteína: dieta controle ou normoprotéica contendo 17 % de caseína e a dieta experimental ou hipoprotéica contendo 8 % de caseína. Ambas as dietas confeccionadas são isocalóricas com alteração apenas no conteúdo de proteína de acordo com o protocolo de (20) (**Tabela 1**). Os ingredientes para produção das dietas foram fornecidos pela Rhoster Indústria e Comércio Ltda. (Araçoiaba da Serra- SP, Brasil).

Tabela 1 – Composição da dieta hipoprotéica (8% de caseína) e normoprotéica (17% de caseína)

Ingredientes	Quantidade em g/ 100g de Ração 8% de proteína	Quantidade em g/ 100g de Ração 17% de proteína
Caseína (85 %)* (g)	9,41	20
Amido dextrinizado (g)	13,2	13,2
Celulose (g)	5	5
Sacarose (g)	10	10
Amido (g)	50,34	39,74
Óleo de soja (g) [#]	70	70
Colina (g)	0,25	0,25
Metionina (g)	0,3	0,3
Mixa vitamínico (g)	1	1
Mix mineral (g)	3,5	3,5
Valor calórico total (Kg/g)	3,89 Kcal	3,89 Kcal

AIN-93 (20)

* A caseína utilizada na elaboração das dietas foi previamente analisada pelo método de Kjeldahl, apresentando um teor de 85% de proteína. # O volume do óleo em mL foi obtido pela fórmula: $d=m/v$, onde $d=0,921$.

Indução da desnutrição proteica durante o período perinatal (gestação e lactação)

Ratas virgens foram acasaladas com ratos machos na proporção de 1:1. A partir do primeiro dia de prenhes, detectado através de esfregaço vaginal, as ratas foram alocadas randomicamente em dois grupos:

- grupo normoproteico (NP, grupo controle): recebeu dieta contendo 17 % de caseína durante todo o período de gestação (21 dias) e de lactação (21 dias) e;
- grupo hipoproteico (HP, grupo experimental): recebeu dieta contendo 8 % de caseína durante todo o período de gestação (aproximadamente 21 dias) e de lactação (21 dias).

A prole proveniente destas fêmeas foi reduzida a 8 filhotes machos por ninhada. Após o desmame (a partir do 21º dia de vida) todos os filhotes receberam a dieta padrão para animais de laboratório (Labina, Purina Agribands, São Paulo). Os estudos funcionais foram realizados com estes filhotes aos 30, 60, 90 e 150 dias de vida.

Medidas da ventilação pulmonar

Aos 30, 60, 90 e 150 dias de vida foram realizadas medidas de ventilação pulmonar obtidas por pletismografia de corpo inteiro, em um sistema fechado (21), no qual os animais eram mantidos em um período de aclimação (30 min) em normóxia (21% de O_2) e em seguida eram realizadas as medidas de ventilação pulmonar. Durante a realização de cada medida de ventilação, o fluxo de ar era interrompido e a câmara do animal permanecia totalmente vedada por curtos períodos de tempo (~3min). As oscilações de pressão causadas pela respiração do animal eram captadas por um o transdutor diferencial de pressão, o sinal é amplificado e registrado pelo sistema de aquisição e análise dos dados (PowerLab, ADInstruments, Austrália). A partir desta manipulação foram obtidas três variáveis respiratórias: Frequência Respiratória (FR), Ventilação (VE) e o Volume Corrente (VT), o último calculado através da fórmula:

$$VT=PT/PK \times VK \times TA/T_{amb} \times (PB-PA)/(PB-TA/TC (PB-PC),$$

onde VK: volume de ar injetado na câmara do animal para calibração; PT: deflexão de pressão associada com cada volume de ar corrente; PK: deflexão de pressão associada com cada volume de ar injetado para calibração, TC: temperatura

corporal; T: temperatura ambiente; TA: temperatura do ar dentro da câmara; PB: pressão barométrica; PC: pressão de vapor d'água à temperatura corporal; PA: pressão de vapor d'água à temperatura da câmara. A ventilação pulmonar (VE) foi calculada pelo produto de FR pelo VT. A calibração do volume de ar era obtida durante cada experimento, injetando-se um conhecido volume de ar (1mL) dentro da câmara do animal com o uso de uma seringa graduada.

Ativação dos quimiorreceptores centrais

Para avaliação da resposta ventilatória à ativação dos quimiorreceptores centrais, os animais foram mantidos na câmara pletismográfica e, em seguida, submetidos à hipercapnia por 5 minutos para ativação dos quimiorreceptores centrais. A hipercapnia foi induzida através da infusão de uma mistura gasosa contendo alto teor de CO₂ (7% de CO₂) dentro da câmara pletismográfica e as respostas respiratórias e autonômicas eram continuamente registradas. Após os 5 minutos de hipercapnia, a câmara pletismográfica era ventilada novamente com ar atmosférico (21% de O₂).

Procedimento cirúrgico e registro da pressão arterial

Aos 30, 90 e 150 dias de vida foram avaliados os parâmetros cardiovasculares, para isso um dia antes do estudo, os animais foram anestesiados com Xilazina (10 mg/kg ip) e Ketamina (80 mg/kg ip) e inseridos cateteres de polietileno na artéria e veia femoral, para registro da pressão arterial e infusão de drogas, respectivamente. O registro da pressão arterial média e da frequência cardíaca foram realizado em animais não anestesiados, por meio da conexão da cânula da arterial femoral com o transdutor mecânico de pressão (ML866/P, ADInstruments, Power Lab, Bella Vista, NSW, Australia), cujo sinal é devidamente amplificado, digitalizado para o computador, utilizando um software apropriado (ChartTM Pro, ADInstruments, Bella Vista, NSW, Austrália) para posterior análise.

Análise dos dados

Os resultados são expressos como média $\pm$ DP (desvio padrão da média). A análise estatística foi realizada através do teste "t" de Student não pareado. O nível de significância é considerado quando $p < 0,05$.

IV) RESULTADOS E DISCUSSÃO

- **Efeitos da desnutrição proteica perinatal sobre a função respiratória basal**

Além de estudos relatarem que a desnutrição proteica no período perinatal induz alterações na função cardiovascular da prole, levando a hipertensão arterial na vida adulta, também tem sido relatado que a desnutrição proteica pode levar a alterações ventilatórias, podendo desenvolver uma redução de aproximadamente 40% na capacidade respiratória (16), sugerindo que os mecanismos de controle da função respiratória nestes animais podem ser alterados.

A partir da análise da função respiratória basal obtiveram-se os valores de Frequência Respiratória (FR), Volume Corrente (VT) e Ventilação (VE) aos 30, 60, 90 e 150 dias de vida. Ao fazer as análises ventilatórias foi observado que os animais que receberam a dieta hipoproteica apresentam um aumento na FR (**Figura 1-A**) aos 30, 60 e 90 dias. Com relação ao VE (**Figura 1-C**) foi observado um aumento no parâmetro ventilatório apenas no estado de vida inicial, aos 30 e 60 dias de vida, e não foi encontrada nenhuma diferença entre os grupos aos 90 e 150 dias de vida. Com relação ao VT (**Figura 1-B**) não foi observado qualquer alteração. Esses dados sugerem que a desnutrição proteica perinatal pode desenvolver alterações nos mecanismos de controle da função respiratória no estado basal desde o início da vida (aos 30 dias de vida) e essas alterações podem perpetuar ao longo da vida. Quanto aos parâmetros ventilatórios aos 150 dias de vida não foi observado alterações. Assim, acreditamos que isso ocorreu devido o pequeno número de animais para está idade ou então, a desnutrição proteica perinatal leva a alterações ventilatórias até a fase adulta inicial.

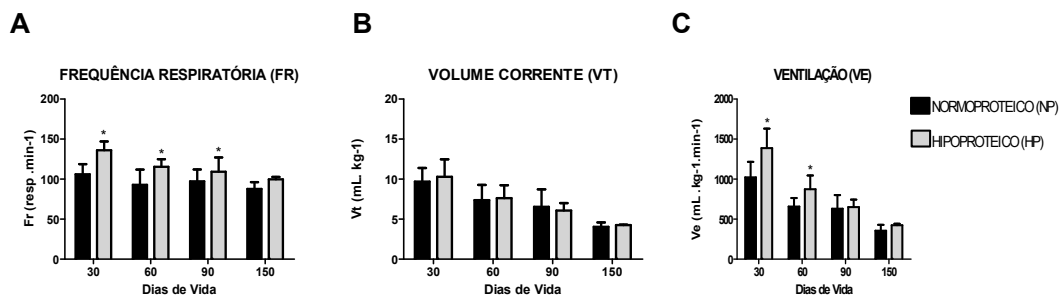


Figura 1. Avaliação da frequência respiratória (FR, painel A), volume corrente (VT, painel B) e ventilação (VE, painel C) aos 30 (NP-17 e HP=20), 60 (NP-14 e HP-22) e 90 (NP-14 e HP-22) e 150 dias de vida (NP- 4 e HP-2) de ratos machos provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP, barra preta) ou hipoproteica (HP, barra cinza). Os valores foram expressos em médias $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo NP (teste t-Student não pareado).

- **Efeitos da desnutrição proteica perinatal sobre a sensibilidade dos quimiorreceptores centrais, bem como as respostas ventilatórias decorrentes de sua ativação**

Apesar de alguns estudos relatarem que a desnutrição proteica no período perinatal está associada com a maior chance de desenvolver hipertensão arterial e alterações ventilatórias, pouco se sabe a respeito da quimiossensibilidade central destes animais. Assim foi avaliada a função respiratória após a ativação dos quimiorreceptores centrais aos 30, 60, 90 e 150 dias de vida da prole.

Com relação aos resultados a partir da ativação dos quimiorreceptores centrais aos 30 dias de vida, nota-se que houve um aumento nos parâmetros ventilatórios, ou seja, a hipercapnia promoveu um aumento na FR, VT e VE (**Figura 2**). Entretanto a resposta da FR e VE do grupo que recebeu a dieta hipoproteica foi maior, mostrando que aos 30 dias de vida os animais do grupo hipoproteico apresentam uma maior sensibilidade quando comparados com os animais do grupo normoproteico (**Figura 2-A e C**). Com relação à resposta do VT (**Figura 2-B**) não foram observadas alterações entre os grupos para essa idade.

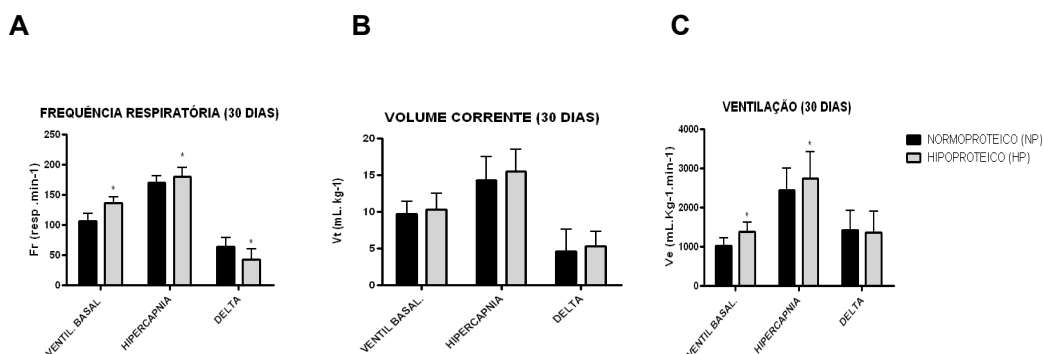


Figura 2. Avaliação da frequência respiratória (FR, painel A), volume corrente (VT, painel B) e ventilação (VE, painel C) após ativação dos quimiorreceptores centrais aos 30 dias de vida de ratos machos provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP, barra preta; n=5-8) ou hipoproteica (HP, barra cinza; n=3-5). Os valores foram expressos em médias $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo NP (teste t-Student não pareado).

Aos 60 dias de vida (**Figura 3**) também foi observado um aumento nos parâmetros ventilatórios, nota-se que a hipercapnia promoveu um aumento significativo na FR e na VE nesta idade, sugerindo que os animais do grupo hipoproteico apresentam maior sensibilidade ao CO₂. A resposta do VT para esta idade não foi observado diferença entre os grupos.

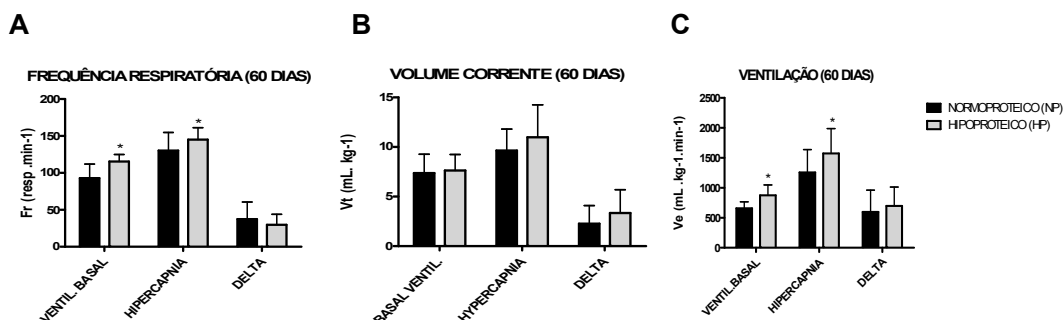


Figura 3. Avaliação da frequência respiratória (FR, painel A), volume corrente (VT, painel B) e ventilação (VE, painel C) após ativação dos quimiorreceptores centrais aos 60 (NP=18 e HP=20) dias de vida de ratos machos provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP, barra preta; n=5-8) ou hipoproteica (HP, barra cinza; n=3-5). Os valores foram expressos em médias $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo NP (teste t-Student não pareado).

Em relação à função ventilatória após ativação dos quimiorreceptores centrais aos 90 e 150 dias de vida foi observado um aumento da resposta ventilatória a hipercapnia, mas não houve alteração entre os grupos com relação à FR, VT e VE (**Figura 4 e 5**).

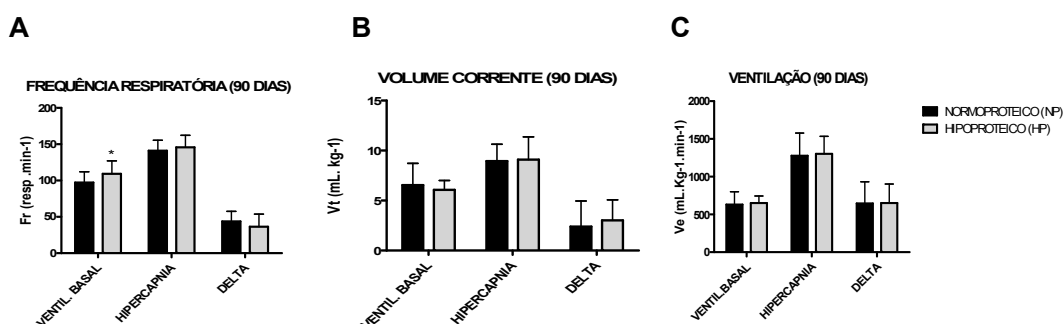


Figura 4. Avaliação da frequência respiratória (FR, painel A), volume corrente (VT, painel B) e ventilação (VE, painel C) após ativação dos quimiorreceptores centrais aos 90 (NP=18 e HP=20) dias de vida de ratos machos provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP, barra preta; n=5-8) ou hipoproteica (HP, barra

cinza; n=3-5). Os valores foram expressos em médias $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo NP (teste t-Student não pareado).

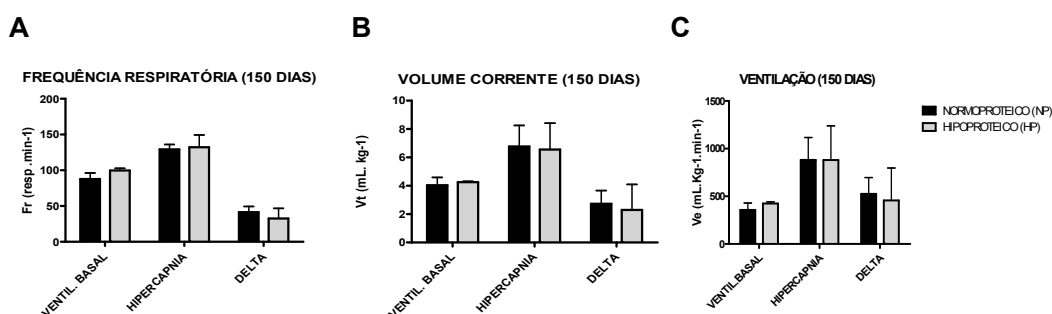


Figura 5. Avaliação da frequência respiratória (FR, painel A), volume corrente (VT, painel B) e ventilação (VE, painel C) após ativação dos quimiorreceptores centrais aos 150 (NP=18 e HP=20) dias de vida de ratos machos provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP, barra preta; n=5-8) ou hipoproteica (HP, barra cinza; n=3-5). Os valores foram expressos em médias $\pm$ DP. (*) $p < 0,05$ quando comparado ao grupo NP (teste t-Student não pareado).

Esses dados sugerem que ratos submetidos à desnutrição proteica durante a gestação e lactação apresentam maior sensibilidade ao CO₂ aos 30 e 60 dias de vida, provavelmente a desnutrição proteica altera os mecanismos centrais envolvidos com a função respiratória.

• Efeitos da desnutrição proteica perinatal sobre as funções cardiovasculares da prole

Severos estudos reportam que o consumo de uma dieta deficiente em proteína (6-9% m/n) em períodos críticos de desenvolvimento fetal, como na gestação e lactação (período perinatal) pode induzir a uma série de mudanças metabólicas, fisiológicas e parâmetros estruturais conduzindo a aumento de pressão sanguínea e a alterações nas funções cardiovasculares, levando a hipertensão arterial na vida adulta (22) Em nosso estudo, aos 30, 90 e 150 dias de vida foi verificada a pressão arterial média - PAM (**Figura 6**) e a frequência cardíaca - FC (**Figura 7**). Observa-se que o grupo que recebeu a dieta hipoproteica apresenta níveis de PAM maiores a partir dos 90 dias. Quanto a FR não se observou qualquer diferença entre os grupos para as três idades. Os valores encontrados não indicam que o grupo HP apresente hipertensão arterial, mas sim níveis maiores de pressão arterial para esta idade e sugerem também que a

desnutrição proteica perinatal não leva a alterações na frequência cardíaca, mas sim apenas da pressão arterial média.

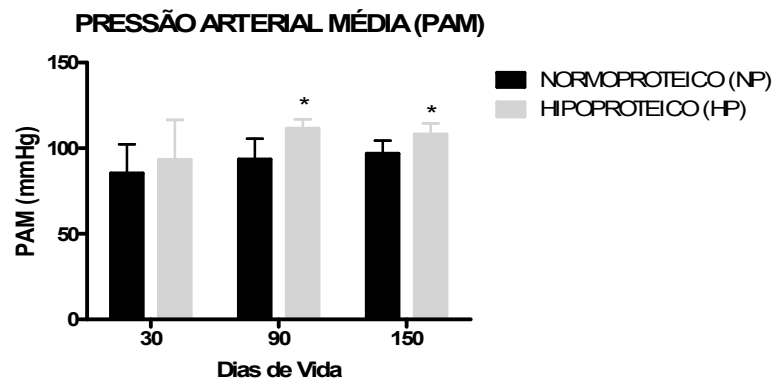


Figura 6. Pressão Arterial Média (PAM) da prole de ratos expostos à dieta normopotética ou dieta hipoproteica durante o período perinatal. * Apresenta diferença significativa (Teste t-Sdudent não pareado, $p < 0,05$).

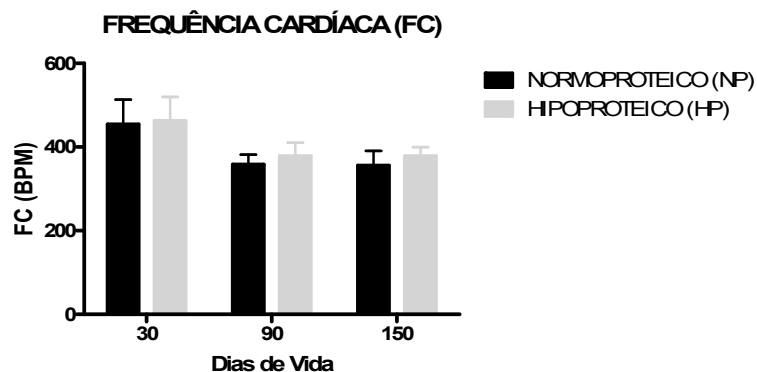


Figura 7. Frequência Cardíaca (FC) da prole de ratos expostos à dieta normopoteica (NP) ou dieta hipoproteica (HP) durante o período perinatal.

V) CONCLUSÃO

As proles de ratos provenientes de mães submetidas à desnutrição proteica durante o período perinatal apresentam um aumento no ritmo respiratório basal e na quimiossensibilidade central aos 30, 60 e 90 dias de vida. Provavelmente, estes efeitos contribuem para elevação dos níveis de pressão arterial média aos 90 e 150 dias de vida por mecanismos que envolvam possíveis alterações no controle da função respiratória.

VI) AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE 1365-2.07/10) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 484452/2011-8) pelo apoio financeiro no presente estudo.

VII) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Penitente AR, Fernandes LG, Cardoso LM, Silva ME, Pedrosa ML, Silva AL, et al. Malnutrition enhances cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats. *Life sciences*. 2007;81(7):609-14. Epub 2007/08/11.
2. Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*. 1986;1(8489):1077-81. Epub 1986/05/10.
3. Barker DJ. Early growth and cardiovascular disease. *Archives of disease in childhood*. 1999;80(4):305-7. Epub 1999/03/23.
4. Eriksson JG, Forsen TJ, Kajantie E, Osmond C, Barker DJ. Childhood growth and hypertension in later life. *Hypertension*. 2007;49(6):1415-21. Epub 2007/04/25.
5. Sawaya AL, Dallal G, Solymos G, de Sousa MH, Ventura ML, Roberts SB, et al. Obesity and malnutrition in a Shantytown population in the city of Sao Paulo, Brazil. *Obesity research*. 1995;3 Suppl 2:107s-15s. Epub 1995/09/01.
6. (WHO) WHO. Report of the advisory group meeting on maternal nutrition and low birth weight. 2002.
7. (WHO) WHO. Technical Consultation Towards the Development of a Strategy for Promoting Optimal Fetal Development. 2003.
8. Barker DJ. The origins of the developmental origins theory. *Journal of internal medicine*. 2007;261(5):412-7. Epub 2007/04/21.
9. Nuyt AM. Mechanisms underlying developmental programming of elevated blood pressure and vascular dysfunction: evidence from human studies and experimental animal models. *Clin Sci (Lond)*. 2008;114(1):1-17. Epub 2007/12/01.
10. Pladys P, Lahaie I, Cambonie G, Thibault G, Le NL, Abran D, et al. Role of brain and peripheral angiotensin II in hypertension and altered arterial baroreflex programmed during fetal life in rat. *Pediatric research*. 2004;55(6):1042-9. Epub 2004/04/09.
11. Torrens C, Brawley L, Anthony FW, Dance CS, Dunn R, Jackson AA, et al. Folate supplementation during pregnancy improves offspring cardiovascular dysfunction induced by protein restriction. *Hypertension*. 2006;47(5):982-7. Epub 2006/04/06.
12. Oliveira EL, Cardoso LM, Pedrosa ML, Silva ME, Dun NJ, Colombari E, 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. *Nutritional neuroscience*. 2004;7(4):201-5. Epub 2005/02/03.
13. Costa-Silva JH, Silva PA, Pedi N, Luzardo R, Einicker-Lamas M, Lara LS, et al. Chronic undernutrition alters renal active Na⁺ transport in young rats: potential hidden basis for pathophysiological alterations in adulthood? *European journal of nutrition*. 2009;48(7):437-45. Epub 2009/05/13.
14. Zoccal DB, Simms AE, Bonagamba LG, Braga VA, Pickering AE, Paton JF, et al. Increased sympathetic outflow in juvenile rats submitted to chronic intermittent hypoxia correlates with enhanced expiratory activity. *The Journal of physiology*. 2008;586(13):3253-65. Epub 2008/05/03.
15. Costa-Silva JH, Zoccal DB, Machado BH. Glutamatergic antagonism in the NTS decreases post-inspiratory drive and changes phrenic and sympathetic coupling during chemoreflex activation. *Journal of neurophysiology*. 2010;103(4):2095-106. Epub 2010/02/19.
16. Dias CM, Passaro CP, Antunes MA, Cagido VR, Einicker-Lamas M, Lowe J, et al. Effects of different nutritional support on lung mechanics and remodelling in undernourished rats. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2008;160(1):54-64. Epub 2007/10/09.

17. Mifflin SW. Arterial chemoreceptor input to nucleus tractus solitarius. *The American journal of physiology*. 1992;263(2 Pt 2):R368-75. Epub 1992/08/01.
18. Kline DD, Ramirez-Navarro A, Kunze DL. Adaptive depression in synaptic transmission in the nucleus of the solitary tract after in vivo chronic intermittent hypoxia: evidence for homeostatic plasticity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2007;27(17):4663-73. Epub 2007/04/27.
19. Kline DD. Chronic intermittent hypoxia affects integration of sensory input by neurons in the nucleus tractus solitarii. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2010;174(1-2):29-36. Epub 2010/04/27.
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. *The Journal of nutrition*. 1993;123(11):1939-51. Epub 1993/11/01.
21. Bartlett D, Jr., Tenney SM. Control of breathing in experimental anemia. *Respiration physiology*. 1970;10(3):384-95. Epub 1970/10/01.
22. Barker DJ, Osmond C. Low birth weight and hypertension. *BMJ*. 1988;297(6641):134-5. Epub 1988/07/09.