



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

**EFEITOS DA NATAÇÃO PRECOCE SOBRE O CÓRTEX
MOTOR DE RATOS RECÉM-NASCIDOS DESNUTRIDOS**

JULIANNA DE AZEVEDO GUENDLER

Recife, 2008

JULIANNA DE AZEVEDO GUENDLER

**EFEITOS DA NATAÇÃO PRECOCE SOBRE O CÓRTEX
MOTOR DE RATOS RECÉM-NASCIDOS DESNUTRIDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Patologia da UFPE como
requisito para obtenção do título de Mestre
em Patologia Geral.

Orientador: Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho.

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Karla Mônica Ferraz Teixeira de Barros.

Recife, 2008

Guendler, Julianna de Azevedo

Efeitos da natação precoce sobre o córtex motor de ratos recém-nascidos desnutridos / Julianna de Azevedo Guendler. – Recife : O Autor, 2008.

68 folhas. Il: fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia Geral, 2008.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Natação – Desenvolvimento neural. 2. Neuromorfometria. I. Título.

616.8

CDU (2. ed)

UFPE

611.8

CDD (22.ed.)

CCS2008-055



Universidade Federal de Pernambuco
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA

AUTOR: JULIANNA DE AZEVEDO GUENDLER

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA GERAL

NOME DA TESE: “Efeitos da natação precoce sobre o córtex motor de ratos recém nascidos desnutridos”.

ORIENTADOR: Prof. Doutor Nicodemos Teles de Pontes Filho

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Karla Mônica Ferraz Teixeira de Barros

TESE DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

DATA: 28/02/2008

BANCA EXAMINADORA:

1 –Profº Drº Roberto José Vieira de Mello

2 –Profº Drº Luciano Tavares Montenegro

3 –Profº Drº Mário Ribeiro de Melo Júnior

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Mendel e Ana Virgínia, pelo apoio, amor, ensinamentos e pela presença na minha vida. Agradeço por todas as oportunidades que me deram e por sempre acreditarem em mim;

Ao meu noivo, Renatinho, por todo apoio, carinho e confiança;

Aos meus irmãos, avós, sogros e amigos que sempre me apoiaram.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus, por ter me dado o que tenho de mais precioso, minha vida;

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho, a quem devoto uma sincera admiração, meu muito obrigado pela atenção, amizade e pelos conhecimentos repassados durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Pernambuco, que me proporcionou a oportunidade de cursar a Pós-graduação em Patologia Geral;

À minha co-orientadora Profa. Dra. Karla Mônica, por “abrir as portas” para realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Roberto José Vieira de Melo, por todos os ensinamentos transmitidos para análise da microscopia;

A Profa. Dra. Silvia Regina Arruda de Moraes coordenadora do curso de Pós-graduação de Patologia geral, que não mediu esforços para me ajudar sempre que precisei;

A Profa. Dra. Elizabeth Nascimento, pela ajuda na elaboração do protocolo de natação da pesquisa;

Ao Prof. Dr. Raul Manhães de Castro por conceder acesso ao biotério de nutrição para o desenvolvimento da pesquisa;

À Carmelita Cavalcanti e Silvania, pelo apoio técnico na preparação das lâminas;

Aos meus estagiários Bruna Dornelas, Bruna Cabral, Kamilla e Tiago, pelo apoio na fase experimental;

Ao querido amigo, Tiago Franca, pelo apoio incondicional na realização de todo trabalho;

A Renalli, minha amiga e companheira de pesquisa desde a graduação;

Aos professores e amigos do Setor de Patologia do LIKA, em especial Jorge Luiz da Silva Araújo Filho e Mário Ribeiro de Melo-Júnior, pela amizade e ajuda na realização deste trabalho;

As minhas colegas de curso Danielle, Joanna, Tâmara e Uly, por todos os momentos bons que passamos juntos, incentivos, amizade e carinho;

As minhas amigas, Alice, Bela, Gabriela, Manoela e Vanessa, pelo incentivo e apoio na elaboração da dissertação.

RESUMO

Com o objetivo de observar as possíveis alterações morfológicas e morfométricas no córtex motor induzidos pela natação foram utilizados 42 ratos Wistar, machos, durante o período da lactação. Os animais foram submetidos a dois tratamentos nutricionais: Normonutridos (caseína 17%) ou Desnutridos (caseína 8%) e formando quatro subgrupos de acordo com acesso a natação: Normonutrido controle (NC); Normonutrido submetidos à natação (NN); Desnutrido controle (DC) e Desnutrido submetido à natação (DN). Os animais dos grupos NN e DN foram submetidos a um programa constituído de sessões diárias de natação livre realizadas do 8º ao 23º dia de vida nadando progressivamente 15, 20, 25, 30 e 40 minutos/dia. Durante o experimento foram avaliados os parâmetros de desenvolvimento somático: peso corporal, eixo látero-lateral do crânio e comprimento da cauda e peso cerebral relativo e absoluto. A análise histomorfométrica foi constituída pelas medidas da área do corpo celular e da densidade por área dos neurônios do córtex motor. Nossos resultados indicam que a partir do protocolo proposto, a natação não influenciou os parâmetros de desenvolvimento somático avaliados, assim como não interferiu na densidade neuronal, porém induziu um aumento significativo da área do corpo celular neuronal.

Palavras-chave: natação, desnutrição, neurônios, ratos.

ABSTRACT

In order of observing the morphometrical alterations in the motor cortex related to swimming, 42 males Wistar rats were tested during the lactation period. The animals were exposed two different nutritional treatments: well-nourished (casein 17%) and malnourished (casein 8%) and subdivided in four groups in accordance with swimming: well-nourished control (NC); well-nourished submitted to swimming (NN); malnourished control (DC) and malnourished submitted to swimming (DN). The animals of groups had been submitted to a program of daily sessions of free swimming carried through of 8th to 23rd day of life and they swam during 15, 20, 25, 30 and 40 minutes/day, progressively. During the experiment the somatic development parameters were evaluated: corporal weight, latero-lateral axis of skull, length of tail and absolute and relative cerebral weight. The morphometrical analysis evaluated the cellular area and density of the neurons of motor cortex somatic development. Our results indicate that the proposed swimming protocol has not influenced of the somatic development parameters evaluated, as well as it did not interfere in the neuronal density, however, there was a significant increase of the neuronal cellular area.

Key-words: swimming, malnutrition, neurons, rats.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição, por kg de ração, das dietas utilizadas nos diferentes grupos, durante o período de aleitamento até o dia do desmame (24º dia).....	19
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A: Pesagem dos animais, B: Medida do comprimento da cauda e C: Medida do Eixo Látero-Lateral do Crânio.....	21
Figura 2. A: Animal do grupo nutrido (NN), submetido ao protocolo de natação, no 13º dia de vida. B: Animais do grupo nutrido (NC) com estresse aquático e sem esforço.....	22
Figura 3. Imagem da amostra encefálica, com aumento final de 400X, corado pelo método Nissl.....	26
Figura 4. Efeito da manipulação nutricional e natação sobre a evolução ponderal dos grupos. * Foi observada diferença significativa entre os grupos Nutridos e Desnutrido a partir do 7º dia pós natal ($p < 0,05$).....	
Figura 5 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o eixo látero-lateral do crânio dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$	28
Figura 6 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o comprimento da cauda dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$	28
Figura 7 Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o peso cerebral médio dos animais com 24 dias. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$	29
Figura 8 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o peso relativo do cérebro dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$	31
Figura 9 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre a densidade neuronal do córtex motor dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$	32
Figura 10 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre a área neuronal do córtex motor dos animais com 24 dias de idade. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,05$	34

LISTA DE ABREVIATURAS

Kg	Quilograma
g	Gramma
mg	Miligramma
ml	Mililitro
°C	Graus centígrados
cm	Centímetros
h	Horas
µm	Micrometros
mm	Milímetros
min	Minutos
M	Molar
pH	Potencial Hidrogeniônico
NaCl	Cloreto de sódio
PBS	Phosphate-bufferid saline (solução salina tamponada)

SUMÁRIO

	Pág
RESUMO	I
ABSTRACT	II
LISTA DE TABELAS	III
LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE ABREVIATURAS	III
1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 Tipo de estudo.....	18
3.2 Animais.....	18
3.3 Manipulação nutricional	19
3.4 Grupos experimentais.....	20
3.5 Parâmetros de desenvolvimento somático.....	20
3.6 Programa de natação.....	21
3.7 Perfusão.....	22
3.8 Peso cerebral	23
3.9 Estudo histomorfométrico	23
3.10 Análise histomorfométrica.....	24
3.11 Método estatístico	24
3.12 Aspectos éticos	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Parâmetros de desenvolvimento somático.....	26
4.1.1 <i>Peso corporal</i>	26
4.1.2 <i>Eixo látero-lareral do crânio e comprimento da cauda</i> .	27
4.2 Parâmetros da estrutura cerebral.....	29
4.2.1 <i>Peso do cérebro</i>	29
4.2.2 <i>Peso relativo do cérebro</i>	30
4.3 Estudo histomorfométrico.....	32
4.3.1 <i>Densidade neuronal</i>	32
4.3.2 <i>Área da célula neuronal</i>	33
5. CONCLUSÕES GERAIS	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	
1 – Artigo	
2 - Aprovação do Comitê de ética	
3 - Comprovante de submissão do artigo	
4 - Normas para submissão do artigo	
5 - Trabalhos desenvolvidos durante o mestrado	

1. INTRODUÇÃO

Ciência baseada na química, a nutrição trata dos processos químicos e fisiológicos relacionados com a transformação dos nutrientes em constituintes do organismo humano e animal. É um componente ambiental de grande importância, uma vez que fornece os substratos necessários para que os seres vivos possam atingir seu potencial pleno de crescimento, reprodução, saúde, longevidade e respostas a estímulos, representando um dos processos básicos indispensáveis para a manutenção da vida (ROQUAYROL, 2003; BRASILEIRO FILHO, 2006).

A nutrição adequada resulta do equilíbrio entre os fenômenos que fornecem os nutrientes e os que o consomem, podendo ser perturbada pela diminuição da ingestão, má-absorção ou, até mesmo, aumento de necessidades específicas. Portanto, esta é considerada tanto o resultado como o processo de fornecer os nutrientes necessários para a manutenção da saúde, crescimento, desenvolvimento e sobrevivência (MONTENEGRO E FRANCO, 1999; ACC/SNC, 2004).

A desnutrição é caracterizada por uma deficiência e/ou um desequilíbrio de nutrientes no organismo, sendo freqüentemente produzida pelo déficit relativo de proteínas, carboidratos e gorduras como fontes de energia, promovendo alterações fisiopatológicas e estruturais que se traduzem em danos funcionais, bioquímicos e físicos (GURMINI, *et al.*, 2005),

A proporção de crianças afetadas pela desnutrição continua particularmente alta em certas regiões do mundo (ONIS *et al.*, 1993; ACC/SNC, 2004), o que tem motivado um enorme número de estudos com objetivo de avaliar os possíveis efeitos da desnutrição precoce.

Já em 1963, Stoch e Smythe formularam a hipótese de que a desnutrição precoce poderia inibir o crescimento físico, provocando também uma redução no tamanho cerebral e um menor desenvolvimento intelectual.

A desnutrição é um importante fator contribuinte para a susceptibilidade à doença em todo o mundo, o baixo peso infantil e materno sozinhos são responsáveis por 9,5% do fardo mundial de doença. Cerca de 30% de todos os bebês nascidos a termo no sul da Ásia têm baixo peso ao nascer, com taxas de 14% na África Sub - Sahariana, 15% no Oriente Médio e Norte da África e 10% nos países Latinos Americanos. A desnutrição está associada a mais de 50% de toda mortalidade infantil. (ACC/SNC, 2004).

Esses índices são alarmantes uma vez que, o período fetal e a primeira infância são os mais sensíveis às deficiências nutricionais. Existe uma quantidade substancial de provas relacionando o retardo de crescimento intra-uterino e o baixo peso no período de lactação, com subnutrição materna (PASSOS, 2000; ALIPPI *et al*, 2002; DA SILVA HERNANDES *et al*, 2005; JOFFE, 2007).

Evidências clínicas e experimentais demonstraram que desnutrição calórica-protéica pode afetar vários sistemas envolvidos na homeostase do corpo (YOKOGOSHI *et al*, 1992; BENADE, MARTINEZ-MALDONADO, 1998; BONJOUR *et al*, 2002).

A desnutrição extra-uterina precoce, independente do peso ao nascer, tem efeito adverso sobre diversos parâmetros bioquímicos, como por exemplo, a sensibilidade à insulina, tolerância à glicose e no perfil lipídico do adulto jovem (GONZÁLEZ- BARRANCO, MRÍOS- TORRES, 2004)

Por outro lado, o processo de desenvolvimento do sistema nervoso envolve aspectos que influem no crescimento físico, maturação neurológica e construção de

habilidades motoras, através da interação entre a carga genética e os fatores advindos do meio ambiente (BARROS *et al*, 2003; MIRANDA *et al*, 2003; ROMANI, LIRA, 2004).

Alguns estudos têm demonstrado que a redução na produção de energia e a deficiência de nutrientes essenciais durante os primeiros estágios da vida pós-natal têm um profundo efeito no desenvolvimento do cérebro. O tempo e a natureza do insulto nutricional afetam o desenvolvimento do cérebro em diferentes maneiras (MANN-KRAGELOH, 2004; UAVY, DANGOUR, 2006; JOFFE, 2007). Mesmo pequenos episódios de desnutrição durante o período de lactação podem afetar o desenvolvimento do corpo e do cérebro. (ROCHA - DE - MELO, GUEDES, 1997).

Vários estudos têm sido realizados com humanos e animais, no intuito de demonstrar a ação da privação nutricional sobre o organismo (TEODÓSIO *et al*, 1990, PESSOA, 1997; FALBO e ALVES, 2002; PONTES-FILHO, 2003).

Em animais de laboratório, a desnutrição protéica em idades precoces provoca alterações no tecido nervoso, tais como: diminuição nos teores de glicogênio e glicose cerebrais; aumento na utilização de corpos cetônicos; aumento na concentração de ácido glutâmico e glutamina (COLOMBO *et al*, 1992; GARRIGA, CUSSÓ, 1992), significativa perda de neurônios do hipocampo e diminuição do peso do cerebelo, do hipocampo e do córtex cerebral, demonstrando uma maior vulnerabilidade dessas estruturas à agressão nutricional (LUKOYANOV, ANDRADE, 2000, MORGANE *et al*, 2002; LISTER, 2004).

Em 1978, Morgane *et al* enfatizaram a influência do estado nutricional sobre o desenvolvimento do sistema nervoso descrevendo que a desnutrição afeta muitos aspectos críticos da função e desenvolvimento do cérebro. Posteriormente, inúmeros outros estudos têm demonstrado uma estreita associação entre a

ocorrência da desnutrição com a conseqüente alteração do funcionamento cerebral (COLOMBO *et al*, 1992; RASMUSSEN *et al*, 1992; POLLITT, 1995; FUKUDA *et al*, 2002; FEOLI *et al*, 2006 VALADARES, ALMEIDA, 2005).

Evidencias indicam que o desenvolvimento do córtex é esculpido por um processo altamente sofisticado de reorganização neuronal (MORGANE, 1993). Neste sentido, os estudos em animais experimentais tornaram-se essenciais para estimar os potenciais efeitos deletérios da desnutrição em humanos e estabelecer a correlação entre alterações estruturais e padrões comportamentais e habilidades cognitivas (LEVITSKY e STRUPP, 1995; BARROS *et al*, 2003; BONATTO *et al*, 2005).

A maturação cerebral acontece através da gênese e migração neuronal, diferenciação e formação sináptica (MANN-KAGELOH, 2004). Esses eventos ocorrem com maior intensidade entre o 2º trimestre de vida fetal e os 3º e 4º anos de vida pós-natal em humanos, sendo comparável com as 3 primeiras semanas de vida do rato (MORGANE *et al*, 1978). Durante 1º e 2º trimestre da gestação, a neurogênese cortical é predominante, caracterizada por proliferação, migração e organização de células precursoras neuronais e células neuronais. Durante o 3º trimestre, quando a arquitetura macroscópica do cérebro está estabelecida, crescimento e diferenciação são predominantes (MANN-KRAGELOH, 2004).

O “período crítico de crescimento cerebral” é definido como a fase em que o cérebro está aumentando o seu peso de maneira particularmente rápida, acompanhada dos processos de desenvolvimento neuroquímico e neuroanatômicos (“brain growth spurt”) isto é, o período de pico de atividade de eventos específicos (neurogliogenese, migração e diferenciação celular (DOBBING, 1968; MORGANE *et al*, 1993). Neste momento há maior vulnerabilidade neural às alterações nutricionais

e a outros fatores, como os estímulos decorrentes do enriquecimento ambiental (DOBBING, 1972; FERNÁNDEZ *et al*, 1998; MONTEIRO *et al.*, 2000; GUEDES, 2004). É, portanto, neste período especial que ocorre a aprendizagem das primeiras funções motoras, através da expressão de reflexos primitivos e dos processos de construção da atividade locomotora (BENEFICE *et al*, 1999; BARROS *et al*, 2003). Neste também se dá a continuidade da programação intra-uterina de diversos sistemas fisiológicos podendo os efeitos da desnutrição repercutir na idade adulta (ABIGAIL, DINO, ALISON, 2006).

A fase em que a desnutrição ocorre, portanto, é um fator importante na determinação dos efeitos sobre o encéfalo e comportamento futuro. Se ela ocorrer durante períodos críticos do desenvolvimento do sistema nervoso, tanto pré ou pós-natal, as alterações permanentes na morfologia, fisiologia e bioquímica do cérebro, produzirão um grande impacto na função do sistema nervoso, particularmente na esfera do desenvolvimento cognitivo (MORGANE, 1992). Dependendo, portanto, do período de maturação cerebral atingido, da duração e do grau da desnutrição, consequências severas, como fenótipos anormais de comportamento e déficit nas funções cerebrais, podem ocorrer (PICANÇO-DINIZ *e col*, 1998; BORBA *e col*, 2000; IVANOVIC, 1996; WAIN - WRIGHT, 2001).

Já há algum tempo, têm-se prestado especial interesse na interação entre a nutrição e o estado de saúde e os efeitos fisiológicos do exercício físico sobre os indivíduos.

Segundo Caspersen e colaboradores (1985), a atividade física é definida como qualquer movimento corporal, realizado com a participação da musculatura esquelética, envolvendo um gasto energético maior, quando comparado aos níveis de repouso, o que normalmente acontece por meio de exercícios físicos.

Pelo que se pode perceber o exercício físico melhora ou mantém o desempenho do indivíduo, graças à nutrição adequada, porém, este pode se deteriorar se existem deficiências nutricionais. A resposta frente ao exercício físico depende da idade, do tipo, da duração e da intensidade do esforço realizado (DUFFY, 1997 NASCIMENTO *et al*, 2007)

A exposição ao enriquecimento ambiental, caracterizado pela combinação de aumento do exercício, interações sociais e aprendizado, tem mostrado produzir efeitos positivos sobre o SNC (FAHERTY *et al*, 2003).

Segundo Moreno e colaboradores (2004), a interação com água é um meio privilegiado para experimentar novas sensações e novos comportamentos motores, além de estimular os diversos sentidos. A natação como forma de atividade física, na área psicomotora, propicia benefícios devido ao fato da água favorecer experiências diversas, mesmo antes de o bebê começar a andar, o que acelera o seu desenvolvimento motor.

A influência do exercício físico e seus efeitos benéficos ou estressantes sobre o cérebro vêm sendo investigados, havendo, no entanto, divergência tanto em relação ao modelo ou tipo de atividade física quanto ao benefício ou não do mesmo às funções cerebrais (GOULD *et al*, 1999; TREJO *et al*, 2001; SHORS, 2001; FAHERTY *et al*, 2003; DING *et al*, 2004).

Por outro lado, PRAZERES *et al*, (2004) apontam que são escassos os trabalhos associando os efeitos do exercício sobre o desenvolvimento cerebral em diferentes condições de desnutrição. Esta constatação, portanto, nos estimulou a investigar os potenciais efeitos do exercício físico sobre o cérebro de ratos desnutridos durante a lactação.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos da natação precoce sobre o desenvolvimento somático e cerebral de ratos submetidos à desnutrição protéica durante o período de lactação.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar, no modelo experimental proposto, os seguintes parâmetros:

- Desenvolvimento somático: peso corporal, eixo-látero-lateral do crânio e comprimento da cauda;
- Peso cerebral: peso absoluto e relativo;
- Padrão histomorfométrico do córtex motor: densidade dos neurônios por campo e área do corpo celular neuronal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados 48 ratos machos recém nascidos, provenientes do biotério de criação do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde /UFPE que, 24h após o parto, foram aleatoriamente distribuídos em gaiolas coletivas de forma a constituir oito ninhadas de seis filhotes junto a uma nutriz. A padronização do tamanho da ninhada teve como objetivo eliminar a desnutrição induzida por grandes ninhadas durante a lactação (RODRIGUES DE ARAÚJO, 2003; SANTOS MONTEIRO, 2002; ROCHA DE MELO, 2001). Os animais foram acondicionados em gaiolas plásticas (33x40x17cm) com grades metálicas e com livre acesso a água filtrada, mantidos em ambiente climatizado provido de sistema de exaustão, com ciclo claro-escuro de 12 horas (luminosidade entre 07h00min e 19h00min horas), com temperatura mantida em $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante todo o experimento.

3.2 Manipulação nutricional

Todas as nutrizes foram alimentadas durante o período de gestação com a dieta de manutenção do biotério com 23% de proteína (LABINA® - fornecida pela “Purina do Brasil”). A partir do período de aleitamento e até o dia do desmame (24º dia) metade das nutrizes passaram a ser alimentadas através de dieta com 17% de caseína (AIN-93G: gestação, lactação e crescimento) (REEVES, NIELSEN, FAHEY, 1993) ea outra metade com dieta restrita em proteínas, com 8% de caseína. Os componentes das dietas estão representados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Composição, por kg de ração, das dietas utilizadas nos diferentes grupos, durante o período de aleitamento até o dia do desmame (24º dia).

	NUTRIDO	DESNUTRIDO
Proteína (Caseína)	179,3 g	79,3g
Celulose	50g	50g
Mistura vitamínico	10g	10g
Mistura salínica	35g	35g
DL metionina	3g	3g
B. de colina	2,5g	2,5g
Óleo de soja	70ml	70ml
Amido de milho	650,2g	750,2g

Fonte: Biotério do Departamento de Nutrição/CCS/UFPE

Cada ninhada foi amamentada por uma mesma mãe durante todo o período de aleitamento, ocorrendo o desmame aos 24 dias de vida. Os filhotes, ao serem separados das mães, permaneceram em gaiolas individuais e receberam a mesma dieta que anteriormente vinha sendo oferecida às mães. Esta conduta foi adotada até o momento de realização da perfusão no 24º dia de vida.

3.3 Grupos experimentais

Durante o experimento houve morte de uma das nutrízes, ocasionando, portanto, a exclusão da pesquisa de três animais do grupo nutrido controle (NC) e três do grupo nutrido com natação (NN). Desta forma, foram estudados os 42 animais restantes conforme os grupos abaixo:

- 1) NUTRIDO CONTROLE (NC) (n=09) – filhotes amamentados por mães mantidas com a dieta caseína 17% e não submetidos à natação;
- 2) NUTRIDO COM NATAÇÃO (NN) (n=09) - filhotes amamentados por mães mantidas com a dieta caseína 17% e submetidos à natação;

- 3) DESNUTRIDO CONTROLE (DC) (n=12) - filhotes amamentados por mães mantidas com dieta caseína a 8% e não submetidos à natação;
- 4) DESNUTRIDO COM NATAÇÃO (DD) (n=12) - filhotes amamentados por mães mantidas com dieta caseína a 8% e submetidos à natação.

3.4 Parâmetros de desenvolvimento somático

O peso corporal dos animais foi aferido diariamente a partir do 1º dia após o nascimento até o 24º dia, sempre no mesmo horário, utilizando-se balança eletrônica (Marte, modelo S-000). O Eixo Látero-Lateral do Crânio (ELLC) e o comprimento da cauda (CC) foram aferidos nos 8º, 15º e 24º dias através do uso de paquímetro.

Para a aferição do ELLC considerou-se a extensão entre os pontos de inserção das duas orelhas. O CC foi obtido com o animal posicionado em supino e foi aferida a distância compreendida entre o ânus e a ponta da cauda (SILVA, 2005).

(Figura 1)

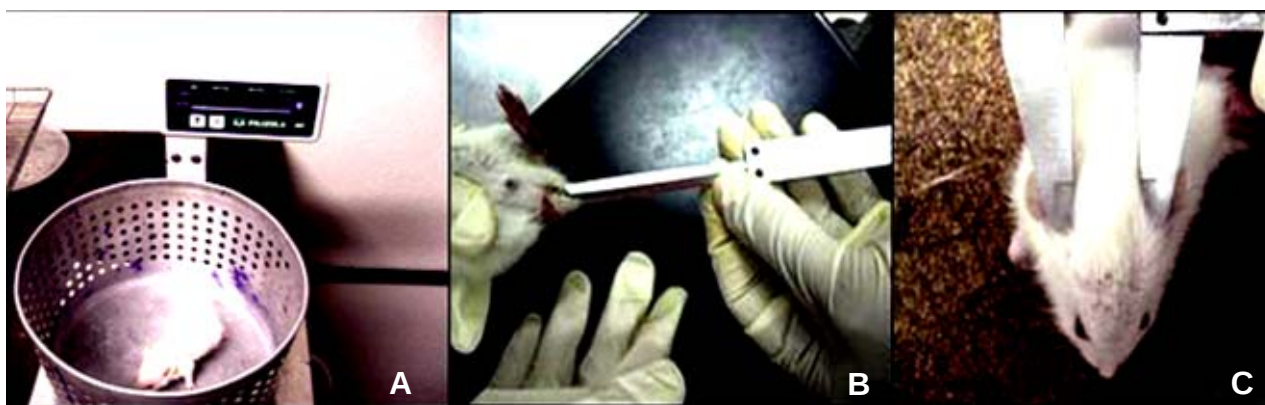


Figura 1. A: Pesagem dos animais, B: Medida do comprimento da cauda e C: Medida do Eixo Látero-Lateral do Crânio.

3.5 Programa de natação

O programa de exercício foi constituído de sessões diárias de natação livre realizadas do 8º ao 23º dia de vida, sempre no mesmo horário. Os animais dos grupos submetidos ao exercício nadaram em recipientes plásticos (33x40x17cm) (**Figura 2A**), com nível da água mantido de acordo com o crescimento dos animais de forma que não permitisse que tocassem as patas no fundo do recipiente. A água foi mantida a uma temperatura de $31\pm 1^{\circ}\text{C}$. Inicialmente foi realizada a adaptação dos animais ao ambiente aquático. Para isto, os mesmos foram ambientados durante 3 dias na proporção de 2, 5 e 10 minutos respectivamente. Portanto, a adaptação foi feita com os animais na idade de 8, 9 e 10 dias de vida. Descansaram no 11º e 12º dia de vida. A partir do 13º ao 17º dia nadaram progressivamente 15, 20, 25, 30 e 40 minutos/dia. Descansaram no 18º e 19º dia e do 20º ao 23º dia nadaram diariamente 40 minutos. (RODRIGUES-DE-ARAÚJO, 2003; NASCIMENTO *et al*, 2004 NASCIMENTO *et al*, 2007),

Os animais não submetidos à natação foram mantidos nas mesmas condições dos animais que nadaram, porém o nível da água foi mantido baixo para que não nadassem. Desta forma foram submetidos indistintamente, ao mesmo tipo de estresse aquático sem, contudo, realizar o esforço (**Figura 2B**).

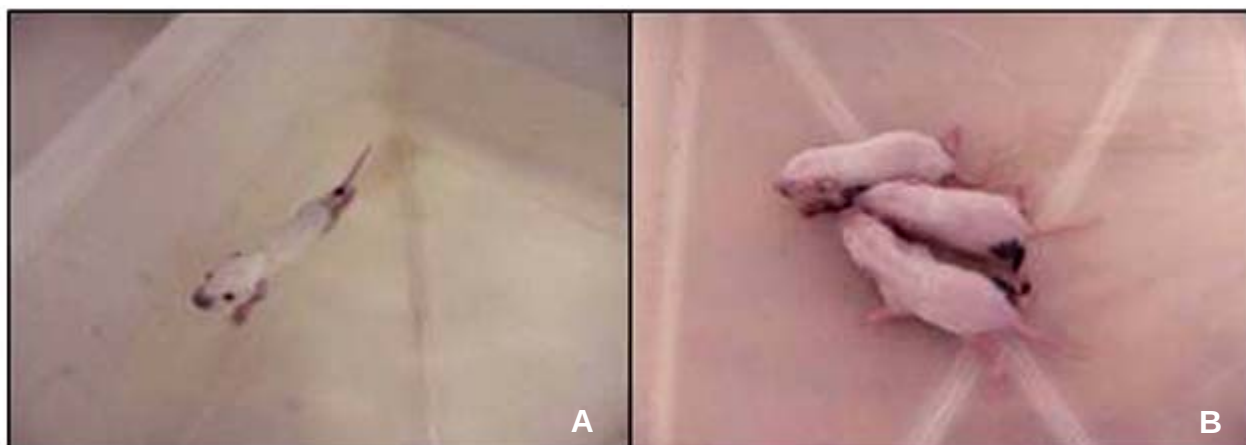


Figura 2. A: Animal do grupo nutrido (NN), submetido ao protocolo de natação, no 13º dia de vida. B: Animais do grupo nutrido (NC) com estresse aquático e sem esforço.

3.6 Perfusão

Aos 24 dias de vida os animais foram anestesiados, por via intraperitoneal, com solução aquosa contendo uma mistura de Uretana a 10% (1g/Kg) e Cloralose a 0,4% (40mg/Kg). Para execução da perfusão procedeu-se abertura ampla do tórax para exposição do coração. Após a injeção de 1mL de heparina (Liquemine) no ventrículo esquerdo, para evitar a coagulação sanguínea, introduziu-se na mesma região uma cânula de polietileno, realizando-se em seguida a abertura do átrio direito. Desta forma, tanto o sangue quanto as soluções de perfusão foram eliminadas pela abertura, procedendo-se a perfusão com auxílio de um compressor. Para remoção do sangue e manutenção da integridade tecidual, foi injetada através da cânula uma solução de tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,2-7,4 (PBS), contendo 0,9% por volume de NaCl. A seguir, era perfundido formalina a 10% diluído em PBS a 0,9%, sendo a fixação do tecido controlada pelo volume inoculado e pela rigidez da cabeça e dos membros (SILVA *et al*, 2006).

3.7 Peso cerebral

Finalizada a perfusão, realizava-se a abertura do crânio, a retirada do encéfalo e exclusão do cerebelo, nervos cranianos e bulbo olfatório e empregando-se uma balança analítica (ZEISS, modelo Sartorius) obtinha-se o peso absoluto do cérebro.

O peso relativo do cérebro de cada animal foi obtido pela relação peso cerebral/peso corporal.

3.8 Estudo histológico

No momento anterior a microtomia, o cérebro era dividido em três partes, mediante dois cortes coronais, utilizando-se navalha para microtomia e uma lupa estereoscópica com ocular milimétrica (Olympus, modelo TGHM), obtendo-se três fragmentos: anterior, médio e posterior. Esse procedimento foi adotado para a

obtenção dos cortes histológicos coronais seriados do córtex motor (fragmento anterior).

Os fragmentos do córtex motor selecionados foram incubados por um período mínimo de 48 horas em formalina 10% tamponada (PBS) e em seguida submetidos à rotina histológica e finalmente emblocados em parafina. A partir disto, foram, obtidos cortes histológicos com 4µm de espessura através do micrótomo horizontal Yamato KoKi (JAPAN) e montados em lâminas albuminizadas. Os cortes obtidos foram corados pela Hematoxilina-Eosina (HE) para observação das características histológicas gerais e pelo método de Nissl, para evidenciar os neurônios.

3.9 Análise histomorfométrica

A análise morfométrica foi feita a partir das imagens obtidas por meio de um sistema de captação constituído por uma vídeocamera Samsung (Modelo SHC-410NAD) acoplada a um microscópio óptico Leica, com integração a um microcomputador com o software Power VCR II. Todas as imagens foram captadas com aumento final de 400X, em um total de 15 imagens por amostra encefálica **(Figura3)**.

Os parâmetros histológicos analisados foram a área do corpo celular e densidade dos neurônios por área.

Para obter as medidas da área do corpo celular neuronal foi utilizado o software Scion Image for Windows (Beta 4.0.3.) Foram analisadas em cada imagem as áreas de 10 células do córtex motor.

A densidade das células neuronais foi obtida através do software Mesurim_pro 1.0, calculando-se o número total de células neuronais em cada imagem digitalizada.

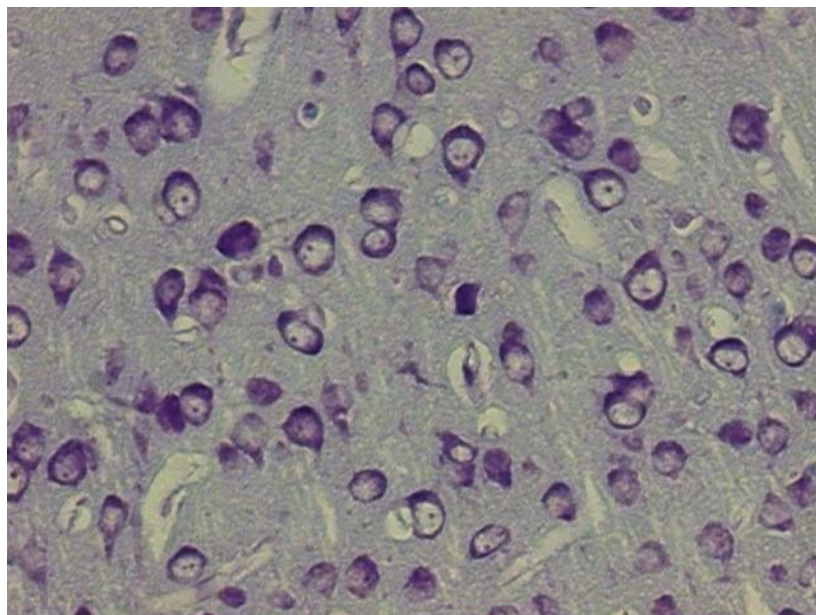


Figura 3. Imagem da amostra encefálica, com aumento final de 400X, corado pelo método Nissl. (colocar na lista de figuras)

3.10 Método estatístico

Para a análise dos dados foram obtidas as medidas estatísticas: média, desvio padrão, coeficiente de variação, valor mínimo e valor máximo (técnicas de estatística descritiva) e para as comparações pareadas o teste de Tukey e o teste t de Student para a hipótese de correlação nula. As hipóteses utilizadas foram:

H_0 : Não existe diferença significativa entre os grupos;

H_1 : Existe pelo menos um grupo que difere dos demais.

O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5% (0,05). Os dados foram digitados na planilha Excel e o software utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o software PRISMA[®] 3.0.

3.11 Aspectos éticos

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros de desenvolvimento somático

Corroborando estudos anteriores que correlacionam a desnutrição neonatal, período vulnerável do desenvolvimento, com a ocorrência de graves alterações morfofuncionais (MORGANE *et al*, 2002; OLIVEIRA, E. L *et al*, 2004; GONZÁLEZ-BARRANCO, RÍOS - TORRES, 2004; SILVA, 2005; CARDOSO-SILVA, 2007), nossos resultados apontam uma diminuição dos valores dos índices de desenvolvimento somático analisados, nos animais desnutridos.

4.1.1 Peso corporal

Na evolução ponderal pôde-se observar que o grupo Nutrido teve um ganho de peso superior ao grupo Desnutrido, a partir do 7º dia pós-natal ($p < 0,05$). Não havendo, contudo, diferença com relação à natação nos dois grupos. (**Figura 4**)

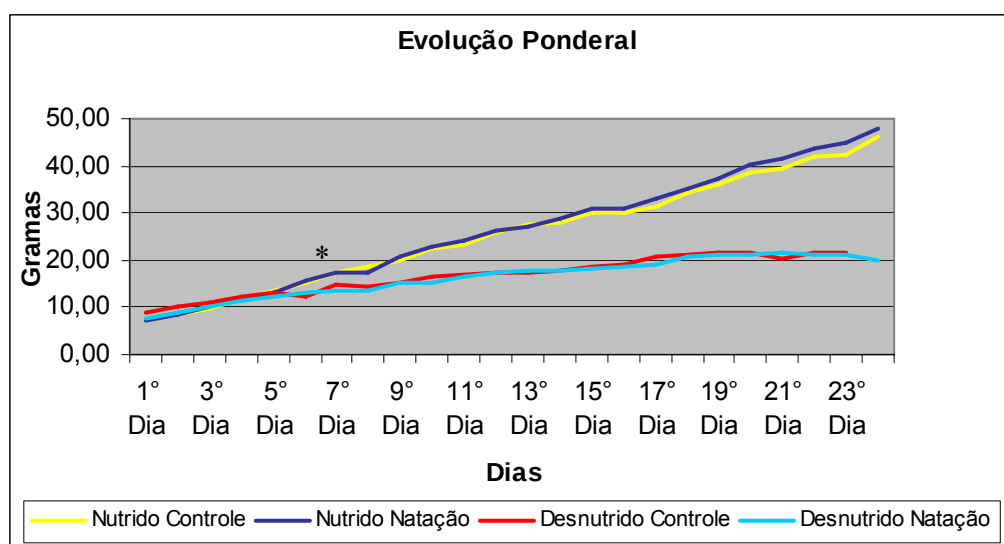


Figura 4. Efeito da manipulação nutricional e natação sobre a evolução ponderal dos grupos. * Foi observada diferença significativa entre os grupos Nutridos e Desnutrido a partir do 7º dia pós-natal ($p < 0,05$).

Experimentalmente, tem sido demonstrado que a evolução da curva ponderal de ratos submetidos à desnutrição é menor do que a de nutridos (TEODÓSIO *et al*, 1990; KIM *et al*, 1994; PESSOA, 1997; BORBA *et al*, 2000; OLIVEIRA *et al*, 2004; BARROS *et al*, 2006; Silva *et al* e ARAUJO-FILHO *et al*, 2007). Alguns autores relatam redução no peso induzido pela desnutrição a partir do 4º dia pós-natal (JOHNSON *et al*, 1991; SOBOTKA, COOK e BRODIE, 1994). A redução de peso neste trabalho foi a partir do 7º dia, o que pode ser atribuído a diferentes padrões das dietas de indução de desnutrição utilizados.

Com relação a não influência da natação na evolução ponderal dos animais, nossos resultados coincidem com os de Monteiro (2000), Rodrigues-de-Araújo e Sukho (2003). No entanto, Prazeres e colaboradores (2004), Nascimento e colaboradores (2004), Mooren e colaboradores (2002), Kim e colaboradores, Hernandes e colaboradores (2003) observaram que o exercício físico determinou um peso corporal menor.

A utilização de diferentes protocolos de exercício e a variação na faixa etária dos animais pode justificar os resultados divergentes.

4.1.2 Eixo Látero-Lateral do Crânio e Comprimento da cauda

Na análise dos valores obtidos na medida do Eixo Látero-Lateral do Crânio e do comprimento da cauda, observamos valores menores nos animais dos grupos Desnutrido quando comparados ao grupo Nutrido. Independente da dieta, a prática ou não da natação não levou a alterações em relação aos dois parâmetros considerados (**Figuras 5 e 6**, respectivamente).

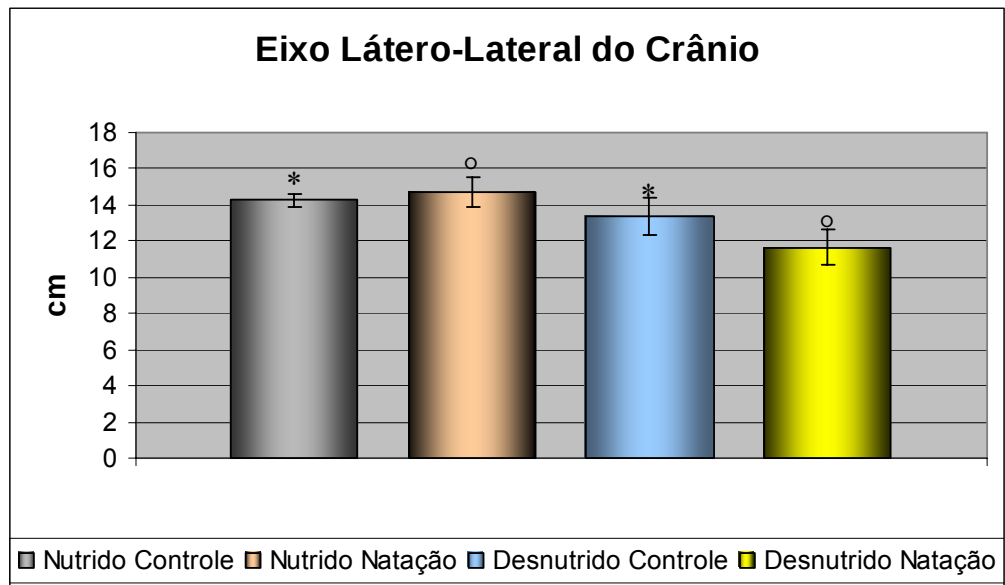


Figura 5 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o eixo látero-lateral do crânio dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$.

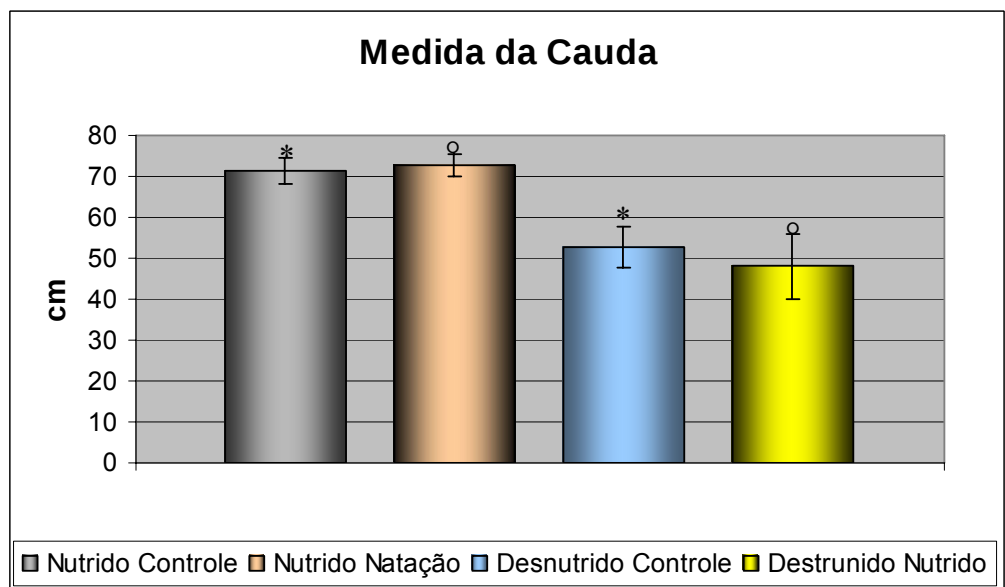


Figura 6 - Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o comprimento da cauda dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$.

Nossos resultados coincidem com os de Barros e colaboradores (2003) no qual o eixo látero-lateral do crânio e o comprimento da cauda de animais desnutridos no período neonatal foram inferior a de animais nutridos. Alippi e colaboradores

(2002) observaram que o comprimento do corpo de ratos neonatos desnutridos foi inferior ao dos nutridos.

É importante ressaltar o relato de Prazeres e colaboradores (2004) que utilizando ratos jovens desnutridos e posteriormente recuperados nutricionalmente, a prática da atividade física levou a um aumento do comprimento da cauda.

4.2 Parâmetros da estrutura cerebral

4.2.1 Peso do cérebro

Após o período de administração das dietas e da natação observou-se diferença significativa no peso cerebral entre os grupos quando houve associação desses fatores. Os animais do grupo DN apresentaram peso cerebral menor que o dos animais dos grupos NN ($p < 0,05$) (**Figura 7**).

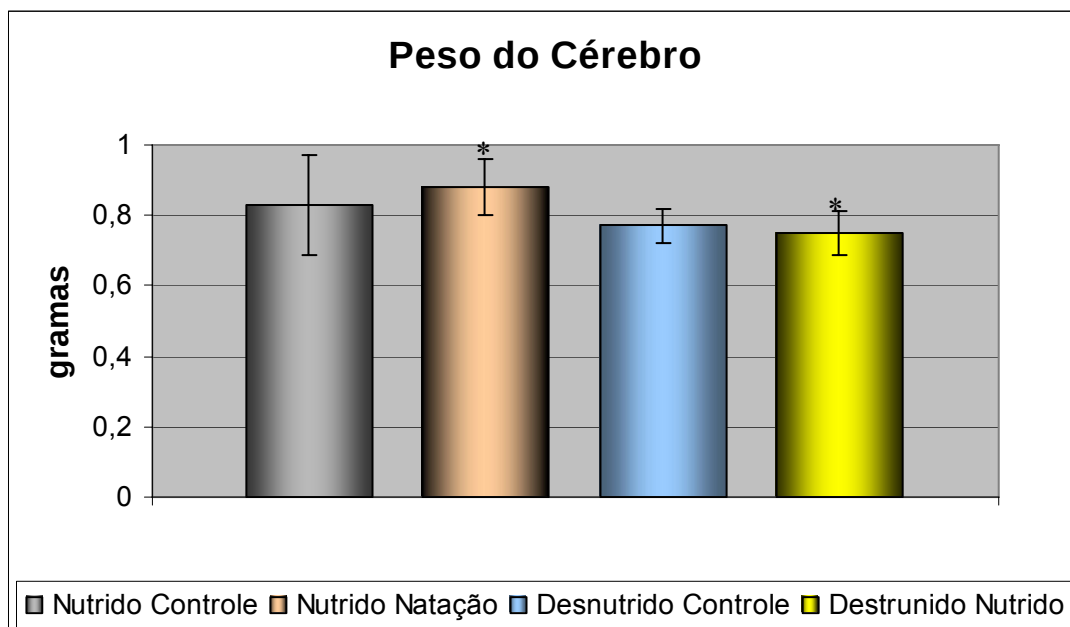


Figura 7 - Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o peso cerebral médio dos animais com 24 dias. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $*p < 0,001$.

Nos trabalhos de Teodósio e colaboradores (1990); Pessoa (1997); Nunes e colaboradores (2000); Fukuda e colaboradores, 2002; Hernandes e colaboradores, 2003; Françolin-Silva, Almeida, 2004; Valadares, Almeida, 2005 e Silva e colaboradores, 2007, foi relatado que a desnutrição seria um fator negativo para o ganho de peso cerebral.

Monteiro (2000) e Prazeres e colaboradores (2004) descreveram que animais desnutridos submetidos à estimulação ambiental e exercício apresentaram menor peso cerebral.

No nosso estudo, comparando apenas a influência da dieta sobre o peso do cérebro, não houve diferença significativa entre os grupos, sendo a diferença significativa apenas na associação dos dois fatores (desnutricao + natação).

A discordância entre os resultados pode ser atribuída a diferenças no grau de desnutrição alcançado nas diferentes dietas utilizadas. O grau de desnutrição alcançado com nossa dieta pode não ter sido suficiente para determinar redução no peso cerebral, só tendo efeito negativo quando houve associação com o exercício. Talvez por essa condição (desnutrição + natação) suplantando o fenômeno de “poupança cerebral”, descrito por Pessoa, (1997). Segundo este autor, durante o período de amamentação em ratos, o cérebro pode ser considerado como o órgão mais protegido contra injúrias, sugerindo que esse órgão recebe prioridade nutricional durante o crescimento.

4.2.2 Peso relativo do cérebro

Na análise dos valores de peso relativo do cérebro dos animais, foi observado um valor maior nos animais DC comparado com NC. Também foi encontrado um valor maior entre o grupo DN comparado com NN ($p < 0,05$) (**Figura 8**).

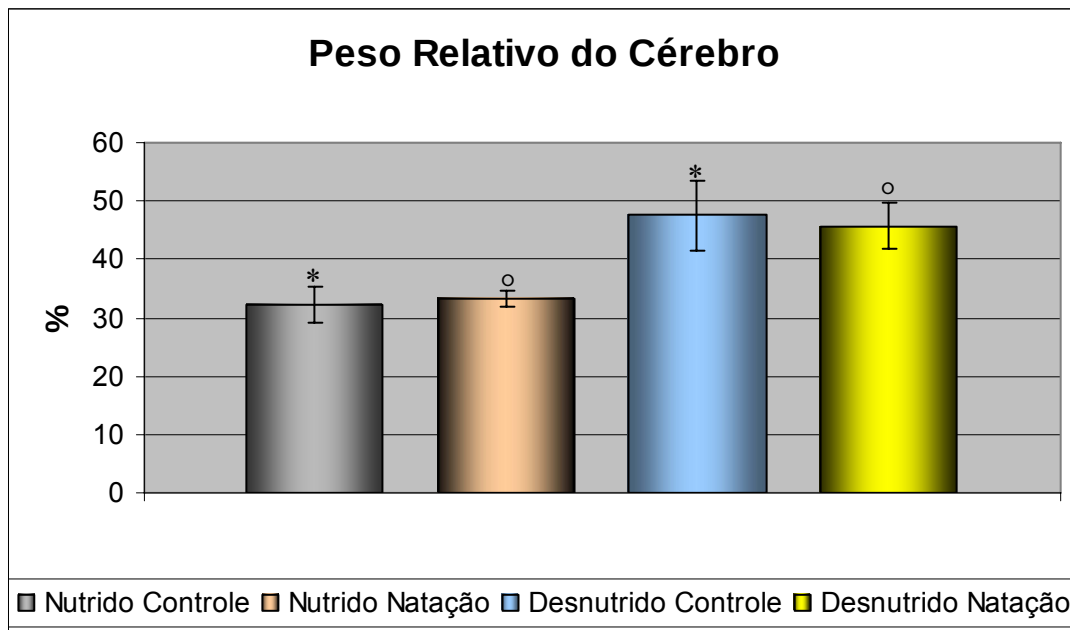


Figura 8 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre o peso relativo do cérebro dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$.

Estudos demonstraram diminuição do peso relativo em diversos órgãos frente à agressão nutricional (DEIRÓ, 2002; MARINHO, 2004).

Em relação ao peso relativo do cérebro nossos achados são concordantes com os obtidos por Reichling e German (2000), onde o peso relativo dos animais desnutridos foi maior que dos nutridos. Este achado é também possivelmente justificado pelo fenômeno “poupança cerebral” já citado.

Prazeres e colaboradores (2004), no entanto, observaram que o treinamento determinou aumento do peso relativo do cérebro em ratos desnutridos. A discordância com os nossos resultados nos parece estar relacionada à idade dos animais estudados, uma vez que neste caso o protocolo experimental empregou animais que não estavam no período crítico de desenvolvimento.

4.3 Estudo histomorfométrico

No estudo histomorfométrico foram consideradas a densidade e a área da célula neuronal do córtex motor.

4.3.1 Densidade Neuronal

Foi observado um aumento significativo no número de neurônios por campo nos grupos desnutridos comparados aos nutridos, não havendo diferença entre os animais que nadaram e que não nadaram (**Figura 9**).

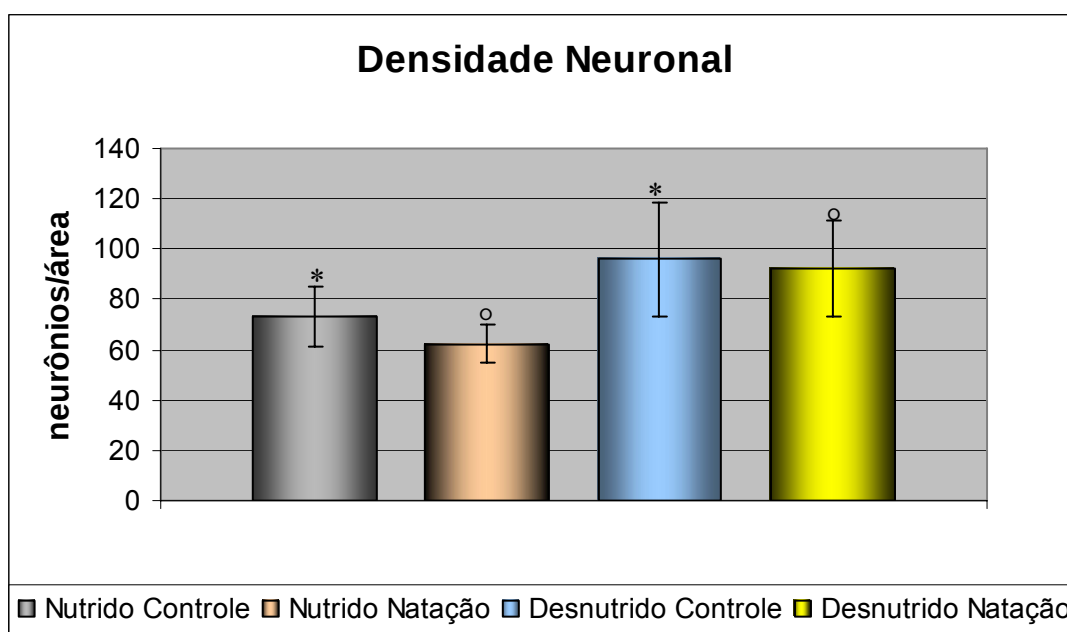


Figura 9 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre a densidade neuronal do córtex motor dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* ◊) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$.

Nossos resultados estão em concordância com os de Fernández e colaboradores e Picanço Diniz e colaboradores (1998), Borba e colaboradores (2000) e Pontes Filho (2003) que relatam que o aumento da quantidade de células por campo no cérebro dos animais desnutridos pode ser atribuído ao efeito de empacotamento celular, determinado pela redução dos componentes da matriz

extracelular da neurópila. Assim, ocorre uma aproximação das células resultando em uma falsa impressão de aumento no número de células.

Não foi observado impacto da natação sobre densidade neuronal no córtex motor de animais nutridos e desnutridos. Faherty e colaboradores (2003) ao estudar alterações morfológicas no hipocampo, induzida pelo enriquecimento ambiental, observou que o exercício físico isolado dos demais estímulos ambientais (interação social e aprendizado) não levava à alterações morfológicas nessa área.

Entretanto, dados da literatura relatam que fatores externos, incluindo o exercício, podem aumentar o número de neurônios por estimular a ação do fator de crescimento derivado da insulina com efeitos tróficos sobre neurônios e células da glia (TREJO *et al*, 2001).

No nosso estudo a intensidade do exercício parece não ter influenciado a produção de fatores de crescimento indutores de neurogênese. Outro fator a ser considerado seria o tipo de exercício, que também poderia não estimular a produção desses fatores.

4.3.2 Área da Célula Neuronal

A área da célula neuronal no grupo DC apresentou-se significativamente maior que a do grupo NC (**Figura 10**), em concordância com os resultados obtidos por Pontes Filho (2003) e divergentes dos resultados referidos por Picanço Diniz e colaboradores (1998), Borba e colaboradores (2000). A natação teve influência apenas entre os animais desnutridos, onde o grupo que nadou apresentou área celular maior.

A medida de área representa um dos desafios para o estudo da morfometria tecidual, uma vez que esse parâmetro é influenciado pelo “instante dinâmico” no momento da obtenção da amostra (PONTES FILHO, 2003).

Picanço Diniz e colaboradores (1998), Borba e colaboradores (2000) sugeriram que neurônios podem modificar sua área conforme o estímulo recebido em um determinado momento, podendo posteriormente voltar à sua condição de “normalidade”, significando que a variação da área celular pode representar uma modificação transitória. De fato, diante de estímulos, fisiológicos ou não, um tecido pode apresentar diferentes padrões que se refletem no número de suas células, ou na área destas. Considerando que essas são condições adaptativas, supõe-se que a medida celular é diretamente correlacionada ao momento metabólico da célula (RUBIN, 2006).

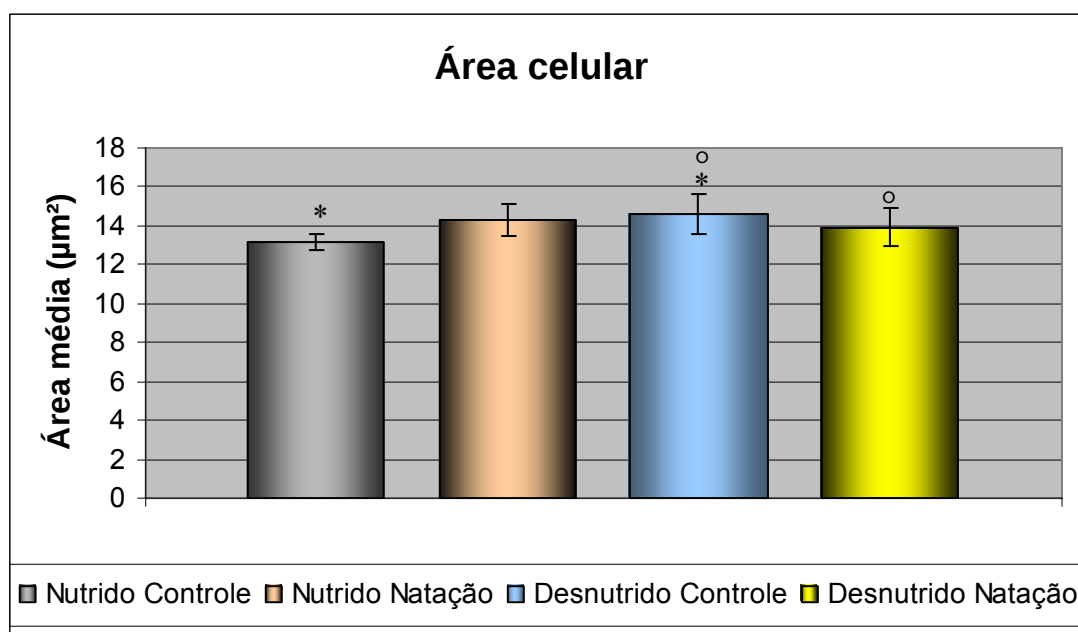


Figura 10 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre a área neuronal do córtex motor dos animais com 24 dias de idade. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,05$.

5. CONCLUSÕES

A partir do protocolo experimental proposto e dos resultados obtidos conclui-se que a natação em animais desnutridos:

- Não influenciou os parâmetros de desenvolvimento somático avaliados: evolução do peso corporal, Eixo Látero-Lateral do Crânio e comprimento da cauda;
- Isoladamente não induz modificação no peso cerebral relativo ou absoluto;
- Não interfere na densidade neuronal, porém induz significativo aumento da área dos neurônios do córtex motor.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIGAIL, L. F.; DINO, A. G.; ALISON, J. F. Intrauterine Programming of Physiological Systems: Causes and Consequences. **Physiology**, v. 21, p. 29–37, 2006.

ACC/ SCN. **5th Report on the world nutrition situation**. Geneva ACC/SNC, 2004.

ALIPPI, R. M. et al. Effect of protein-energy malnutrition in early life on the dimensions and bone quality of the adult rat mandible. **Archives of Oral Biology**, v.47, p. 47–53, 2002.

ARAÚJO- FILHO, J. L. F. et al. Análise histomorfométrica do coração de ratos expostos indiretamente ao etanol e à desnutrição crônica durante o período perinatal. **R. Ci. méd. biol.**, v. 6, n. 1, p. 17-25, 2007.

BARROS, K.M.F.T.; FRAGOSO, A.G.; OLIVEIRA, A.L.B. Influências do ambiente podem alterar a aquisição de habilidades motoras? Uma comparação entre pré-escolares de creches públicas e privadas. **Arq. Neuro-Psiquiatr.** v.61, n.2 A, p.170-175, 2003.

BARROS, K.M.F.T. et al. A regional model (Northeastern Brazil) of induced malnutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 9, n. 1-2, p. 99-104, 2006.

BENADE, J. E.; MARTINEZ-MALDONADO, M. The impact of malnutrition on kidney function. **Miner Electrolyte Metab**, v. 24, p. 20-26, 1998

BENEFICE, E.; FOUERE, T.; MALINA, R.M. Early nutritional history and motor performance of Senegalese children, 4-6 years of age. **Ann Hum Biol**, v.26, p. 443-455, 1999.

BONJOUR, J. P. et al. Protein intake and bone growth. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 26, p. 153-166, 2001.

BONNATO, F. et al. Effect of protein malnutrition on redox state of the hippocampus of rat. **Brain Res**, v. 16, n. 5, p. 395-411, 2005.

BORBA, J.M.C.; ARAÚJO, M.S.; GUEDES, R.C.A. ; MANHÃES DE CASTRO, R. Permanent and transitory morphometric changes of NADPH diaphorase containing neurons in the rat visual cortex after early malnutrition. **Brain Research Bulletin**, v.53, n.2, p.193-201, 2000.

BRASILEIRO FILHO, G. In: **Bogliolo, Patologia**, 7^a ed, Ed. Guanabara Koogan, 2006.

CASPERSEN, C. J; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. **Public Health Reports**, v. 100, v. 02, p. 126-131, 1985.

CARDOSO-SILVA, C.D. et al. A exposição crônica ao álcool e a desnutrição interferem no desenvolvimento do fígado durante o período perinatal. **Rev Bras Nutr Clin**;n. 22, v.3, p.220-252, 2007

COLOMBO, M.; PARRA de La, A.; Lopez, I. Intellectual and physical outcome of children undernourished in early life is influenced by later environmental conditions. **Dev Med Child Neurol**, v.34, p. 611-22,1992.

DA SILVA HERNANDES, A. et al. Effects of different malnutrition techniques the behavior of rats tested in elevated T-maze. **Behavior Brain Research**, v. 162, p.240-245, 2005.

DEIRÓ, T.C.B.J. *et al.* **Neonatal treatment with citalopran, a selective serotonin reuptake inhibitor, alters the growth of organs in rats.** Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 47 (2): p.107-111, 2002.

DING, Y. *et al.* Exercise pre-conditionning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis an cellular overexpression of neutrophin. **Neurosciense**, v.124, n. 3, p. 583-591, 2004.

DOBBING, J. Vulnerable periods in devolping brain. In: Davison NA, Dobbing J, editors. **Appllied neurochemistry**. Oxford: Blackwell, p. 287-316,1968.

DOBBING, J. Vulnerable periods of brain development. In: **CIBA FOUNDATION SYMPHOSIUM**, 1972, Amsterdam. Lipids, Malnutrition and Developing Brain. Amsterdam: Elsevier, p. 9-29, 1972.

DUFFY, L. Breastfeeding after strenuous aerobic exercise: a case report. **J. Hum. Lact.**, v.13, n.2, p.145-146, 1997.

FAHERTY, C.J.; KERLEY, D.; SMEYNE, R.J. A Golgi-Cox morphological analysis of neuronal changes induced by environmental enrichment. **Brain Res Dev Brain Res**, v. 141, n. 1-2, p. 55-61, 2003.

FALBO, A.R., ALVES, J.G.B. Desnutrição grave: alguns aspectos clínicos e epidemiológicos de crianças hospitalizadas no Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), **Brasil. Cad. Saúde Pública**, v.18, n.5, p.1473-1477, 2002.

FEOLI A.M. et al. Effects of protein malnutrition on oxidative status in rat brain. **Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 160-165, 2006.

FERNANDEZ, V. et al. NADPH- d positive neurons in the developing somatosensory cortex of the rat: effects of early and late environmental enrichment. **Developmental Brain Research**, n.107, p.299-307, 1998.

FRANÇOLIN-SILVA, A. L.; ALMEIDA, S. S. The interaction of housing condiction and acute immobilization stress on the elevated plus- maze behaviors of protein-malnourished rats. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 37, p. 1035-1042, 2004.

FUKUDA, M. T. H; FRANÇOLIN-SILVA, A. L.; ALMEIDA, S. S. Early postnatal protein malnutrition affects learning and memory in the distal but not in the proximal cue version of the Moris water maze. **Behav Brain Res**, v. 133, p. 271-277, 2002.

GARRIGA, J.; CUSSÓ, R. Effect of starvation on glycogen and glucose metabolism in different areas of the rat brain. **Brain Res**, p. 591: 277-82, 1992.

GONZÁLEZ- BARRANCO, J.; MRÍOS- TORRES, J. Early Malnutrition and Metabolic Abnormalities Later in Life. **Nutrition Reviews**, v. 62, n. 7, p. 134- 139, 2004.

GOULD E.; TANAPAT P. Stress and hippocampal neurogenesis. **Biol Psychiatry**, v.46, n.11, p. 1472-1479, 1999.

GUEDES, R. C. A.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; TEODÓSIO, N. R. Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. **Revista Ciência e Cultura**, Ano 56, n. 1, jan./fev./mar, p. 32-35. 2004.

GURMINI, J. et al. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **J Bras Patol Med Lab**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 4, p. 271-278, ago. 2005.

HERNANDES, A.S.; ALMEIDA, S.S. Postnatal Protein Malnutrition Affects Inhibitory Avoidance and Risk Assessment Behaviors in Two Models of Anxiety in Rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 6, n. 4, p. 213–219, 2003.

IVANOVIC, D.M. Does undernutrition during infancy inhibit brain growth and subsequent intellectual development? **Nutrition**, v.12, n.718, p.568-571, 1996.

JOFFE, M. Health, livelihoods, and nutrition in low-income rural systems. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 28, no. 2 (supplement), p. 227-236, 2007.

JOHN, J.; PATEL, M.S.; TELANG, S.D. Effects of maternal dietary protein content on cerebral ketone body-metabolizing enzymes in the progeny of rats. **J Nutr Biochem**, v. 2, p. 604-8, 1991.

JOHNSON, J D. et al. Growth retardation during the suckling period in expanded litters of rats: observations of growth patterns and protein turnover. **Growth, Development and Aging**. V.55, p.15-32, 1998.

KIM, S. W. et al. Dietary restriction modulates the norepine'hrine content and uptake of the heart and cardiac synaptosomes. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 207, p. 43-47, 1994.

KIM, H. et al. Modulation of immune responses by treadmill exercises in Sprague-Dawley rats. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 43, p. 99-104, 2003.

LEVITSKY, D. A.; STRUPP, B. J. Malnutrition and the brain: changing concepts, changing concerns. **The journal of nutrition**, v. 25, n.8S, p.2212S-2220S, 1995.

LISTER, J. P. et al. Effects of prenatal protein malnutrition on number of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. **Hippocampus**, 2004.

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

MANN-KAGELOH, I. Imaging of early brain injury and cortical plasticity. **Experimental Neurology**, n.190, p.84-90, 2004.

MIRANDA, L.P.; RESEGUE, R.; FIGUEIRAS, A.C.M.; A criança e o adolescente com problemas do desenvolvimento no ambulatório de pediatria. **J. Pediatr.**, v.79 supl.1, p.S33-S42, 2003.

MONTEIRO, J. S.; TEODÓSIO, N.R.; GUEDES, R.C.A. Long-lasting effects of early environmental stimulation on cortical spreading depression in normal and early malnourished adult rats. **Nutritional Neuroscience**. V.3, p. 29-40, 2000.

MONTENEGRO, M.; FRANCO, M. **Patologia processos gerais**, 4ª ed, p. 320, São Paulo: Ateneu, 1999.

MOOREN, F. et al. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. **J Appl Physiol**, v. 93, p. 147-153, 2002.

MORENO, J. A.; PENA, L.; DEL CASTILLO, M. **Manual de actividades acuáticas infantiles**, 2004.

MORGANE, P. J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosc Biobehav Rev**, v. 17. P. 91-128, 1993.

MORGANE, P. J. et al. The vulnerable brain and environmental risks: malnutrition and hazard assessment. **Plenum Press**, v. 1, p. 3-44, 1992.

MORGANE, P. J.; MILLER, M.; KEMPER, T. e col. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. **Neuroscience and behavioral reviews**, v.2, p.137-230, 1978.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosc Biobehav Rev**, n. 26, v. 4, p. 471-83, 2002.

NASCIMENTO, E. et al. Efeitos do estresse agudo de contenção, do estresse crônico de natação e da administração de glutamina sobre a liberação de superóxido por macrófagos alveolares de ratos. **Rev Nutr**, v. 20, n. 4, p. 387-396, 2007.

NASCIMENTO, E. et al. O exercício físico crônico altera o perfil leucocitário e a taxa de fagocitose de ratos estressados. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 4, n. 3, p.26-33, 2004.

NUNES, M.L. et al. Efeitos da desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. **J. Pediatria**, v.78, n.1, p.39-44, 2002.

OLIVEIRA, E. L. et al. A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean and arterial pressure and heart rate in Fisher rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 7, n. 4, p. 201-205, 2004.

ONIS, M. et al. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 71, p.703-712. 1993.

PASSOS, M. C. F. et al. Short and long term effect of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. **Nutritio Research**, v. 11, n. 20, p. 1603-1612, 2000.

PASSOS, M. C. F. et al. Short and long term effect of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. **Nutritio Research**, v. 11, n. 20, p. 1603-1612, 2000.

PESSOA, D.C.N.P. **Efeitos da desnutrição pela Dieta Básica Regional (DBR) em três gerações de ratos sobre a reprodução, crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos**. Tese (Doutorado em Nutrição), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, p.112, 1997.

PICANÇO-DINIZ, C.W. et al. NADPH-diaphorase containing neurons and biocytin-labelled axon terminals in the visual cortex of adult rats malnourished during the development. **Nutrition Neuroscience**, v.1, p.35-48, 1998.

POLLIT, E. et al. Nutrition in early life and the fulfillment of intellectual potential. Supplement: The INCAP follow-up study. **J Nutr**, v.125, p.1111S-8S, 1995.

PONTES-FILHO, N. T. **Morfometria e histoquímica do córtex cerebral de ratos jovens submetidos ao álcool e a desnutrição**. 2003. 63F. Tese (Doutorado em Nutrição) - Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

PRAZERES, F.G. et al. Exercício físico, crescimento e desenvolvimento: estudo em ratos jovens desnutridos pela dieta básica regional (DBR) e recuperados nutricionalmente. **Rev Bras Educ Fís Esp**, v.18, n.1, p.7-16, 2004.

RASMUSSEN, K.M. The influence of maternal nutrition on lactation. **Annu Rev Nutr**, v.12, p.103-17, 1992.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G.C. 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. **American Institute of Nutrition- Committee Report**, p. 1939- 1951, 1993.

REICHILING, T.D.; GERMAN, R. Z. Bones, Muscles and Visceral Organs of Protein-Malnourished Rats (*Rattus norvegicus*) Grow More Slowly but for Longer Durations to Reach Normal Final Size. **The Journal of Nutrition**, p. 2326- 2332, 2000.

RESNICK, O. et al. Developmental protein malnutrition: influences on central nervous system of the rat. **Neurosci BioBehav Rev**, v. 3, p. 223-46, 1979.

ROCHA-DE- MELO, A. P.; GUEDES, R. C. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. **Braz J Med Biol Res**, v. 30 (5), p. 663- 669, 1997.

ROCHA-DE-MELO, A. P. **Modificação do estado nutricional no rato recém-nascido, por manipulação do tamanho da ninhada: estudo morfo-funcional do sistema nervoso**. Recife, 2001.68F Tese (Doutorado em Nutrição), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

RODRIGUES-DE-ARAUJO, M.G. **Nutrição, atividade física e desenvolvimento cerebral: efeitos sobre a depressão alastrante cortical em ratos**. 2003.84F. Tese (doutorado em nutrição) - Departamento de Nutrição Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

ROMANI, S.A.M.; LIRA, P.I.C. Determinant factors of infant growth. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant**, v.4, n.1, p.15-23, 2004.

ROUQUAYROL, Z.; ALMEIDA-FILHO, N. **Epidemiologia e saúde**, 6ª Ed: MEDSI, 2003.

RUBIN, E.; GORTEIN, F; RUBIN, R.; SCHWARTING, R.; STRAYER, D. **Rubin patologia: bases clinicopatológicas da medicina**.4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,2006. 1625 p.

SANTOS-MONTEIRO, J.S. **Nutrição, privação sensorial específica e plasticidade cerebral**. 2002. 104F. Tese (Doutorado em Nutrição), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

SILVA, A. C. C. Efeitos da exposição ao etanol e da desnutrição sobre o córtex visual durante o desenvolvimento perinatal. **R. Ci. méd. biol.**, v.6, n.2, p.166-174, 2007.

SILVA, B. P. F. et al. Efeitos da exposição perinatal à aguardente sobre o córtex cerebral de ratos. **Revista Paraense de Medicina**, v. 20, p. 7-13, 2006.

SILVA, H. J. et al. Protocol of Mensuration to Avaliation of Indicators of Somatic Development of Wistar Rats. **Int. J. Morphol.**, 23(3):227-230, 2005.

SOBOTKA, T.J.; COOK, M.P.; BRODIE, R.E. Neonatal malnutrition: neurochemical, hormonal and behavioral manifestations. **Brain Resarc**, v.65, p. 443-457, 1974.

STOCH, M. B.; SMYTHE, P. M. Does Undernutrition during infancy inhibit brain growth and subsequent intellectual development? **Arch Dis Child**, n.38, p.546-552, 1963.

SUKHO L, FARRAR RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. **An Internacional Electronic Journal**, v.6 n.2, p.80-87, 2003.

TEODÓSIO, N.R. et al. A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, n.4, v.60, p.533-547, 1990.

TREJO J.M.; CARRO, E.; TORRES-ALEMÁN, I. Circulating Insulin-Like Growth Factor I mediates Exercise-Induced Increases in the Number of New Neurons in the Adult Hippocampus. **Journal of Neuroscience**, v.21, n.5, p.1628-1634, 2001.

UAVY, R.; DANGOUR, A. Nutrition in Brain Development and Aging: Role of Essential Fatty Acids. **Nutrition Review**, v. 64, n. 5, p. 24- 33, 2006.

VALADARES, C. T.; ALMEIDA, S. S. Early protein malnutrition changes learning and memory in spaced but not in condensed trials in the Moris water maze. **Nut Neurosc**, v. 8, v. 1, p. 39-47, 2005.

WAINWRIGHT, P.E. The role of nutritional factors in behavioral development in laboratory mice. **Behavioral brain research**, n.125, p.75-80, 2001.

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

ANEXOS

Anexo 1.

ARTIGO*

**EFEITOS DA NATAÇÃO PRECOCE SOBRE O CÓRTEX MOTOR DE
RATOS RECÉM-NASCIDOS DESNUTRIDOS**

JULIANNA DE AZEVEDO GUENDLER^{1,2}

KARLA MÔNICA FERRAZ TEXEIRA DE BARROS³

NICODEMOS TELES DE PONTES-FILHO^{1,6}

1. Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); 2. Mestrado em Patologia Geral – CCS/UFPE; 3. Departamento de Fisioterapia – CCS/UFPE 6. Departamento de Patologia – CCS/UFPE, Brasil.

Correspondence: Nicodemos Teles de Pontes-Filho - Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, LIKA, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE. Av. Prof. Moraes Rêgo s/n, Campus Universitário - 50670-910, Brazil. E-mail: ntpf@ig.com.br

* Submetido à *Revista da Associação Médica Brasileira*.

1. INTRODUÇÃO

Alguns estudos têm demonstrado que a desnutrição durante os primeiros estágios da vida tem um profundo efeito no desenvolvimento do cérebro. O tempo e a natureza do insulto nutricional afetam o desenvolvimento do cérebro em diferentes maneiras (MANN-KRAGELOH, 2004; UAVY, DANGOUR, 2006; JOFFE, 2007).

Em animais de laboratório, a desnutrição protéica em idades precoces provoca alterações no tecido nervoso tais como: significativa perda de neurônios do hipocampo e diminuição do peso do cerebelo, do hipocampo e do córtex cerebral, demonstrando uma maior vulnerabilidade dessas estruturas à agressão nutricional (LUKOYANOV, ANDRADE, 2000, MORGANE *et al*, 2002; LISTER, 2004).

O “período crítico de crescimento cerebral” é definido com a fase em que o cérebro está aumentando o seu peso de maneira particularmente rápida, acompanhada dos processos de desenvolvimento neuroquímico e neuroanatomicos (“brain growth spurt”) isto é, o período de pico de atividade de eventos específicos (neurogliogenese, migração e diferenciação celular (DOBBING, 1968; MORGANE *et al*, 1993). Neste momento há maior vulnerabilidade neural às alterações nutricionais e a outros fatores, como os estímulos decorrentes do enriquecimento ambiental (DOBBING, 1972; FERNÁNDEZ *et al*, 1998; MONTEIRO *et al.*, 2000; GUEDES, 2004).

Já há algum tempo têm-se prestado especial interesse na interação entre a nutrição e o estado de saúde e os efeitos fisiológicos do exercício físico sobre os indivíduos.

Pelo que se pode perceber o exercício físico melhora ou mantém o desempenho do indivíduo graças à nutrição adequada, porém, este pode se

deteriorar se existem deficiências nutricionais. A resposta frente ao exercício físico depende da idade, do tipo, da duração e da intensidade do esforço realizado (DUFFY, 1997 NASCIMENTO *et al*, 2007)

A exposição ao enriquecimento ambiental, caracterizado pela combinação de aumento do exercício, interações sociais e aprendizado, tem mostrado produzir efeitos positivos sobre o SNC (FAHERTY *et al*, 2003).

Segundo Moreno e colaboradores, 2004 a interação com água é um meio privilegiado para experimentar novas sensações e novos comportamentos motores, além de estimular os diversos sentidos.

A influência do exercício físico e seus efeitos benéficos ou estressantes sobre o cérebro vem sendo investigada há bastante tempo (GOULD *et al*, 1999), havendo, no entanto, divergência tanto em relação ao modelo ou tipo de atividade física quanto ao benefício ou não do mesmo às funções cerebrais (TREJO *et al*, 2001; SHORS, 2001; FAHERTY *et al*, 2003; DING *et al*, 2004).

Por outro lado, são escassos os trabalhos associando os efeitos do exercício sobre o desenvolvimento cerebral em diferentes condições de desnutrição (PRAZERES *et al*, 2004). Esta constatação, portanto, nos estimulou a investigar os potenciais efeitos do exercício físico sobre o cérebro de ratos desnutridos durante a lactação.

2. METODOLOGIA

2.1 Animais

Foram utilizados 42 ratos Wistar, machos recém nascidos, da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, que 24h após o parto, foram aleatoriamente distribuídos em gaiolas coletivas de forma a constituir oito ninhadas de seis filhotes junto a uma nutriz. A padronização do tamanho da ninhada teve como objetivo eliminar a desnutrição induzida por grandes ninhadas durante a lactação (RODRIGUES DE ARAÚJO, 2003; SANTOS MONTEIRO, 2002; ROCHA DE MELO, 2001). Os animais foram acondicionados em gaiolas plásticas (33x40x17cm) com grades metálicas e com livre acesso a água filtrada, mantidos em ambiente climatizado provido de sistema de exaustão, com ciclo claro-escuro de 12 horas (luminosidade entre 07h00min e 19h00min horas), com temperatura mantida em $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante todo o experimento.

2.2 Manipulação nutricional

Todas as nutrizes foram alimentadas durante o período de gestação com a dieta de manutenção do biotério com 23% de proteína (LABINA® - fornecida pela “Purina do Brasil”). A partir do período de aleitamento e até o dia do desmame (24º dia) duas nutrizes passaram a ser alimentadas com dieta com 17% de caseína (AIN-93G: gestação, lactação e crescimento) (REEVES, NIELSEN, FAHEY, 1993) e duas com dieta restrita em proteínas, com 8% de caseína. Os componentes das dietas estão representados na **Tabela 1**.

Tabela 1: Composição, por kg de ração, das dietas utilizadas nos diferentes grupos durante o período de aleitamento até o dia do desmame (24º dia).

COMPONENTES	NUTRIDO	DESNUTRIDO
Proteína (Caseína)	179,3 g	79,3g
Celulose	50g	50g
Mistura vitamínico	10g	10g
Mistura salínica	35g	35g
DL metionina	3g	3g
B. de colina	2,5g	2,5g
Óleo de soja	70ml	70ml
Amido de milho	650,2g	750,2g

Fonte: Biotério do Departamento de Nutrição/CCS/UFPE

Cada ninhada foi amamentada por uma mesma mãe durante todo o período de aleitamento, ocorrendo o desmame aos 24 dias de vida. Os filhotes, ao serem separados das mães, permaneceram em gaiolas individuais e receberam a mesma dieta que anteriormente vinha sendo oferecida às mães. Esta conduta foi adotada até o momento de realização da perfusão no 24º dia de vida.

2.3 Grupos experimentais

- 1) NUTRIDO CONTROLE (NC) (n=09) – filhotes amamentados por mães mantidas com a dieta caseína 17% e não submetidos à natação;
- 2) NUTRIDO COM NATAÇÃO (NN) (n=09) - filhotes amamentados por mães mantidas com a dieta caseína 17% e submetidos à natação;
- 3) DESNUTRIDO CONTROLE (DC) (n=12) - filhotes amamentados por mães mantidas com dieta caseína a 8% e não submetidos à natação;
- 4) DESNUTRIDO COM NATAÇÃO (DD) (n=12) - filhotes amamentados por mães mantidas com dieta caseína a 8% e submetidos à natação.

2.4 Parâmetros de desenvolvimento somático

O peso corporal dos animais foi aferido diariamente a partir do 1º dia após o nascimento até o 24º dia, sempre no mesmo horário, utilizando-se balança eletrônica (Marte, modelo S-000). O Eixo Látero-Lateral do Crânio (ELLC) e o comprimento da cauda (CC) foram aferidos nos 8º, 15º e 24º dias através do uso de paquímetro (SILVA, 2005).

2.5 Programa de natação

O programa de exercício foi constituído de sessões diárias de natação livre realizadas do 8º ao 23º dia de vida, sempre no mesmo horário. Os animais dos grupos submetidos ao exercício nadaram em recipientes plásticos (33x40x17cm) com nível da água mantido de acordo com o crescimento dos animais de forma que não permitisse que tocassem as patas no fundo do recipiente. A água foi mantida a uma temperatura de $31 \pm 1^\circ\text{C}$. Inicialmente foi realizada a adaptação dos animais ao ambiente aquático. Para isto, os mesmos foram ambientados durante 3 dias na proporção de 2, 5 e 10 minutos respectivamente. Portanto, a adaptação foi feita com os animais na idade de 8, 9 e 10 dias de vida. Descansaram no 11º e 12º dia de vida. A partir do 13º ao 17º dia nadaram progressivamente 15, 20, 25, 30 e 40 minutos/dia. Descansaram no 18º e 19º dia e do 20º ao 23º dia nadaram diariamente 40 minutos/dia. (RODRIGUES DE ARAÚJO, 2003; NASCIMENTO et al, 2004 NASCIMENTO et al, 2007),

Os animais não submetidos à natação foram mantidos nas mesmas condições dos animais que nadaram, porém o nível da água foi mantido baixo para

que não nadassem. Desta forma foram submetidos indistintamente, ao mesmo tipo de estresse aquático sem, contudo realizar o esforço.

2.6 Perfusão

Aos 24 dias de vida os animais foram anestesiados, por via intraperitoneal, com solução aquosa contendo uma mistura de Uretana a 10% (1g/Kg) e Cloralose a 0,4% (40mg/Kg). Para execução da perfusão procedeu-se abertura ampla do tórax para exposição do coração. Após a injeção de 1mL de heparina (Liquemine) no ventrículo esquerdo, para evitar a coagulação sanguínea, introduziu-se na mesma região uma cânula de polietileno, realizando-se em seguida a abertura do átrio direito. Desta forma, tanto o sangue quanto as soluções de perfusão foram eliminadas pela abertura, procedendo-se a perfusão com auxílio de um compressor. Para remoção do sangue e manutenção da integridade tecidual, foi injetada através da cânula uma solução de tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,2-7,4 (PBS), contendo 0,9% por volume de NaCl. A seguir, era perfundido formalina a 10% diluído em PBS a 0,9%, sendo a fixação do tecido controlada pelo volume inoculado e pela rigidez da cabeça e dos membros (SILVA *et al*, 2006).

2.7 Estudo histológico

Finalizada a perfusão, realizava-se a abertura do crânio, a retirada do encéfalo e exclusão do cerebelo, nervos cranianos e bulbo olfatório antes da pesagem do cérebro empregando balança analítica (ZEISS, modelo Sartorius). No momento anterior a microtomia, o cérebro era dividido em três partes, mediante dois cortes coronais utilizando-se navalha para microtomia e uma lupa estereoscópica

com ocular milimétrica (Olympus, modelo TGHM), obtendo-se três fragmentos: anterior, médio e posterior. Esse procedimento foi adotado para a obtenção dos cortes histológicos coronais seriados do córtex motor (fragmento anterior).

Os fragmentos do córtex motor selecionados foram incubados por um período mínimo de 48 horas em formalina 10% tamponada (PBS) e em seguida submetidos à rotina histológica e finalmente emblocados em parafina. A partir disto, foram obtidos cortes histológicos com 4µm de espessura através do micrótomo horizontal Yamato KoKi (JAPAN) e montados em lâminas albuminizadas. Os cortes obtidos foram corados pela Hematoxilina-Eosina (HE) para observação das características histológicas gerais e pelo método de Nissl para evidenciar os neurônios.

2.8 Análise histomorfométrica

A análise morfométrica foi feita a partir das imagens obtidas por meio de um sistema de captação constituído por uma vídeocamera Samsung (Modelo SHC-410NAD) acoplada a um microscópio óptico Leica com integração a um microcomputador com o software Power VCR II. Todas as imagens foram captadas com aumento final de 400X, em um total de 15 imagens por amostra encefálica.

Os parâmetros histológicos analisados foram a área do corpo celular e densidade dos neurônios por área.

Para obter as medidas da área do corpo celular neuronal foi utilizado o software Scion Image for Windows (Beta 4.0.3.) Foram analisadas em cada imagem as áreas de 10 células do córtex motor.

A densidade das células neuronais foi obtida através do software Mesurim_pro 1.0, calculando-se o número total de células neuronais em cada imagem digitalizada.

2.9 Método estatístico

Os resultados obtidos foram submetidos ao estudo estatístico, utilizando-se ANOVA “one-way” para avaliar as diferenças entre os grupos e ANOVA “two-way” para análise estatística da influência dos efeitos principais e das interações sobre parâmetros morfológicos, seguida do teste de Spjotvoll e Stoline para as comparações múltiplas, Testes t de student e de Tukey, com $p < 0,05$, por software PRISMA 3.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Corroborando estudos anteriores que correlacionam a desnutrição neonatal, período vulnerável do desenvolvimento, com a ocorrência de graves alterações morfofuncionais (MORGANE *et al*, 2002; OLIVEIRA, E. L *et al* e GONZÁLEZ-BARRANCO, RÍOS - TORRES, 2004; SILVA, 2005; CARDOSO-SILVA, 2007), nossos resultados apontam uma diminuição dos valores dos índices de desenvolvimento somático analisados, nos animais desnutridos.

3.1 Peso corporal

Na evolução ponderal pôde-se observar que o grupo Nutrido teve um ganho de peso superior ao grupo Desnutrido, a partir do 7º dia pós-natal ($p < 0,05$). Não havendo, contudo, diferença com relação à natação nos dois grupos.

Experimentalmente, tem sido demonstrado que a evolução da curva ponderal de ratos submetidos à desnutrição é menor do que a de nutridos (TEODÓSIO *et al*, 1990; KIM *et al*, 1994; PESSOA, 1997; BORBA *et al*, 2000; OLIVEIRA *et al*, 2004; BARROS *et al*, 2006; Silva *et al* e ARAUJO-FILHO *et al*, 2007). Alguns autores relatam redução no peso induzido pela desnutrição a partir do 4º dia pós-natal (JOHNSON *et al*, 1991; SOBOTKA, COOK e BRODIE, 1994). A redução de peso

neste trabalho foi a partir do 7º dia, o que pode ser atribuído a diferentes padrões das dietas de indução de desnutrição utilizados.

Com relação a não influência da natação na evolução ponderal dos animais, nossos resultados coincidem com os de Monteiro (2000), Rodrigues-de-Araújo e Sukho (2003), No entanto, Prazeres e colaboradores (2004), Nascimento e colaboradores (2004), Mooren e colaboradores (2002), Kim e colaboradores, Hernandes e colaboradores (2003) observaram que o exercício físico determinou um peso corporal menor.

A utilização de diferentes protocolos de exercício e a variação na faixa etária dos animais pode, justificar os resultados divergentes.

3.2 Eixo Látero-Lateral do Crânio e Comprimento da cauda

Na análise dos valores obtidos do Eixo Látero-Lateral do Crânio e do comprimento da cauda, observamos valores menores nos animais dos grupos Desnutrido quando comparados ao grupo Nutrido. Independente da dieta, a prática ou não da natação não levou a alterações em relação aos dois parâmetros considerados.

Nossos resultados coincidem com os de Barros e colaboradores (2003) no qual o eixo látero-lateral do crânio e o comprimento da cauda de animais desnutridos no período neonatal foram inferior a de animais nutridos. Alippi e colaboradores (2002) observaram que o comprimento do corpo de ratos neonatos desnutridos foi inferior ao dos nutridos.

É importante ressaltar o relato de Prazeres e colaboradores (2004) que utilizando ratos jovens desnutridos e posteriormente recuperados nutricionalmente, a prática da atividade física levou a um aumento do comprimento da cauda.

3.3 Peso do cérebro

Após o período de administração das dietas e da natação observou-se diferença significativa no peso cerebral entre os grupos quando houve associação desses fatores. Os animais do grupo DN apresentaram peso cerebral menor que o dos animais dos grupos NN ($p < 0,05$)

Nos trabalhos de Teodósio e colaboradores (1990); Pessoa (1997); Nunes e colaboradores (2000); Fukuda e colaboradores, 2002; Hernandez e colaboradores, 2003; Françolin-Silva, Almeida, 2004; Valadares, Almeida, 2005 e Silva e colaboradores, 2007, foi relatado que a desnutrição seria um fator negativo para o ganho de peso cerebral.

Monteiro (2000) e Prazeres e colaboradores (2004) descreveram que animais desnutridos submetidos à estimulação ambiental e exercício apresentaram menor peso cerebral.

No nosso estudo, comparando apenas a influência da dieta sobre o peso do cérebro, não houve diferença significativa entre os grupos, sendo a diferença significativa apenas na associação dos dois fatores (desnutrição + natação).

A discordância entre os resultados pode ser atribuída a diferenças no grau de desnutrição alcançado nas diferentes dietas utilizadas. O grau de desnutrição obtido com nossa dieta pode não ter sido suficiente para determinar redução no peso cerebral, só tendo efeito negativo quando houve associação com o exercício. Talvez por essa condição (desnutrição + natação) suplantem o fenômeno de “poupança cerebral”, descrito por Pessoa, (1997). Segundo este autor, durante o período de amamentação em ratos, o cérebro pode ser considerado como o órgão mais protegido contra injúrias, sugerindo que esse órgão recebe prioridade nutricional durante o crescimento.

3.4 Peso relativo do cérebro

Na análise dos valores de peso relativo do cérebro dos animais, foi observado um valor maior nos animais DC comparado com NC. Também foi encontrado um valor maior entre o grupo DN comparado com NN ($p < 0,05$)

Estudos demonstraram diminuição do peso relativo em diversos órgãos frente à agressão nutricional (DEIRÓ, 2002; MARINHO, 2004).

Em relação ao peso relativo do cérebro nossos achados são concordantes com os obtidos por Reichling e German (2000), onde o peso relativo dos animais desnutridos foi maior que dos nutridos. Este achado é também possivelmente justificado pelo fenômeno “poupança cerebral” já citado.

Prazeres e colaboradores (2004), no entanto, observou que o treinamento determinou aumento do peso relativo do cérebro em ratos desnutridos. A discordância com os nossos resultados nos parece estar relacionada à idade dos animais estudados, uma vez que neste caso o protocolo experimental empregou animais que não estavam no período crítico de desenvolvimento.

3.5 Densidade Neuronal

Foi observado um aumento significativo no número de neurônios por campo nos grupos desnutridos comparados aos nutridos, não havendo diferença entre os animais que nadaram e que não nadaram (**Figura 1**).

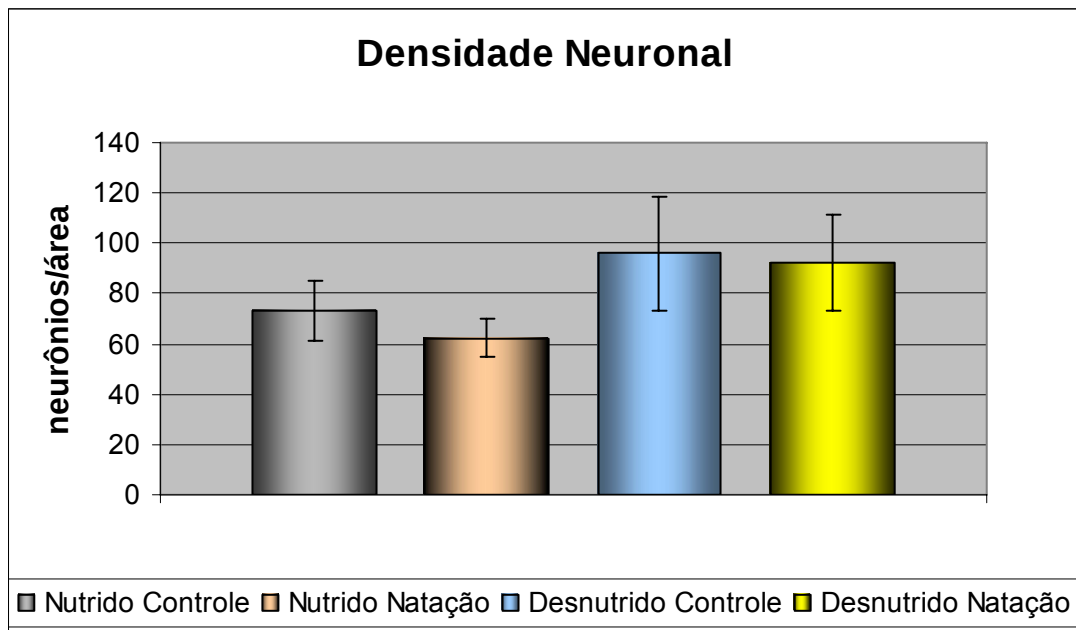


Figura 1 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre a densidade neuronal do córtex motor dos animais com 24 dias de idade. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,001$.

Nossos resultados estão em concordância com os de Fernandéz e colaboradores e Picanço Diniz e colaboradores (1998), Borba e colaboradores (2000) e Pontes Filho (2003) que relatam que o aumento da quantidade de células por campo no cérebro dos animais desnutridos pode ser atribuído ao efeito de empacotamento celular, determinado pela redução dos componentes da matriz extracelular da neurópila. Assim, ocorre uma aproximação das células resultando em uma falsa impressão de aumento no número de células.

Não foi observado impacto da natação sobre densidade neuronal no córtex motor de animais nutridos e desnutridos. Faherty e colaboradores (2003) ao estudar alterações morfológicas no hipocampo, induzida pelo enriquecimento ambiental, observou que o exercício físico isolado dos demais estímulos ambientais (interação social e aprendizado) não levava à alterações morfológicas nessa área.

Entretanto, dados da literatura relatam que fatores externos, incluindo o exercício, podem aumentar o número de neurônios por estimular a ação do fator de

crescimento derivado da insulina com efeitos tróficos sobre neurônios e células da glia (TREJO *et al*, 2001).

No nosso estudo a intensidade do exercício parece não ter influenciado a produção de fatores de crescimento indutores de neurogênese. Outro fator a ser considerado seria o tipo de exercício, que também igualmente poderia não estimular a produção desses fatores.

3.6 Área da Célula Neuronal

A área da célula neuronal no grupo DC apresentou-se significativamente maior que a do grupo NC (**Figura 2**), em concordância com os resultados obtidos por Pontes Filho (2003) e divergentes dos resultados referidos por Picanço Diniz e colaboradores (1998), Borba e colaboradores (2000). A natação teve influência apenas entre os animais desnutridos, onde o grupo que nadou apresentou uma área celular maior.

A medida de área representa um dos desafios para o estudo da morfometria tecidual, uma vez que esse parâmetro é influenciado pelo “instante dinâmico” no momento da obtenção da amostra (PONTES FILHO, 2003).

Picanço Diniz e colaboradores (1998), Borba e colaboradores (2000) sugeriram que neurônios podem modificar sua área conforme o estímulo recebido em um determinado momento, podendo posteriormente voltar à sua condição de “normalidade”, significando que a variação da área celular pode representar uma modificação transitória. De fato, diante de estímulos, fisiológicos ou não, um tecido pode apresentar diferentes padrões que se refletem no número de suas células, ou na área destas. Considerando que essas são condição adaptativa, supõe-se que a

medida celular é diretamente correlacionada ao momento metabólico da célula (RUBIN, 2006).

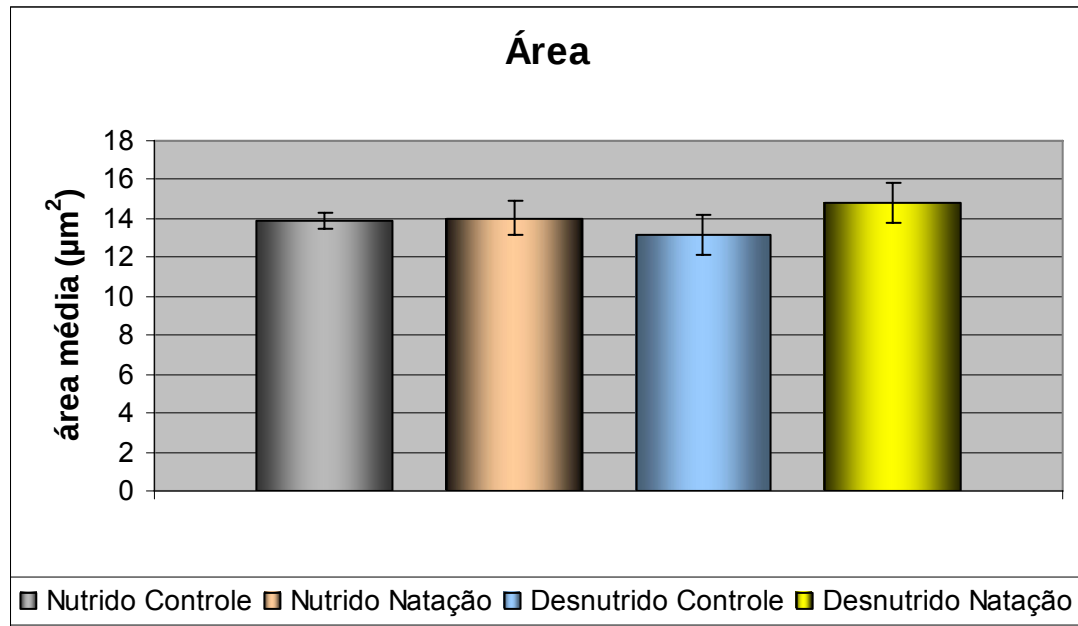


Figura 2 – Efeito da manipulação nutricional e/ou natação sobre a área neuronal do córtex motor dos animais com 24 dias de idade. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey. Símbolos (* °) iguais diferem estatisticamente entre si, com $p < 0,05$.

4. CONCLUSÕES

A partir do protocolo experimental proposto e dos resultados obtidos conclui-se que a natação em animais desnutridos não influenciou os parâmetros de desenvolvimento somático avaliados: evolução do peso corporal, Eixo Látero-Lateral do Crânio e comprimento da cauda; isoladamente não induz modificação no peso cerebral relativo ou absoluto e não interfere na densidade neuronal, porém induz significativo aumento da área do neurônio do córtex motor.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIGAIL, L. F.; DINO, A. G.; ALISON, J. F. Intrauterine Programming of Physiological Systems: Causes and Consequences **Physiology** 21: 29–37, 2006.
- ACC/ SCN. 5th **Report on the world nutrition situation**. Geneva ACC/SNC, 2004.
- ALIPPI, R. M. et al. Effect of protein-energy malnutrition in early life on the dimensions and bone quality of the adult rat mandible. **Archives of Oral Biology**, v.47, p. 47–53, 2002.
- ARAÚJO- FILHO, J. L. F. et al. Análise histomorfométrica do coração de ratos expostos indiretamente ao etanol e à desnutrição crônica durante o período perinatal. **R. Ci. méd. biol.**, v. 6, n. 1, p. 17-25, 2007.
- BARNARD, R.J.; EDGERTON, V.R.; PETER, J.B. Effect of exercise on skeletal muscle I. Biochemical and histochemical properties. **J. Appl. Physiol.** 28: 762-766, 1970.
- BARROS, K.M.F.T. et al. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 9, n. 1-2, p. 99-104, 2006.
- BARROS, K.M.F.T.; FRAGOSO, A.G.; OLIVEIRA, A.L.B. Influências do ambiente podem alterar a aquisição de habilidades motoras? Uma comparação entre pré-escolares de creches públicas e privadas. **Arq. Neuro-Psiquiatr**, v.61, n.2 A, p.170-175, 2003.
- BATISTA FILHO, M. Introdução a Nutrição, In: FIGUEIRA, F; FERREIRA, OS. et ALVES, J.G.B. **Pediatria – Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP)**, 2^a ed. Rio de Janeiro: MEDSI, p. 65-69, 1996.
- BENADE, J. E.; MARTINEZ-MALDONADO, M. The impact of malnutrition on kidney function. **Miner Electrolyte Metab**, v. 24, p. 20-26, 1998
- BENEFICE, E.; FOUERE, T.; MALINA, R.M. Early nutritional history and motor performance of Senegalese children , 4-6 years of age. **Ann Hum Biol**, v.26, p. 443-455, 1999.
- BONJOUR, J. P. et al. Protein intake and bone growth. **Canadian Journal of Applied Physiology**, v. 26, p. 153-166, 2001.
- BONNATO, F. et al. Effect of protein malnutrition on redox state of the hippocampus of rat. **Brain Res**, v. 16, n. 5, p. 395-411, 2005.
- BORBA, J.M.C. et al. Permanent and transitory morphometric changes of NADP-H diaphorase containing neurons in the rat visual cortex after early malnutrition. **Brain Research Bulletin**, v.53, n.2, p.193-201, 2000.
- BRASILEIRO FILHO, G. In: **Bogliolo, Patologia**, 7^a ed, Ed. Guanabara Koogan, 2006.
- CARDOSO-SILVA, C. D. et al. A exposição crônica ao álcool e a desnutrição interferem no desenvolvimento do fígado durante o período perinatal? **Rev Bras Nutr Clin**, v. 22, n. 3, p. 220-225, 2007.
- CASPERSEN, C. J; POWELL, K. E.; CHRISTENSON, G. M. Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health- related research. **Public Health Reports**, v. 100, v. 02, p. 126-131, 1985.

COLOMBO, M.; PARRA de La, A.; Lopez, I. Intellectual and physical outcome of children undernourished in early life is influenced by later environmental conditions. **Dev Med Child Neurol**, v.34, p. 611-22,1992.

DA SILVA HERNANDES, A. et al. Effects of different malnutrition techniques the behavior of rats tested in elevated T-maze. **Behavior Brain Research**, v. 162, p.240-245, 2005.

DEIRÓ, T.C.B.J. *et al.* Neonatal treatment with citalopran, a selective serotonin reuptake inhibitor, alters the growth of organs in rats. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco, Recife*. 47 (2): p.107-111, 2002.

DING, Y. *et al.* Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neutrophin. **Neuroscience**, v.124, n. 3, p. 583-591, 2004.

DOBBING, J. Vulnerable periods in developing brain. In: Davison NA, Dobbing J, editors. **Applied neurochemistry**. Oxford: Blackwell, p. 287-316,1968

DOBBING, J. Vulnerable periods of brain development. In: **CIBA FOUNDATION SYMPOSIUM**, 1972, Amsterdam. Lipids, Malnutrition and Developing Brain. Amsterdam: Elsevier, p. 9-29, 1972.

DUFFY, L. Breastfeeding after strenuous aerobic exercise: a case report. **J. Hum. Lact.**, v.13, n.2, p.145-146, 1997.

EDGERTON, V. R.; GERCHMAN, L.; CARROW, L. Histochemical changes in rat skeletal muscle after exercise. **Exptl. Neural**. 24:110-123, 1969.

EDGERTON, V. R.; SIMPSON, D. R. The intermediate muscle fiber of rats and guinea pigs. **J. Histochem. Cytochem**. 17: 828-838, 1969.

FAHERTY, C.J.; KERLEY, D.; SMEYNE, R.J. A Golgi-Cox morphological analysis of neuronal changes induced by environmental enrichment. **Brain Res Dev Brain Res**, v. 141, n. 1-2, p. 55-61, 2003.

FALBO, A.R., ALVES, J.G.B. Desnutrição grave: alguns aspectos clínicos e epidemiológicos de crianças hospitalizadas no Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP), **Brasil. Cad. Saúde Pública**, v.18, n.5, p.1473-1477, 2002.

FERNANDEZ, V. et al. NADPH- d positive neurons in the developing somatosensory cortex of the rat: effects of early and late environmental enrichment. **Developmental Brain Research**, n.107, p.299-307, 1998.

FRANÇOLIN-SILVA, A. L.; ALMEIDA, S. S. The interaction of housing condition and acute immobilization stress on the elevated plus- maze behaviors of protein- malnourished rats. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 37, p. 1035-1042, 2004.

FUKUDA, M. T. H; FRANÇOLIN-SILVA, A. L.; ALMEIDA, S. S. Early postnatal protein malnutrition affects learning and memory in the distal but not in the proximal cue version of the Morris water maze. **Behav Brain Res**, v. 133, p. 271-277, 2002.

GARRIGA, J.; CUSSÓ, R. Effect of starvation on glycogen and glucose metabolism in different areas of the rat brain. **Brain Res**, p. 591: 277-82, 1992.

GONZÁLEZ- BARRANCO, J.; MRÍOS- TORRES, J. Early Malnutrition and Metabolic Abnormalities Later in Life. **Nutrition Reviews**, v. 62, n. 7, p. 134- 139, 2004.

GOULD E.; TANAPAT P. Stress and hippocampal neurogenesis. **Biol Psychiatry**, v.46, n.11, p. 1472-1479, 1999.

GUEDES, R. C. A.; ROCHA-DE-MELO, A. P.; TEODÓSIO, N. R. Nutrição adequada: a base do funcionamento cerebral. **Revista Ciência e Cultura**, Ano 56, n. 1, p. 32-35. 2004.

GURMINI, J. et al. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **J Bras Patol Med Lab**, v. 41, n. 4, p. 271-278, 2005.

HERNANDES, A.S.; ALMEIDA, S.S. Postnatal Protein Malnutrition Affects Inhibitory Avoidance and Risk Assessment Behaviors in Two Models of Anxiety in Rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 6, n. 4, p. 213–219, 2003.

IVANOVIC, D.M. Does undernutrition during infancy inhibit brain growth and subsequent intellectual development? **Nutrition**, v.12, n.718, p.568-571, 1996.

JOFFE, M. Health, livelihoods, and nutrition in low-income rural systems. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 28, no. 2 (supplement), p. 227-236, 2007.

JOHN, J.; PATEL, M.S.; TELANG, S.D. Effects of maternal dietary protein content on cerebral ketone body-metabolizing enzymes in the progeny of rats. **J Nutr Biochem**, v. 2, p. 604-8, 1991.

JOHNSON, J D. et al. Growth retardation during the suckling period in expanded litters of rats: observations of growth patterns and protein turnover. **Growth, Development and Aging**. v.55, p.15-32, 1998.

KEMPERMANN G.; KUHN H. G.; GAGE F. H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. **Nature**, v. 386, n. 6624, p. 493-495,1997.

KIM, H. et al. Modulation of immune responses by treadmill exercises in Sprague-Dawley rats. **J Sports Med Phys Fitness**, v. 43, p. 99-104, 2003.

KIM, S. W. et al. Dietary restriction modulates the norepine'hrine content and uptake of the heart and cardiac synaptosomes. **Proc Soc Exp Biol Med**, v. 207, p. 43-47, 1994.

LEVITSKY, D. A.; STRUPP, B. J. Malnutrition and the brain: changing concepts, changing concerns. **The journal of nutrition**, v. 25, n.8S, p.2212S-2220S, 1995.

LISTER, J. P. et al. Effects of prenatal protein malnutrition on number of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. **Hippocampus**, 2004.

LUCAS, A. Programming by Early Nutrition: An Experimental Approach **The Journal of Nutrition**.p.401-406, 1998.

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

MANN-KAGELOH, I. Imaging of early brain injury and cortical plasticity. **Experimental Neurology**, n.190, p.84-90, 2004.

MARINHO, M.O.C. **Efeito da manipulação neonatal do sistema serotoninérgico do plexo mioentérico de ratos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

MIRANDA, L.P.; RESEGUE, R.; FIGUEIRAS, A.C.M.; A criança e o adolescente com problemas do desenvolvimento no ambulatório de pediatria. **J. Pediat.**, v.79 supl.1, p.S33-S42, 2003.

MONTEIRO, J. S.; TEODÓSIO, N.R.; GUEDES, R.C.A. Long-lasting effects of early environmental stimulation on cortical spreading depression in normal and early malnourished adult rats. **Nutritional Neuroscience**, v.3, p. 29-40, 2000.

MONTENEGRO, M.; FRANCO, M. **Patologia processos gerais**, 4ª ed, p. 320, São Paulo: Ateneu, 1999.

MOOREN, F. et al. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. **J Appl Physiol**, v. 93, p. 147-153, 2002.

MORENO, J. A.; PENA, L.; DEL CASTILLO, M. **Manual de actividades acuáticas infantiles**, 2004.

MORGANE, P. J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosc Biobehav Rev**, v. 17. P. 91-128, 1993.

MORGANE, P. J. et al. The vulnerable brain and environmental risks: malnutrition and hazard assessment. **Plenum Press**, v. 1, p. 3-44, 1992.

MORGANE, P. J.; MILLER, M.; KEMPER, T. e col. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. **Neuroscience and behavioral reviews**, v.2, p.137-230, 1978.

MORGANE, P.J.; MOKLER, D.J.; GALLER, J. R. Effects of protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosc Biobehav Rev**, n. 26, v. 4, p. 471-83, 2002.

NASCIMENTO, E. et al. Efeitos do estresse agudo de contenção, do estresse crônico de natação e da administração de glutamina sobre a liberação de superóxido por macrófagos alveolares de ratos. **Rev Nutr**, v. 20, n. 4, p. 387-396, 2007.

NASCIMENTO, E. et al. O exercício físico crônico altera o perfil leucocitário e a taxa de fagocitose de ratos estressados. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v. 4, n. 3, p.26-33, 2004.

NUNES, M.L. et al. Efeitos da desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. **J. Pediatria**, v.78, n.1, p.39-44, 2002.

OLIVEIRA, E. L. et al. A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean and arterial pressure and heart rate in Fisher rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 7, n. 4, p. 201-205, 2004.

ONIS, M. et al. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 71, p.703-712. 1993.

PASSOS, M. C. F. et al. Short and long term effect of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. **Nutrition Research**, v. 11, n. 20, p. 1603-1612, 2000.

PEDROSA, M. L; MORAES- SANTOS, T. Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats. **Braz J Med Biol Res**, v. 20, p. 331-338, 1987.

PESSOA, D.C.N.P. **Efeitos da desnutrição pela Dieta Básica Regional (DBR) em três gerações de ratos sobre a reprodução, crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos**. Tese (Doutorado em Nutrição), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, p.112, 1997.

PICANÇO-DINIZ, C.W. et al. NADPH-diaphorase containing neurons and biocytin-labelled axon terminals in the visual cortex of adult rats malnourished during the development. **Nutrition Neuroscience**, v.1, p.35-48, 1998.

POLLIT, E. et al. Nutrition in early life and the fulfillment of intellectual potential. Supplement: The INCAP follow-up study. **J Nutr**, v.125, p.1111S-8S, 1995.

PONTES-FILHO, N. T. **Morfometria e histoquímica do córtex cerebral de ratos jovens submetidos ao álcool e a desnutrição**. 2003. 63F. Tese (Doutorado em Nutrição) - Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

PRAZERES, F.G. et al. Exercício físico, crescimento e desenvolvimento: estudo em ratos jovens desnutridos pela dieta básica regional (DBR) e recuperados nutricionalmente. **Rev Bras Educ Fís Esp**, v.18, n.1, p.7-16, 2004.

RASMUSSEN, K.M. The influence of maternal nutrition on lactation. **Annu Rev Nutr**, v.12, p.103-17, 1992.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY JR, G.C. 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. **American Institute of Nutrition- Committee Report**, p. 1939- 1951, 1993.

REICHILING, T.D.; GERMAN, R. Z. Bones, Muscles and Visceral Organs of Protein-Malnourished Rats (*Rattus norvegicus*) Grow More Slowly but for Longer Durations to Reach Normal Final Size. **The Journal of Nutrition**, p. 2326- 2332, 2000.

RESNICK, O. et al. Developmental protein malnutrition: influences on central nervous system of the rat. **Neurosci BioBehav Rev**, v. 3, p. 223-46, 1979.

ROCHA-DE- MELO, A. P.; GUEDES, R. C. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. **Braz J Med Biol Res**, v. 30 (5), p. 663- 669, 1997.

ROCHA-DE-MELO, A. P. **Modificação do estado nutricional no rato recém-nascido, por manipulação do tamanho da ninhada: estudo morfo-funcional do sistema nervoso**. Recife, 2001.68F Tese (Doutorado em Nutrição), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

RODRIGUES-DE-ARAUJO, M.G. **Nutrição, atividade física e desenvolvimento cerebral: efeitos sobre a depressão alastrante cortical em ratos**. 2003.84F. Tese (doutorado em nutrição) - Departamento de Nutrição Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

ROMANI, S.A.M.; LIRA, P.I.C. Determinant factors of infant growth. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant**, v.4, n.1, p.15-23, 2004.

ROUQUAYROL, Z.; ALMEIDA-FILHO, N. **Epidemiologia e saúde**, 6ª Ed: MEDSI, 2003.

RUBIN, E.; GORTEIN, F; RUBIN, R.; SCHWARTING, R.; STRAYER, D. **Rubin patologia: bases clinicopatológicas da medicina**.4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 2006. 1625 p.

SANTOS-MONTEIRO, J.S. **Nutrição, privação sensorial específica e plasticidade cerebral**. 2002. 104F. Tese (Doutorado em Nutrição), Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

SILVA, A. C. C. Efeitos da exposição ao etanol e da desnutrição sobre o córtex visual durante o desenvolvimento perinatal. **R. Ci. méd. biol.**, v.6, n.2, p.166-174, 2007.

SILVA, B. P. F. et al. Efeitos da exposição perinatal à aguardente sobre o córtex cerebral de ratos. **Revista Paraense de Medicina**, v. 20, p. 7-13, 2006.

SILVA, H. J. et al. Protocol of Mensuration to Avaliation of Indicators of Somatic Development of Wistar Rats. **Int. J. Morphol.**, 23(3):227-230, 2005.

SIMPSON, J.R.; CIPP, N.; HOUSTON, M.E. Lymphocyte subset responses torepeated submaximal exercise in men. **J Appl Physiol** , v. 68, p.1069-1074, 1990.

SOBOTKA, T.J.; COOK, M.P.; BRODIE, R.E. Neonatal malnutrition: neurochemical, hormonal and behavioral manifestations. **Brain Resarc**, v.65, p. 443-457, 1974.

STOCH, M. B.; SMYTHE, P. M. Does Undernutrition during infancy inhibit brain growth and subsequent intellectual development? **Arch Dis Child**, n.38, p.546-552, 1963.

SUKHO L, FARRAR RP. Resistance training induces muscle-specific changes in muscle mass and function in rat. **An Internacional Electronic Journal**, v.6 n.2, p.80-87, 2003.

TEODÓSIO, N.R. et al. A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, n.4, v.60, p.533-547, 1990.

TREJO J.M.; CARRO, E.; TORRES-ALEMÁN, I. Circulating Insulin-Like Growth Factor I mediates Exercise-Induced Increases in the Number of New Neurons in the Adult Hippocampus. **Journal of Neuroscience**, v.21, n.5, p.1628-1634, 2001.

UAVY, R.; DANGOUR, A. Nutrition in Brain Development and Aging: Role of Essential Fatty Acids. **Nutrition Review**, v. 64, n. 5, p. 24- 33, 2006.

VALADARES, C. T.; ALMEIDA, S. S. Early protein malnutrition changes learning and memory in spaced but not in condensed trials in the Moris water maze. **Nut Neurosc**, v. 8, n. 1, p. 39-47, 2005.

WAINWRIGHT, P.E. The role of nutritional factors in behavioral development in laboratory mice. **Behavioral brain research**, n.125, p.75-80, 2001.

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

Anexo 2.

Aprovação do Comitê de ética em pesquisa envolvendo animais.

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



Ofício nº 058/06

Recife, 18 de setembro de 2006

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Prof. Nicodemos Teles de Pontes-Filho**
Departamento de Patologia - UFPE
Processo nº 014846/2006-42

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado **“Desnutrição e natação precoces: efeitos sobre o córtex cerebral de ratos”**.

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,


Prof. Silene Carneiro do Nascimento
 Presidente CEEA

CCB: Integrar para desenvolver

Anexo 3.

Comprovante de submissão do artigo à Revista da Associação Médica Brasileira.

REVISTA DA
Associação Médica Brasileira

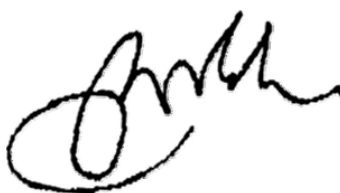
São Paulo, 12 de Fevereiro de 2008

Circular N° 096-06

Prezada Sra. Julianna Guendler,

Informo que o trabalho "**Possíveis Efeitos da natação precoce sobre o córtex motor de ratos recém-nascidos desnutridos**" foi recebido pela Revista da Associação Médica Brasileira e registrado com o n° 3264.
Oportunamente, entrarei em contato com Vossa Senhoria.

Atenciosamente,



Bruno Caramelli
Editor/RAMB

Associação Médica Brasileira
R. São Carlos do Pinhal, 324
01333-903 São Paulo SP - Brazil
Tel: +55 11 3178-6800
Fax: +55 11 3178-6816

Anexo 4.

Normas para submissão do artigo



REVISTA DA

Associação Médica Brasileira

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Objetivo e política editorial

A **Revista da Associação Médica Brasileira**, indexada nas bases de dados Scielo, LILACS, MEDLINE e Capes - Qualis C Internacional, tem por objetivo publicar artigos que contribuam para o conhecimento médico e que não tenham sido publicados em outros periódicos.

A Revista aceita para publicação Artigos Originais e Correspondências. Trabalhos de outra natureza poderão ser aceitos para publicação, dependendo da avaliação do Corpo Editorial.

Estilo e preparação de originais

O trabalho deverá ser redigido em corpo 12, no máximo em 15 laudas de 30 linhas cada, espaço 2,0 linha, com margem de 3cm de cada lado, no topo e no pé de cada página. Todas as páginas, excluída a do título, devem ser numeradas.

Página título

Deverá conter:

- a) O título do trabalho, também na versão em inglês, deverá ser conciso e não exceder 75 toques ou uma linha;
- b) nome, sobrenome do autor e instituição a qual pertence o autor;
- c) nome e endereço da instituição onde o trabalho foi realizado;
- d) Carta de apresentação, contendo assinatura de todos os autores, responsabilizando-se pelo conteúdo do trabalho, porém apenas um deve ser indicado como responsável pela troca de correspondência. Deve conter telefone, fax, e endereço para contato.
- e) Aspectos éticos. Carta dos autores revelando eventuais conflitos de interesse (profissionais, financeiros e benefícios diretos ou indiretos) que possam influenciar ter influenciado os resultados da pesquisa ou o conteúdo do trabalho. Na carta deve constar ainda, quando cabível, a data da aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição à qual estão vinculados os autores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Devem ser citados todos os autores, quando até seis; acima deste número, citam-se os seis primeiros seguidos de et al. O periódico deverá ter seu nome abreviado de acordo com a LIST OF JOURNALS INDEXED IN INDEX MEDICUS do ano corrente, disponível também *on-line* no site: www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html, ou, se não possível, a Associação de Normas Técnicas (ABNT). Exemplos:

1. Parkin D. M., Clayton D., Black R. J., Masuyer E., Friedl H. P., Ivanov E., et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* v. 73, p. 1006-12, 1996.
2. Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med.* v. 124, p. 980-3, 1996.
3. The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust.* v. 164, p. 282-284, 1996.
4. Cancer in South Africa [editorial]. (1994) *S Afr Med J* 84:15.
5. Phillips SJ, Whisnant JP. (1995) Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*. 2nd ed. New York: Raven Press p.465-78.
6. Morse SS. (1995) Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial on line] Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[24 screens]. Available from: URL:<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.
7. Leite DP (1998) Padrão de prescrição para pacientes pediátricos hospitalizados: uma abordagem farmacoepidemiológica [dissertação]. Campinas: Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.

FIGURAS, TABELAS, GRÁFICOS, ANEXOS

No original deverão estar inseridos tabelas, fotografias, gráficos, figuras ou anexos. Devem ser apresentados apenas quando necessários, para a efetiva compreensão do texto e dos dados, totalizando no máximo três.

- a) As figuras, devem ser originais e de boa qualidade. Admitimos a inclusão de tabelas e figuras em número excedente ao recomendado ou coloridas, mediante pagamento do valor equivalente ao custo de ½ página da revista. As letras e símbolos devem estar na legenda.
- b) As legendas das figuras e tabelas devem permitir sua perfeita compreensão, independente do texto.
- c) As tabelas, com título e legenda, deverão estar em folhas individuais.
- d) Cada figura deverá conter, no verso, o nome do primeiro autor e o número da figura, e sua posição deverá ser indicada com seta. Figuras e tabelas, em folhas individuais, deverão ser numeradas separadamente, usando algarismo arábico, na ordem em que aparecem no texto.

ABREVIACÕES/NOMENCLATURA

O uso de abreviações deve ser mínimo. Quando expressões extensas precisam ser repetidas, recomenda-se que suas iniciais maiúsculas as substituam após a primeira menção. Esta deve ser seguida das iniciais entre parênteses. Todas as abreviações em tabelas e figuras devem ser definidas nas respectivas legendas.

Apenas o nome genérico do medicamento utilizado deve ser citado no trabalho.

TERMINOLOGIA

Visando o emprego de termos oficiais aos trabalhos publicados, a Revista da Associação Médica Brasileira adota a Terminologia Anatômica Oficial Universal, aprovada pela Federação Internacional de Associações de Anatomistas (FIAA). As indicações bibliográficas para consulta são as seguintes: FCAT - IFAA (1998) - International Anatomical Terminology - Stuttgart- Alemanha - Georg Thieme Verlag ou CTA-SBA (2001)- Terminologia Anatômica . S. Paulo . Editora Manole.

© **2006 Associação Médica Brasileira**

Rua São Carlos do Pinhal, 324
01333-903 São Paulo SP - Brasil
Tel.: +55 11 3178-6800
Fax: +55 11 3178-6816



Anexo 5.

Trabalhos desenvolvidos durante o mestrado

ESTUDO EXPERIMENTAL DA DESNUTRIÇÃO E NATAÇÃO: EFEITOS SOBRE A MUSCULATURA ESQUELÉTICA. **Guendler, J.A**, Alves, R. M. R.; Araújo-Filho, J.L. S.; Melo-Junior; M. R.; Pontes-Filho, N. T. Departamento de Nutrição, Departamento de Patologia, Laboratório de Immunopatologia Keizo Asami, UFPE. In: II Reunião Regional FeSBE 2007.

EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE O TECIDO ÓSSEO DE RATOS NEONATOS DESNUTRIDOS Lima, B.R.D.A ;Torres, A.C.; Esteves, A.C.F.;**Guendler, J.A**.;Franca, T.J. B.de M.; 6Moraes, S.R.A de.; Departamento de Anatomia, UFPE;Mestrado em Patologia, UFPE. In: XXII Reunião Anual da FeSBE 2007.

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO CORTEX CEREBRAL DE RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO E ATIVIDADE FÍSICA NO PERÍODO DA LACTAÇÃO. Alves, R.M.R. **Guendler, J.A**; Barros, K. M. F. T.; Pontes-Filho, N. T.; Melo-Junior; M. Departamento de Nutrição, Departamento de Patologia, Laboratório de Immunopatologia Keizo Asami, UFPE In: II Reunião Regional FeSBE 2007.

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO CORAÇÃO DE RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO E ATIVIDADE FÍSICA NO PERÍODO DA LACTAÇÃO. Alves, R.M.R.; Souza, V. T.; **Guendler, J.A**; Andrade, M. A.; Pontes-Filho, N. T. Departamento de Nutrição, Departamento de Patologia, Laboratório de Immunopatologia Keizo Asami, UFPE In: II Reunião Regional FeSBE 2007.

EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO E/OU EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE OS PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO E DO MÚSCULO DIAFRAGMA DE RATOS. Franca, T.J.B. de M.; **Guendler, J.A**.; Alves, R.M.R.; Silva, L.C.V.; Moraes, S.R.A.¹; Departamento de Anatomia, Mestrado em Patologia, UFPE. In: II Reunião Regional FeSBE 2007.

AVALIAR O EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A MORFOMETRIA DA FIBRA MUSCULAR ESQUELÉTICA EM RATOS. Cabral, B. C. N.; **Guendler, J.A**.;Paz, S. T.; Moraes, S.R.A.; Departamento de Anatomia, Mestrado em Patologia, UFPE. In: II Reunião Regional FeSBE 2007.