



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA**

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE A MORFOLOGIA E
MORFOMETRIA DO CORAÇÃO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À
DESNUTRIÇÃO PERINATAL**

AMÉRICA DE ARAÚJO PALMEIRA

**RECIFE
2011**

AMÉRICA DE ARAÚJO PALMEIRA

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE A MORFOLOGIA E
MORFOMETRIA DO CORAÇÃO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À
DESNUTRIÇÃO PERINATAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Geral do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do Grau de Mestre em Patologia.

Linha de Pesquisa: Patologia da Nutrição e seus Distúrbios.

Orientador: Prof^o Dr^o Hilton Justino

Co-orientação: Prof^a Dr^a Carol Virgínia Góis Leandro e Prof^a Dr^a Ana Elisa Toscano.

**RECIFE
2011**

Palmeira, América de Araújo

Efeito do treinamento físico moderado sobre a morfologia e morfometria do coração de ratos adultos submetidos à desnutrição perinatal / América de Araújo Palmeira. – Recife: O Autor, 2011.

57 folhas: il., fig. e Graf.; 30 cm.

Orientador: Hilton Justino

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2011.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Treinamento físico. 2. Plasticidade fenotípica. 3. Coração. 4. Cardiomiócitos. 5. Ratos. I. Justino, Hilton. II. Título.

613.71

CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2011-216



Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Patologia

Av. Prof. Moraes Rego s/n - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife - PE
Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - térreo
Fone/Fax: (81) 2126.8529
<http://www.pemap.ufpe.br> <http://www.pospat.ufpe.br>



***DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
PATOLOGIA.***

AUTORA: AMÉRICA DE ARAÚJO PALMEIRA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA

NOME DA DISSERTAÇÃO: **“EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO
SOBRE A MORFOLOGIA E MORFOMETRIA DO CORAÇÃO DE RATOS
ADULTOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PERINATAL”.**

ORIENTADOR: PROF. DR. HILTON JUSTINO DA SILVA

CO – ORIENTADORA: Profa. Dra. CAROL VIRGÍNIA GÓIS LEANDRO E Profa. Dra. ANA
ELISA TOSCANO.

DATA DA DEFESA: 26 DE AGOSTO DE 2011.

BANCA EXAMINADORA:

Prof.^a Dr.^a. Wylla Tatiana Ferreira e Silva

Prof.^a/ Dr.^a. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

Prof.^a. Dr.^a. Marco Antônio Fidalgo Amorim

DEDICATÓRIA

À minha mãe, **Sônia de Araújo Palmeira**, pelo amor incondicional e por
me ensinar a lutar com coragem.

Ao meu “pai do coração”, meu **Tio Zé** (*in memoriam*), por ter me amado
como filha, por seu exemplo de determinação e força e por ter acreditado
tanto na minha capacidade.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por toda demonstração do seu amor em minha vida, por segurar na minha mão e me guiar sempre. Obrigada, Senhor, pelo conhecimento adquirido, mas, sobretudo por me presentear com pessoas tão iluminadas e cheias do Teu amor nessa caminhada.

Aos meus pais, Lourival Palmeira Araújo (*in memoriam*) e Sônia de Araújo Palmeira, pelo imenso amor e dedicação em minha vida e por me ensinar as lições que não estão nos livros. Painho, obrigada por ter sido meu pai! Sempre tão carinhoso e presente. Mainha, obrigada por ser minha mãe, por me incentivar a crescer sempre, por tudo que você foi capaz de renunciar para me oferecer o melhor que podia. Sou eternamente grata!!! Amo muito vocês!!!

Ao meu “pai do coração”, meu Tio Zé (*in memoriam*), por ter sempre acreditado em mim e ter me mostrado que quando se tem fé e coragem para caminhar, a estrada é mais bonita!!!

À minha vizinha linda, Marieta Gomes dos Santos (*in memoriam*), pela confiança que sempre teve em mim e, principalmente, por me ensinar que o mais importante na vida é ser feliz. Saudades do seu abraço, das nossas conversas e confidências...

Ao meu irmão, Gledson de Araújo Palmeira, pelo abraço quando saiu o resultado da seleção do mestrado pelo orgulho que sente de mim.

À minha tia Vanda (*in memoriam*), por ter me ajudado a estudar no melhor colégio do mundo, Colégio Cristo Rei, onde foi formada toda a minha base, por torcer sempre por mim e por me dizer incansavelmente: “Mequinha, você vai longe”.

A todos da minha família pela torcida e incentivo e orações. Amo muito todos vocês.

Ao amor da minha vida, meu namorado, Alexandre Calado Botelho, pelo incentivo constante, pela compreensão e por me ensinar a arte da paciência. Eu te amo muito e para sempre, meu príncipe encantado!!!

As minhas queridas estagiárias, Déborah (Derbitcha) e Michelly (Mitchel), sem vocês esse sonho não seria possível. Obrigada pela dedicação, seriedade e

disponibilidade durante todo o tempo dedicado a esse trabalho. Ele também é mérito de vocês, minhas companheiras!!! As meninas lindas do meu core!!!

Às minhas amigas e companheiras de todas as horas, da vida toda Belisa Duarte (Marhu), Danielle Maux (Inxiridah) e Claudluce Pimentel (Cacau) por estarem sempre e para sempre do meu lado. Amaaaa!!!

À minha amiga Thaysa Souza (Thataia, minha pequena gigante), por seu carinho, seu zelo, seu companheirismo, sua força e, acima de tudo por sua amizade. Você foi um grande presente de Deus na minha vida. Aeca, ama!

À minha amiga Rennalli Alves (Nalli), pela força, pelas conversas, pelas dicas e por me dizer: “Ô, mulher tenha calma que você consegue”.

Aos companheiros da turma do mestrado em Patologia pelos momentos de alegria e angústia compartilhados. Em especial a Rafaella Barreto (Rafinha), que se tornou minha amiga e compartilhou tantos momentos comigo.

A todos que fazem o grupo de pesquisa “NNI – Origem desenvolvimentista da saúde e da doença”, Em especial a Iracema Pires-de-Melo que segurou na minha mão no início do trabalho. Aprendi muito com vocês!

Às minhas orientadoras, Carol Leandro e Ana Elisa Toscano, também responsáveis pela missão que aqui se cumpre. Obrigada pela receptividade, confiança e estímulo.

A Todos que fazem o programa de pós-graduação em Patologia Geral por toda ajuda durante esse período. Em especial ao Professor Hilton Justino da Silva por também ser meu orientador, ao professor Nicodemos Telles de Pontes Filho pelo bom humor que sempre acolhe a todos os alunos e pela disponibilidade em ajudar e a secretária Tatiane pelo carinho e disponibilidade.

A todos que fazem o Centro de Reabilitação – IMIP pela torcida e pelo carinho.

Às amigas da clínica Fisiocorpos pela torcida e pela ajuda no período das aulas.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desse sonho. MUITÍSSIMO obrigada!!!

***Sem sonhos, a vida não tem brilho.
Sem metas, os sonhos não têm alicerces.
Sem prioridades, os sonhos não se tornam
reais.***

(Augusto Cury)

RESUMO

Foram analisados os efeitos moduladores do treinamento físico moderado sobre parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo de ratos adultos submetidos à desnutrição protéica perinatal. Ratos machos da linhagem Wistar ($n = 27$) foram divididos em dois grupos: controle (C, $n = 16$ caseína 17%) e desnutrido (D, $n = 11$ caseína 8%), de acordo com a dieta oferecida à mãe durante a gestação e lactação. Após o período de desmame, todos os animais receberam dieta padrão do biotério (Labina®). Aos 60 dias de vida, os dois grupos foram subdivididos de acordo com a realização do treinamento físico: Controle (C: caseína 17%, $n=8$); Desnutrido (D: caseína 8%, $n= 4$; Treinado (T: caseína 17%, $n= 8$) e Desnutrido Treinado (DT: caseína 8%, $n= 7$). O treinamento físico moderado foi realizado em esteira motorizada (8 semanas, 5 dias/semana, 60 min/dia e VO_2 max de 70%). Após o treinamento os animais foram sacrificados e o coração foi analisado para estudos dos parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo. A histomorfometria do coração e de suas células foi realizada com o programa de análise de imagens Image J 1.44p®. O crescimento corporal foi avaliado ao longo do experimento. Observou-se menor peso corporal ao final da lactação no grupo D ($26,09 \pm 1,93$) em relação ao C ($37,70 \pm 3,06$) ($p<0,05$). A taxa de crescimento foi menor em D ($0,96 \pm 0,08$) em relação a C ($1,55 \pm 0,12$). O percentual de ganho de peso corporal (%GPC) foi maior no grupo D ($284,49 \pm 22,54$) em relação a C ($214,99 \pm 8,24$) na lactação, bem como no pós-desmame D ($630,72 \pm 36,16$) e C ($458,81 \pm 28,31$) ($p<0,05$). Esse percentual, no entanto, diminuiu no grupo DT em relação ao D e ao T após o início do treinamento físico moderado ($p<0,05$). Não houve diferença no peso absoluto (C = $1,39 \pm 0,08$; D = $1,53 \pm 0,30$; T = $1,44 \pm 0,06$; DT = $1,61 \pm 0,08$) bem como no peso relativo do coração (C = $0,003 \pm 0,0001$; D = $0,0048 \pm 0,0009$; T = $0,004164 \pm 0,0001$; DT = $0,0046 \pm 0,0003$) quando os grupos foram comparados entre si ($p>0,05$). A área do ventrículo esquerdo não sofreu alteração nos animais estudados ($p>0,05$). Em relação à área da cavidade do VE ocorreu diminuição em DT ($29,42 \pm 2,40$) em relação a C ($71,58 \pm 6,13$) e D ($83,28 \pm 13,74$) ($p<0,05$). A espessura da parede do VE, apresentou um aumento em DT ($6955,84 \pm 406,02$) quando comparados a C ($4678,83 \pm 465,79$) e D ($3981,40 \pm 246,18$). Houve uma diminuição da área dos cardiomiócitos em D ($317,78 \pm 9,87$) quando comparados a C ($441,20 \pm 29,40$) ($p<0,05$). DT apresentou aumento da área de secção transversa dos cardiomiócitos ($438,59 \pm 27,41$) quando comparados a D ($317,78 \pm 9,87$) ($p>0,05$). Os resultados demonstram que a desnutrição pode causar alterações na estrutura cardíaca e que o treinamento físico moderado é capaz de influenciar tais alterações principalmente em termos de estrutura celular.

Palavras-chave: plasticidade fenotípica, treinamento físico, coração, cardiomiócitos, ratos

ABSTRACT

In the present study, it was analyzed the effects of moderate physical training on the left ventricle morphometric parameters of adult rats submitted to a perinatal low-protein diet. Male *Wistar* rats ($n = 27$) were randomly divided into two groups: control (C, $n = 16$ casein 17%) and low-protein diet (D, $n = 11$ casein 8%), according to their mother's diet during gestation and lactation. At weaning, animals were fed by standard chow (*Labina*[®]). At 60th day of life, both groups were divided into two groups according to their physical training: Control (C: casein 17%, $n=8$); low-protein diet (D: casein 8%, $n= 4$; trained (T: casein 17%, $n= 8$) and low-protein diet and trained (DT: casein 8%, $n= 7$). Moderate physical training was performed in a treadmill (8 weeks, 5 days/week, 60 min/day and VO_{2max} 70%). After the protocol of physical training, animals were killed and left ventricle was analyzed in terms of morphometric. The heart histomorphometry and their cells were analyzed by the software Image J 1.44p[®]. Body growth was analyzed throughout the experiment. D group showed a reduction in body weight at weaning (26.09 ± 1.93) when compared to C (37.70 ± 3.06) ($p<0.05$). Growth rate was also reduced in D group D (0.96 ± 0.08) when compared to C ($1,55 \pm 0,12$). In addition, the percentage of body gain was higher in the D (284.49 ± 22.54) than C (214.99 ± 8.24) in lactation and at weaning D (630.72 ± 36.16) and C (458.81 ± 28.31) ($p<0.05$). DT animals showed a decrease in terms of body weight gain when compared to both T and D ($p<0.05$). There was no difference in terms of absolute weight of the heart when groups were compared (C = 1.39 ± 0.08 ; D = 1.53 ± 0.30 ; T = 1.44 ± 0.06 ; DT= 1.61 ± 0.08) as well as in relative terms (C = 0.003 ± 0.0001 ; D = 0.0048 ± 0.0009 ; T = 0.004164 ± 0.0001 ; DT = 0.0046 ± 0.0003). Left ventricular area was not different in all animals ($p>0.05$). In terms of ventricular cavity area, there was a reduction in the DT group (29.42 ± 2.40) when compared to C group (71.58 ± 6.13) and D (83.28 ± 13.74) ($p<0,05$). Thickness of left ventricle was higher in the DT group (6955.84 ± 406.02) when compared to C (4678.83 ± 465.79) and D (3981.40 ± 246.18). There was a reduction in the area of cardiomyocytes in D group (317.78 ± 9.87) when compared to C (441.20 ± 29.40) ($p<0.05$). DT showed a increase in the sectional area of cardiomyocytes when compared to D ($317.78 \pm 9,87$) ($p>0.05$). Data demonstrate the perinatal low protein diet can induce changes in the cardiac structure and physical training can influence those alterations mainly in terms of cell structure.

Key-words: Phenotype plasticity, physical training, heart, cardiomyocytes, rats

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	
ABSTRACT	
1. APRESENTAÇÃO	
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
3. HIPÓTESE	18
4. OBJETIVOS	18
4.1 Objetivo geral	18
4.2 Objetivos específicos	18
5. MATERIAL E MÉTODOS	19
5.1 Animais e formação dos grupos experimentais	19
5.2 Manipulação da dieta	20
5.3 Protocolo de treinamento físico	21
5.4 Desenho experimental	24
5.5 Avaliação da evolução ponderal	24
5.5.1 Ganho de peso corporal	24
5.5.2 Taxa de crescimento	25
5.6 Retirada dos tecidos	25
5.7 Avaliação alométrica	26
5.8 Rotina histológica	27
5.9 Análise da morfologia cardíaca	27
5.9.1 Mensuração da área de secção transversa, perímetro transverso, área da cavidade e espessura da parede do ventrículo esquerdo	27

5.9.2 Mensuração da área dos cardiomiócitos	29
5.10 Análise estatística	29
6. RESULTADOS	30
6.1 Artigo original – “EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS DO VENTRÍCULO ESQUERDO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PERINATAL”	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXO – Carta de aceite do Comitê de Ética em Pesquisa- UFPE	57

1. APRESENTAÇÃO

O sistema cardiovascular completa sua formação e maturação ainda na vida uterina e é responsável por manter os níveis normais de nutrientes e oxigênio às células do corpo. Estudos evidenciam que a patogênese cardiocoronariana pode iniciar-se ainda na vida embrionária mostrando que danos ocorridos na fase em que as células estão se multiplicando ou sofrendo maturação podem repercutir por toda a vida, sendo essa fase denominada de período crítico do desenvolvimento. Nesse período de alta plasticidade, a exposição a situações adversas tanto internas, como restrição do crescimento intra-uterino e hipóxia, quanto ambientais, como exposição a compostos tóxicos, restrição alimentar e prática de atividades físicas podem ter repercussões durante o desenvolvimento. Com isso, pode haver uma série de adaptações no organismo, sobretudo do sistema cardiovascular, para manter seu equilíbrio interno. O fenômeno biológico pelo qual um estímulo ou insulto, quando aplicado em fases críticas do desenvolvimento, podem conduzir a alterações permanentes na estrutura e função dos tecidos é conhecido como “plasticidade durante o desenvolvimento” ou “origem desenvolvimentista da saúde e da doença”.

Estudos indicam que uma nutrição desbalanceada é um dos fatores não genéticos que mais interferem no desenvolvimento normal dos órgãos e na etiologia de doenças crônico-degenerativas. O mecanismo subjacente ao desenvolvimento dessas afecções parece estar associado ao efeitos deletérios das deficiências nutricionais no período crítico do desenvolvimento. Evidências epidemiológicas têm demonstrado que a carência de nutrientes na infância eleva o risco de obesidade e doenças correlatas (hipertensão, diabetes tipo II, dislipidemia, hiperinsulinemia e doenças cardíacas) na vida adulta. Sendo a desnutrição precoce uma realidade ainda bastante evidente no Brasil, é possível que a incidência elevada de doenças cardiovasculares, em brasileiros, possa estar associada às carências nutricionais precoces. Com o objetivo de reverter esse quadro, tornou-se prioritário, para as políticas públicas, o incentivo à alimentação adequada e a prática regular de exercícios físicos, uma vez que indivíduos ativos possuem menor risco de desenvolver obesidade e cardiopatias.

Trabalhos envolvendo os efeitos do treinamento físico e sua interação com o sistema cardiovascular mostram adaptações positivas atenuando prejuízos em situações patológicas, tais como no controle da pressão sanguínea atuando nos

mecanismo controladores da pressão arterial sistêmica e fatores de risco a diversas condições cardiovasculares.

Neste contexto que envolve a plasticidade fenotípica, há estudos que demonstram alterações na ontogênese de reflexos, comportamento alimentar, resposta imune, propriedades elásticas e contráteis do músculo esquelético e morfologia cardíaca. Entretanto, ainda são escassos os estudos analisando os efeitos do treinamento físico moderado sobre a morfologia cardíaca de animais submetidos à desnutrição perinatal. Com isso, pesquisas desenvolvendo esta abordagem são necessárias.

O presente estudo está testando a hipótese de que o treinamento físico moderado reverte os efeitos da desnutrição perinatal sobre aspectos morfométrico e morfológicos do coração. Assim, os objetivos deste estudo foram: avaliar o peso absoluto e relativo do coração, a área de secção transversa do ventrículo esquerdo, área da cavidade do ventrículo esquerdo, espessura da parede do ventrículo esquerdo e a área de secção transversa dos cardiomiócitos de ratos adultos treinados e que sofreram desnutrição perinatal.

Esse trabalho foi realizado no Laboratório de Estudos em Nutrição e Instrumentação Biomédica (LENIB) do Departamento de Nutrição; no Laboratório de Imagens do Departamento de Anatomia e no Laboratório de Histotecnologia do Departamento de Patologia, todos da Universidade Federal de Pernambuco e teve como orientadores o Prof. Dr. Hilton Justino da Silva, a Prof^a. Dra. Carol Virgínia Góis Leandro e a Prof^a. Dra. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O coração é o primeiro órgão a concluir a formação em vertebrados e tem um papel fundamental na distribuição de nutrientes e oxigênio para o embrião (Buckingham, Meilhac *et al.*, 2005). O crescimento cardíaco pré-natal é devido, principalmente, à hiperplasia de cardiomiócitos. No entanto, ao final do desenvolvimento intra-uterino e no início da vida pós-natal, o processo hiperplásico dá lugar ao crescimento celular por hipertrofia. Esse processo coincide com a fase de diferenciação terminal do órgão, o que torna o miocárdio um tecido mais especializado (Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005). Através de seu potencial contrátil, o músculo cardíaco confere ao coração a função de uma bomba de sucção e pressão. As porções atriais e ventriculares trabalham em conjunto para fornecer o fluxo sanguíneo adequado para todos os órgãos do corpo atendendo às necessidades metabólicas em resposta às interferências do meio externo e mantendo a homeostase (Buckingham, Meilhac *et al.*, 2005; Moore e Persaud, 2008).

Estudos indicam que a patogênese cardiocoronariana pode iniciar-se ainda na vida uterina (Barker, 1993; 1995; 2007; Hanson, Cherezov *et al.*, 2008; Hanson e Gluckman, 2005; Ozanne, Jensen *et al.*, 2005). O organismo em desenvolvimento é passível de sofrer influências de fatores externos e vir a apresentar modificações bioquímicas e estruturais (Morgane, Mokler *et al.*, 2002). Essa fase de susceptibilidade, em que ocorrem multiplicação e diferenciação celular, recebe a denominação de período crítico do desenvolvimento (Dobbing e Sands, 1985; Morgane, Mokler *et al.*, 2002).

Cada sistema fisiológico possui um período crítico que varia de acordo com a espécie. Em humanos, o período de susceptibilidade do sistema nervoso dá-se do terceiro trimestre de desenvolvimento intra-uterino e continua por dois a quatro anos após o nascimento (Dobbing e Sands, 1985; Morgane, Mokler *et al.*, 2002) e em ratos, a maturação do sistema nervoso ocorre no período de lactação (Carlson, Stead *et al.*, 2007; Hodyl, Walker *et al.*, 2007; Smart, 1981). Já no coração, a fase crítica do desenvolvimento ocorre entre a terceira e a quinta semana de gestação no homem e na segunda semana gestacional de camundongos (Garcia-Martinez e Schoenwolf, 1993; Sadler, 2000) e ratos (Carmo *et al.*, 2004). Nesse período, a exposição a situações adversas tais como exposição a fármacos e desequilíbrio

nutricional, exige do organismo uma série de adaptações necessárias à sobrevivência (Hanson e Gluckman, 2005; Penalosa e Arias-Stella, 2007; Porrello, Widdop *et al.*, 2008).

Indivíduos mal nutridos no início da vida, onde o período de crescimento ocorre de forma acelerada, apresenta sérias mudanças nas quais o organismo poderá ajustar-se para sobreviver (Engelbregt, Houdijk *et al.*, 2000; Gluckman e Hanson, 2004; Hanson e Scogin, 2008; Hanson e Gluckman, 2008; Hanson e Godfrey, 2008; Kumon, Yamamoto *et al.*, 2010). Um dos mecanismos usados é a diminuição na taxa de divisão celular, com possibilidade de alterar a “plasticidade” da estrutura e função do sistema (Barker e Clark, 1997; Byrn, Mordenti *et al.*, 1990; Dennison, Fall *et al.*, 1997).

O fenômeno biológico pelo qual um estímulo ou insulto, quando aplicado em fases críticas do desenvolvimento, podem conduzir a alterações permanentes na estrutura e função dos tecidos é conhecido como “plasticidade durante o desenvolvimento” ou “origem desenvolvimentista da saúde e da doença” (Gluckman e Hanson, 2007).

Em humanos e animais, estudos evidenciam que a dieta hipoprotéica durante a gestação e lactação gera alterações fisiológicas e morfológicas que se traduzem em danos funcionais podendo repercutir por toda a vida (Gianini, Vieira *et al.*, 2005; Ozanne e Hales, 2002). Estudos epidemiológicos mostram que a restrição nutricional sofrida pela mãe no período gestacional pode acarretar conseqüências na vida adulta, tais como obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares (Barker, Osmond *et al.*, 1989; Gonzalez Zapata, Alvarez-Dardet Diaz *et al.*, 2006; Oken e Gillman, 2003; Phillips, 2001; Ravelli, Stein *et al.*, 1976). Roedores que sofreram desnutrição perinatal apresentam diminuição do peso corporal, maior quantidade de gordura corpórea, hiperglicemia e hiperinsulinemia (Fagundes, Moura *et al.*, 2007). O déficit nutricional no período perinatal tem ocasionado efeitos deletérios tanto no crescimento corpóreo, demonstrado pela taxa de crescimento (Gama, Carvalho *et al.*, 2007) quanto no desenvolvimento de órgãos e sistemas, como por exemplo, no coração (Cheema, Dent *et al.*, 2005; Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005; Toscano, Amorim *et al.*, 2008).

Um estudo eletrocardiográfico e ecocardiográfico com crianças desnutridas graves foi visto diminuição do volume cardíaco caracterizado pela redução do

diâmetro interno e da espessura da parede ventricular esquerda (Saraiva, Brindeiro Filho *et al.*, 1992). Em ratos, a restrição protéico-calórica (7% caseína) durante a gestação, um dos modelos de indução de desnutrição, interfere na proliferação celular do coração (Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005).

Em ratos, cujas mães sofreram restrição protéica durante a gestação, observou-se aumento da taxa de apoptose de cardiomiócitos, bem como, redução no número dessas células ao nascimento (Cheema, Dent *et al.*, 2005; Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005). Outro trabalho com ratos submetidos à restrição protéica na gestação mostrou diminuição da fração de ejeção associada à diminuição da espessura da parede ventricular esquerda nas duas primeiras semanas pós-natais, seguida de uma recuperação da fração de ejeção e apresentando hipertrofia ventricular esquerda ao final da quadragésima semana de vida (Cheema, Dent *et al.*, 2005).

Efeitos decorrentes da desnutrição perinatal e da plasticidade fenotípica no coração são evidenciados em estudos epidemiológicos e experimentais (Cheema, Dent *et al.*, 2005; Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005; Fioretto, Querioz *et al.*, 2002; Saraiva, Brindeiro Filho *et al.*, 1992; Toscano, Amorim *et al.*, 2008). A diminuição do número de cardiomiócitos, seja por diminuição da proliferação celular ou pelo aumento da taxa de apoptose, pode predispor ao aparecimento de doenças cardíacas em fases tardias da vida (Porrello, Widdop *et al.*, 2008).

Roedores desnutridos no período neonatal apresentam alterações na morfologia cardíaca, como, diminuição do tamanho, peso, área de secção transversa e perímetro transverso do coração, bem como da área de secção transversa e perímetro transverso dos cardiomiócitos aos 71 dias de vida (Toscano, Amorim *et al.*, 2008). Outro estudo com ratos desnutridos da lactação até a décima semana de vida mostrou uma redução da massa do ventrículo esquerdo em relação ao volume do coração e disfunção diastólica do miocárdio por aumento da rigidez passiva, aos 91 dias de vida (Fioretto, Querioz *et al.*, 2002). Estudos propõem que mudanças no estilo de vida como uma dieta equilibrada e prática de exercício físico regular podem prevenir o aparecimento dessas afecções (Gupta, 2008; Ivanovic, Castro *et al.*, 1996; Schramm, Oliveira *et al.*, 2004; Who, 2003).

A atividade física regular está relacionada à diminuição do risco de desenvolver obesidade e doenças correlatas (Coppen, Risser *et al.*, 2008; Leandro,

Martins De Lima *et al.*, 2006). O termo atividade física refere – se a qualquer movimento do músculo esquelético que demande gasto energético. Quanto ao nível de atividade física, o indivíduo pode ser classificado como ativo ou inativo a depender da quantidade de calorias semanais gastas em um esforço físico (Perkins, Pivarnik *et al.*, 2007). Assim, um indivíduo é considerado ativo quando se engaja em atividades físicas (caminhadas, andar de bicicleta, natação, atividades domésticas, atividades no trabalho, atividades de lazer e recreação) durante 30 minutos levando a um dispêndio energético acima do metabolismo basal em torno de 1500 Kcal/semana (Perkins, Pivarnik *et al.*, 2007).

O exercício físico e o treinamento físico referem-se à atividade física realizada sistematicamente seguindo a magnitude do esforço (intensidade, duração, frequência e tipo) (Silveira e Denadai, 2002). Quanto à intensidade, o exercício físico pode ser classificado como leve, moderado e intenso. Essa classificação toma como base a realização de testes de esforço máximo para avaliar o aumento da concentração de lactato no sangue, o consumo máximo de oxigênio (VO_{2max}), ou a frequência cardíaca máxima (FC_{max}). Em exercícios de intensidade leve e moderada, a concentração de lactato no sangue permanece estável (variando entre 2 até 4 mmol/L), ou seja, o lactato é produzido em menores concentrações (Silveira e Denadai, 2002). O VO_{2max} e a FC_{max} são os parâmetros fisiológicos mais comumente utilizados em estudos para referenciar a intensidade do esforço. Assim, um exercício leve refere a 20 a 50% do VO_{2max} , moderado 50 a 70% do VO_{2max} e intenso um acima de 80% do VO_{2max} e FC proporcional as respectivas intensidades (Leandro, Martins De Lima *et al.*, 2006).

Quando o exercício físico é realizado de forma sistemática e com a intensidade do esforço controlada, passa-se a referir como treinamento físico (Gluckman, Cutfield *et al.*). Assim como o exercício físico, o treinamento físico pode ser classificado como leve, moderado e intenso (Leandro, Martins De Lima *et al.*, 2006). Estudos relatam que o treinamento físico com 65-80% do VO_{2max} ou 70-85% da FC_{max} está associado ao aumento do metabolismo oxidativo e melhoria da capacidade física (Brum, Forjaz *et al.*, 2004).

A prática regular de exercícios físicos leva a uma série de adaptações morfofisiológicas no organismo que variam conforme as características do treinamento. No coração, um dos primeiros relatos do efeito da atividade física foi

feito por Bergmann em 1884, ao notar que a relação peso do coração/peso corporal de animais selvagens era muito maior quando comparada com os mesmo ao serem domesticados. Henschen, em 1899, foi quem primeiro descreveu o coração de atleta através de técnica diagnóstica simples de exame físico. O tamanho do coração foi determinado através de percussão torácica cuidadosamente realizada nos esquiadores de campo antes e após uma corrida. Mais tarde, tais resultados foram confirmados pelo emprego da radiografia e por evidências de autópsia. Posteriormente, o uso de técnicas como ecocardiografia e tomografia computadorizada veio facilitar os estudos do atleta vivo (Oliveira, 2002). As dimensões internas do coração e a espessura da parede puderam ser determinadas com mais detalhes, tornando-se possível fazer estimativas da massa ventricular esquerda do coração, mostrando diferença em relação a indivíduos sedentários (Oliveira, 2002).

Acerca dos aspectos morfológicos do coração, a hipertrofia cardíaca recebe destaque como mecanismo adaptativo em face de uma sobrecarga de trabalho, de pressão ou de volume. Esse aumento de massa pode ser decorrente de resposta a condições fisiopatológicas ou como resposta fisiológica devido à sobrecarga de trabalho imposta pelo treinamento físico dinâmico e estático realizado de forma crônica (Oliveira, 2002; Magalhães, 2008; Pinheiro, Cunha *et al.*, 2007).

Em condições fisiológicas, como no treinamento físico, a resposta do músculo cardíaco vai de acordo com as conseqüências hemodinâmica de cada tipo de exercício. Nas modalidades de treinamento de força há aumento da pós-carga, que é caracterizado pelo elevado pico de tensão sistólica. Como resposta a essa sobrecarga hemodinâmica ocorre aumento da área de secção transversa dos cardiomiócitos, pela adição do número de miofibrilas por sarcômeros em paralelo, o que leva a um aumento na espessura da parede do ventrículo esquerdo sem alteração no tamanho de sua cavidade caracterizando a hipertrofia ventricular esquerda concêntrica (Oliveira, 2002; Magalhães, 2008).

Em estados patológicos, uma sobrecarga de volume pode levar a um aumento do diâmetro interno do ventrículo esquerdo e a um aumento proporcional da espessura de sua parede, caracterizando uma hipertrofia ventricular esquerda excêntrica. Já uma sobrecarga de pressão está associada a um espessamento da

parede do ventrículo esquerdo e uma diminuição de sua dimensão interna, caracterizando uma hipertrofia ventricular esquerda concêntrica (Oliveira, 2002).

Nos modelos de treinamento aeróbico, ocorre uma sobrecarga de volume, ou seja, aumento da pré-carga devido ao aumento do retorno venoso durante as sessões de exercício, o que gera um elevado pico de tensão diastólica, induzindo o crescimento dos cardiomiócitos. Neste, ocorre adição em série dos novos sarcômeros, e conseqüente aumento em seu comprimento pelo aumento no número das miofibrilas, para normalizar o estresse na parede do miocárdio levando a um aumento da cavidade do ventrículo esquerdo. A cavidade aumentada gera um elevado pico de tensão sistólica, que estimula o crescimento dos cardiomiócitos, pela adição de novos sarcômeros em paralelo, aumentando também a espessura da parede do VE de forma compensatória (Oliveira, 2002; Magalhães, 2008).

Em relação às adaptações fisiológicas tem sido observado que o exercício físico regular, com intensidade leve a moderada, aumenta a contratilidade miocárdica, o débito cardíaco, o volume de ejeção sistólico e diminui a pressão arterial e frequência cardíaca de repouso (Arcanjo, Pinto *et al.*, 2008; Kemmler, Von Stengel *et al.*, 2009).

Sabendo que a desnutrição perinatal reduz as dimensões cardíacas, podendo levar ao aparecimento de doenças mais tardiamente, e que o treinamento físico provoca adaptações na musculatura ventricular, pretende-se compreender os efeitos moduladores do treinamento físico moderado, em ratos adultos submetidos à desnutrição protéica perinatal sobre parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo.

3. HIPÓTESE

O treinamento físico moderado modula os efeitos da desnutrição perinatal sobre parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo de ratos adultos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos do treinamento físico moderado sobre parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo de ratos adultos submetidos ou não à desnutrição materna durante a gestação e a lactação.

4.2 Objetivos específicos

Avaliar, no modelo experimental empregado, os seguintes parâmetros:

- Peso absoluto e relativo do coração dos animais
- Área de secção transversa do ventrículo esquerdo;
- Área da cavidade do ventrículo esquerdo;
- Espessura da parede do ventrículo esquerdo;
- Área de secção transversa dos cardiomiócitos;

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Animais e formação dos grupos experimentais

Foram utilizados ratos machos albinos da linhagem *Wistar* da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em sala com temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro invertido de 12/12h (luz das 05:00 h às 17:00 h) e livre acesso à alimentação e água.

Para obtenção de neonatos, foram acasalados animais machos e fêmeas primíparas (proporção 1:2), com idade entre 90 e 120 dias. A gestação foi determinada pela técnica de esfregaço vaginal. Esta consiste na coleta da secreção vaginal para verificar a presença de espermatozóides (Marcondes, Bianchi *et al.*, 2002). Uma vez detectado o estado de prenhez, as ratas foram acomodadas individualmente em gaiolas de polipropileno com dimensão de 46x32x21 cm e receberam dieta a base de caseína para formação de dois grupos experimentais: controle (C: caseína 17%, n=16) e desnutrido (D: caseína 8%, n=11) (Passos, Ramos, *et al.*, 2000; Reeves, Nielsen *et al.*, 1993).

Um dia após o nascimento dos filhotes, as ninhadas foram ajustadas para 8 filhotes por mãe. Durante a lactação, as mães continuaram recebendo dieta a base de caseína. Após o período de lactação, 21 dias de vida, somente os filhotes machos (Controle (C), n=16 e Desnutrido (D), n=11) foram utilizados no experimento. Estes passaram a receber dieta padrão do biotério (LABINA, Purina Brasil: 52% de carboidratos, 21% de proteínas e 4% de lipídeos - LABINA). Aos 60 dias de vida, os grupos foram subdivididos de acordo com a realização do treinamento físico: a) grupo controle (C: caseína 17%, n=08); b) grupo desnutrido (D: caseína 8%, n=04); c) grupo treinado (T: caseína 17%, treinamento físico, n=08) e d) grupo desnutrido treinado (DT: caseína 8%, treinamento físico, n=07).

Os procedimentos realizados para manejo e cuidado dos animais estão de acordo com as normas do Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pela comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas – UFPE sob o número de protocolo 23076.018163/2009-15.

5.2 Manipulação da dieta

Durante a gestação e lactação as ratas do grupo Controle (C) receberam dieta a base de caseína a 17% enquanto as do grupo Desnutrido (D) receberam dieta hipoprotéica com caseína a 8% (Tabelas 1 e 2). Após o desmame os animais receberam dieta padrão do biotério (LABINA, Purina Brasil: 52% de carboidratos, 21% de proteínas e 4% de lipídeos - LABINA) (Tabela 3).

Tabela 1: Composição das dietas (17% e 8% de proteína).

Ingredientes	1 Kg de ração	
	8 %	17%
Caseína	79,3 g	179,3 g
Mix vitamínico*	10 g	10 g
Mix mineral #	35 g	35 g
Celulose	50 g	50 g
Bitartarato de colina	2,5 g	2,5 g
DL-Metionina	3,0 g	3,0 g
Óleo de soja	70 ml	70 ml
Amido de milho	750,2 g	650,2 g
Sacarose	100 g	100 g

Mix mineral contendo (mg/kg de dieta): CaHPO₄, 17200; KCl, 4000; NaCl, 4000; MgO, 420; MgSO₄, 2000; Fe₂O₃, 120; FeSO₄·7H₂O, 200; trace elements, 400 (MnSO₄·H₂O, 98; CuSO₄·5H₂O, 20; ZnSO₄·7H₂O, 80; CoSO₄·7H₂O, 0.16; KI, 0.32; sufficient starch to bring to 40 g [por kg de dieta]).

* Mix vitamínico contendo (mg/kg de dieta): retinol, 12; colecalciferol, 0.125; tiamina, 40; riboflavina 30; ácido pantotênico, 140; piridoxina, 20; inositol, 300; cyanocobalamin, 0.1; menadiona, 80; ácido nicotínico, 200; colina, 2720; ácido fólico, 10; ácido p-aminobenzoico, 100; biotina, 0.6.

Fonte: REEVES, 1993.

Tabela 2: Composição centesimal de macronutrientes da dieta experimental isocalórica com diferentes teores de proteína utilizada na alimentação dos animais durante a gestação e a lactação.

Macronutrientes	% Proteína	
	8 %	17%
%g	100.00	100.00
Proteínas	8.10	17.30
Carboidratos	66.87	58.11
Lipídeos	7.00	7.00
Fibras	1.25	5.00
Vitaminas	3.50	1.25
Minerais	5.00	3.50
Kcal	362.48	363.44

Fonte: FREITAS-SILVA, 2007.

Tabela 3: Composição da dieta LABINA (Purina Brasil) utilizada na alimentação dos animais controle.

Ingredientes*	Quantidade (g)	Calorias (Kcal)
Proteína	23	92
Carboidratos	74,5	288
Gordura	2,5	22,5
Total	100	402,5

*Composição básica: milho, farelo de trigo, farelo de soja, farinha de carne, farelo de arroz cru, carbonato de cálcio, fosfato de bicálcico, sal, pré-mix.

Fonte: Purina Brasil

5.3 Protocolo de treinamento físico

Aos 60 dias de idade os ratos foram divididos em quatro grupos experimentais, de acordo com a realização do treinamento físico: a) grupo controle (C: caseína 17%, n=08); b) grupo desnutrido (D: caseína 8%, n=04); c) grupo treinado (T: caseína 17%, treinamento físico, n=08) e d) grupo desnutrido treinado (DT: caseína 8%, treinamento físico, n=07) (Figura 1).

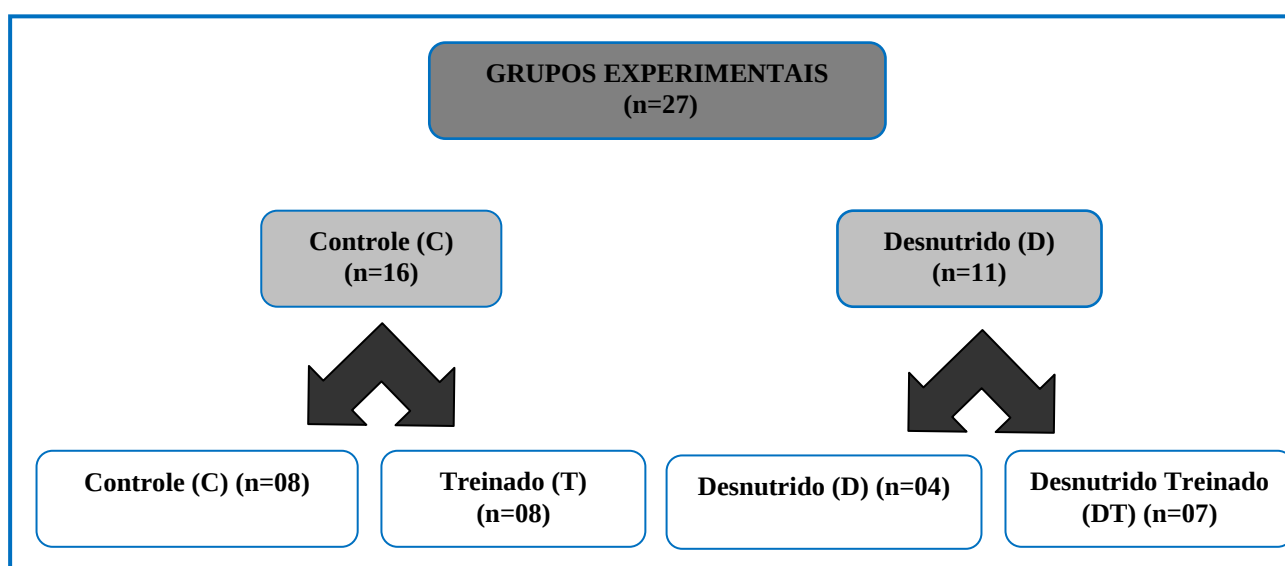


Figura 1: Formação dos grupos experimentais (n=27).

Os animais treinados foram submetidos a um programa de treino físico moderado, em esteira Motorizada EP-131/Insight Equipamentos Ltda (Figura 2) e seguiram o protocolo experimental (8 semanas, 5 dias/semana, 60 min/dia e 70% do VO_{2max} , horário do exercício 3 horas após iniciar o ciclo escuro) [Tabela 04] (Leandro, Bishop *et al.*, 2006). O grupo não treinado permaneceu nas gaiolas, mas no mesmo ambiente em que se encontravam os animais em treinamento.

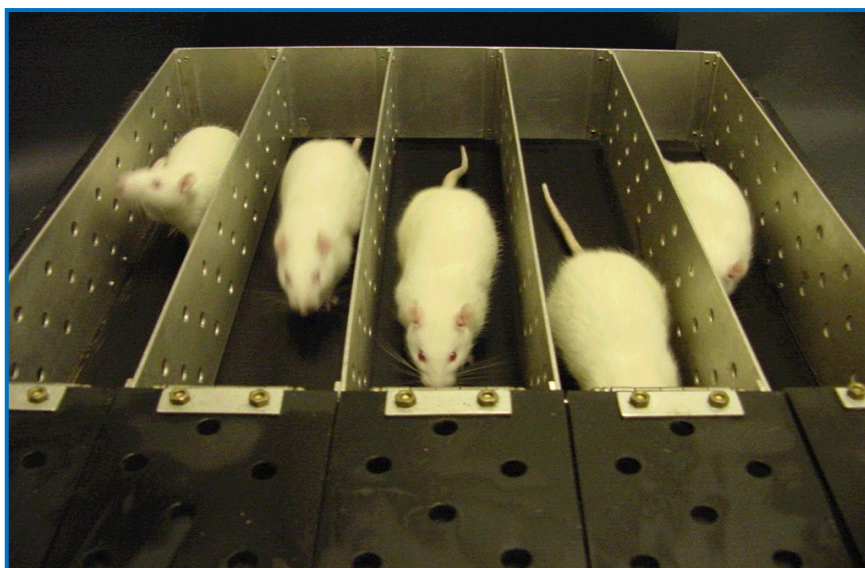


Figura 2: Animais em treinamento físico moderado na esteira motorizada (Treadmill: Millenium - Imbramed). Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com o protocolo utilizado, a intensidade inicial do treino é leve e aumenta progressivamente a cada semana até atingir 70% do VO_{2max} , sendo mantida até o fim do programa de treinamento. Para isso é manipulada a velocidade, a inclinação da esteira e o tempo de exercício. A primeira semana de treinamento é dedicada à adaptação dos animais, assim a esteira funciona em baixa velocidade, sendo 20 minutos/dia. A partir da segunda semana, o exercício assume duração de 60 minutos, sendo dividido em quatro fases: aquecimento (5min), intermediária (20min) que pode ser subdividida em duas etapas de 10 minutos com velocidades diferentes, treino (30min) e desaceleração (5min). Somente na fase de treino é atingido 70% do VO_{2max} (Figura 3).

Semanas	Velocidade (km/h)	Inclinação (°)	Duração (min)
1ª Semana (Adaptação)	0,3	0	5
	0,4	0	5
	0,5	0	5
	0,3	0	5
2ª Semana	0,4	0	5
	0,5	0	20
	0,6	0	30
	0,4	0	5
3ª Semana	0,5	0	5
	0,6	0	10
	0,8	0	10
	0,9	0	30
	0,5	0	5
4ª Semana	0,5	0	5
	0,8	0	10
	0,9	0	10
	1,1	0	30
	0,5	0	5
5ª Semana	0,5	5	5
	0,8	5	10
	0,9	5	10
	1,1	5	30
	0,5	0	5
6ª Semana	0,5	10	5
	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
	0,5	0	5
7ª Semana	0,5	10	5
	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
	0,5	0	5
8ª Semana	0,5	10	5
	0,8	10	10
	0,9	10	10
	1,1	10	30
	0,5	0	5

Figura 3: Protocolo de treinamento físico de acordo com a velocidade, inclinação e duração de cada sessão das oito semanas de treinamento. Fonte: LEANDRO *et al.*, 2007.

5.4 Desenho Experimental

Os animais dos diferentes grupos experimentais foram sacrificados aos 123 dias de idade para a realização dos estudos propostos (Figura 4).

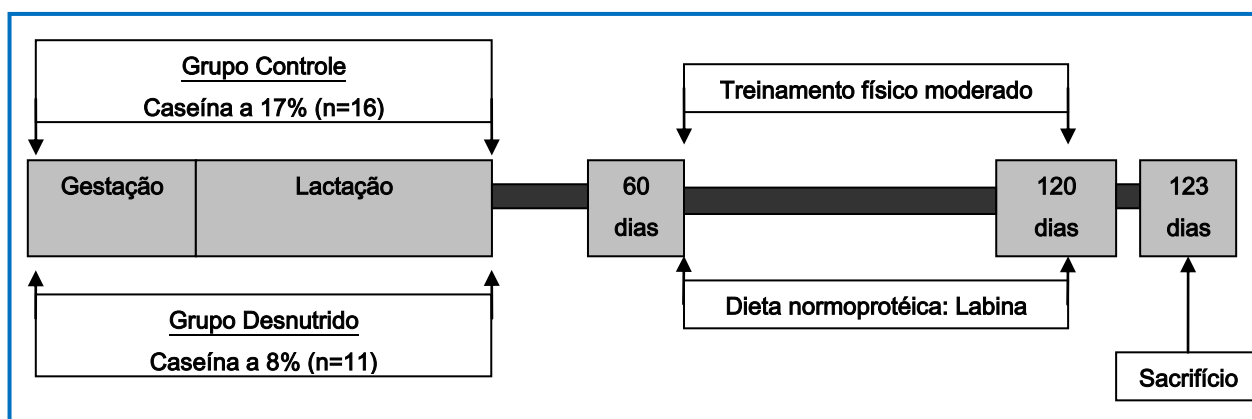


Figura 4. Desenho experimental representando a formação dos diferentes grupos quanto à manipulação da dieta e do período de treinamento físico moderado, e o período em que foram sacrificados

5.5 Avaliação da evolução ponderal

Os filhotes foram diariamente pesados individualmente durante todo o período de aleitamento, sendo, posteriormente pesados uma vez por semana. O peso corporal dos animais foi registrado através de balança eletrônica digital – Marte, modelo S-4000, com capacidade de 4kg e sensibilidade de 0,1g.

5.5.1 Ganho de peso corporal

O ganho de peso corporal (GPC) dos animais foi calculado em percentual, tendo como referência o peso da primeira pesagem após o nascimento (Bayol, Jones *et al.*, 2004), através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ GPC} = (P_x \times 100 / P_1) - 100$$

Onde:

% GPC = ganho de peso corporal em percentual

P_x = Peso de cada dia subsequente

P_1 = Peso da primeira pesagem

5.5.2 Taxa de crescimento

A taxa de crescimento é calculada com base nos pesos corporais (Bayol, Jones *et al.*, 2004) a partir da fórmula:

$$TC = P_x - P_A$$

Onde:

TC = Taxa de crescimento (em gramas)

P_A = Peso do dia anterior

P_x = Peso de cada dia subsequente

5.6 Retirada dos tecidos

Os animais dos diferentes grupos foram sacrificados aos 123 dias de vida para o estudo *post mortem*.

Inicialmente o animal foi anestesiado com uma solução de 12,5% de cloralose e 0,5% de uretana na dose de 1mL/kg de peso, via intraperitoneal. Em seguida foi feita a perfusão do coração (Toscano, Amorim *et al.*, 2008). Assim, após ampla abertura das cavidades torácica e abdominal do animal, a veia cava inferior,

ao nível das veias ilíacas comuns, foi canulada com um cateter intravenoso conectado a um dispositivo de perfusão por gravidade (equipo). Imediatamente após o início da perfusão foi feita uma abertura na aorta abdominal. Esta abertura permitiu, ao mesmo tempo, saída do sangue e das soluções injetadas durante a perfusão. Em cada animal foi injetado um volume de 250 mL de solução salina a 0,9% com 1,5 mL de heparina por litro de salina. Este procedimento teve por objetivo a remoção do sangue. Após a retirada do sangue, foi feita a fixação do material com um volume de 100mL do líquido fixador Carnoy (600mL de álcool etílico, 300mL de clorofórmio e 100mL de ácido acético).

5.7 Avaliação alométrica

Ao final da perfusão o coração foi cuidadosamente retirado e devidamente dissecado (Toscano, Amorim *et al.*, 2008). Em seguida foi realizada a aferição do peso do coração utilizando uma balança digital (marca AND, modelo HR-200, com sensibilidade até 0,1mg) (Figura 5). De posse desses dados, foi possível estabelecer as medidas de peso absoluto e peso relativo do coração. Essa mensuração é determinada pela razão entre o peso do coração (g) e peso do animal (g) no dia do sacrifício (Toscano, Amorim *et al.*, 2008).



Figura 5. Pesagem do coração

5.8 Rotina histológica

Após aferição do peso, o coração foi então fixado em Carnoy por 45 minutos e em seguida em álcool a 70%, de maneira que a conformação característica do órgão fosse preservada (Toscano, Amorim *et al.*, 2008). Após a fixação, os fragmentos foram desidratados em bateria crescente de alcoóis (80° a 100°) em banhos de 30 minutos, diafanizados em xilol, em banhos de 20 minutos e incluídos em parafina, após um banho de 30 minutos. A fim de otimizar o tempo de processamento dos tecidos, os fragmentos foram desidratados sob temperatura de 56° em estufa (Fanem, 315 SE) (Paz, 2001).

Após a inclusão em parafina, foram realizados cortes histológicos transversais do coração ao nível das cavidades ventriculares com espessura de 4µm, obtidos em micrótomo Leica, RM 2125RT. Os fragmentos do coração foram incluídos em parafina com a face correspondente ao ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração voltada para a área de corte. Os cortes foram corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) e montados entre lâminas e lamínula com resina sintética (Entellan-Merk).

5.9 Análise morfométrica do ventrículo esquerdo

A análise morfométrica do ventrículo esquerdo foi realizada a partir da mensuração da área de secção transversa, área da cavidade e da espessura da parede do ventrículo esquerdo e da mensuração da área de secção transversa dos cardiomiócitos.

5.9.1 Mensuração da área de secção transversa, área da cavidade e espessura da parede do ventrículo esquerdo

Depois de montadas, as lâminas foram avaliadas para a escolha dos cortes que serviram para análise morfométrica. As imagens dos cortes histológicos transversais do coração selecionadas em um microscópio foram capturadas, sob papel milimetrado através de um Scanner (HP Deskjet F4280), acoplado a um

microcomputador. Após a captura das imagens dos cortes histológicos transversais escolhidos, foi realizada a mensuração da área de secção transversa do VE e de sua cavidade (Figura 6 A e B) e a espessura de sua parede (Figura 7). A medida da espessura da parede do ventrículo esquerdo foi calculada a partir da média de seis mensurações da parede do VE. Para essas análises, foi utilizado um microcomputador com o programa de análise de imagens ImageJ 1.44p®.

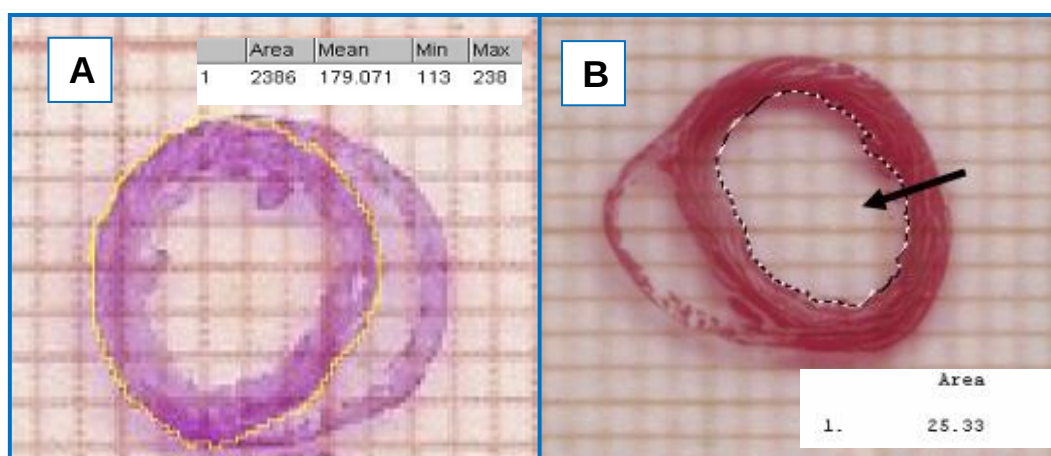


Figura 6. Ilustração do corte histológico transversal digitalizado para mensuração de: **A-** Área de secção transversa do VE; **B-** Área da cavidade do VE pelo programa *Image J 1.44p*®. Fonte: Dados da pesquisa.

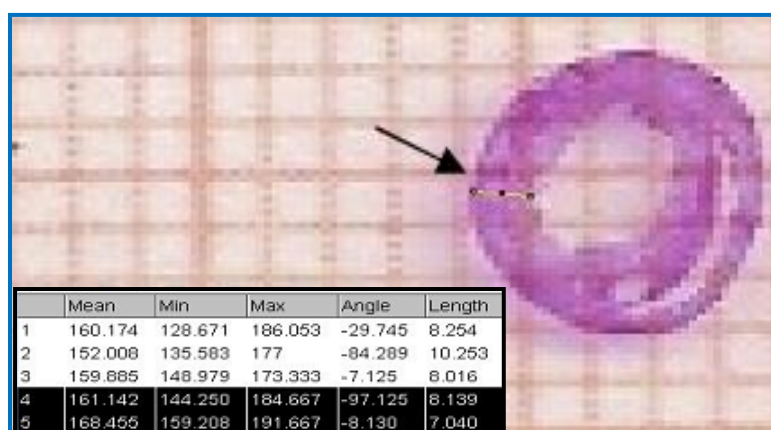


Figura 7. Ilustração do corte histológico transversal digitalizado para mensuração da espessura do VE pelo programa *Image J 1.44p*®. Fonte: Dados da pesquisa.

5.9.2 Mensuração da área dos cardiomiócitos

Em cada corte foram analisados 30 campos microscópicos obtidos ao acaso sob microscópio óptico Olympus BX50 (objetiva 40X). Este microscópio foi acoplado a um microcomputador com um programa de captação de imagens, ATI-Tv Player, 6.3. Em cada lâmina, foram obtidas imagens de 50 células miocárdicas com seus respectivos núcleos. Em seguida, através do programa *ImageJ* 1.44p®, foi realizada a mensuração da área do cardiomiócito (Toscano, Amorim *et al.*, 2008) (Figura 8).

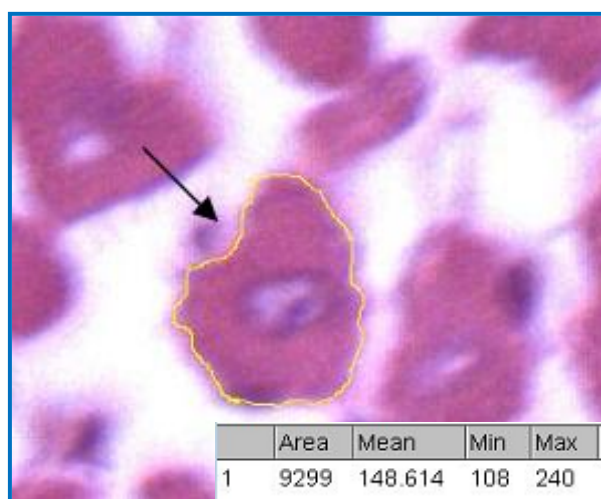


Figura 8. Ilustração da mensuração da área do cardiomiócito pelo programa *Image J 1.44p®*. Fonte: Dados da pesquisa.

5.10 Análise estatística

Os valores foram expressos em média e Erro Padrão da Média ($\bar{x} \pm \text{EPM}$). Para a comparação entre os grupos controle e desnutrido foi utilizado o teste *t-student*. Para avaliação dos efeitos do treinamento físico nos parâmetros estudados foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) *two-way* seguido do teste de Bonferroni. O treinamento físico e a desnutrição foram utilizados como fatores. O nível de significância foi mantido em 5% ($p < 0,05$). Toda a análise estatística foi realizada utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0 para Windows.

6. RESULTADOS

Os resultados do presente estudo estão apresentados sob a forma do artigo original intitulado: “EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS DO VENTRÍCULO ESQUERO DO CORAÇÃO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PERINATAL”, a ser submetido ao periódico *Revista de Nutrição*, com fator de impacto 0,3.

6.1 Artigo Original

EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO SOBRE PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS DO VENTRÍCULO ESQUERO DO CORAÇÃO DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PERINATAL

PALMEIRA, A. A.^{1,2}; CARTHAGENES, D.²; DELGADO, M.P.²; SILVA, H.J.¹;

TOSCANO, A.E.^{2,3}; LEANDRO, C.G.^{2,3}

¹ Departamento de Patologia, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

² Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

³ Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte, CAV, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Running head: Physical training and heart in malnutrition rats

Correspondence and proofs:

Carol Góis Leandro, Ph.D.

Núcleo de Educação Física e Ciências do Esporte – CAV, Universidade Federal de Pernambuco

Av Prof Moraes Rêgo, 1235 - Cidade Universitária.

50670-901 Recife, PE

Email: carolleandro22@gmail.com

RESUMO

Foram analisados os efeitos moduladores do treinamento físico moderado sobre parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo de ratos adultos submetidos à desnutrição protéica perinatal. Ratos machos da linhagem Wistar ($n = 27$) foram divididos em dois grupos: controle (C, $n = 16$ caseína 17%) e desnutrido (D, $n = 11$ caseína 8%), de acordo com a dieta oferecida à mãe durante a gestação e lactação. Após o período de desmame, todos os animais receberam dieta padrão do biotério (*Labina*[®]). Aos 60 dias de vida, os dois grupos foram subdivididos de acordo com a realização do treinamento físico: Controle (C: caseína 17%, $n=8$); Desnutrido (D: caseína 8%, $n= 4$; Treinado (T: caseína 17%, $n= 8$) e Desnutrido Treinado (DT: caseína 8%, $n= 7$). O treinamento físico moderado foi realizado em esteira motorizada (8 semanas, 5 dias/semana, 60 min/dia e VO_2 max de 70%). Após o treinamento os animais foram sacrificados e o coração foi analisado para estudos dos parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo. A histomorfometria do coração e de suas células foi realizada com o programa de análise de imagens Image J 1.44p[®]. O crescimento corporal foi avaliado ao longo do experimento. Observou-se menor peso corporal ao final da lactação no grupo D ($26,09 \pm 1,93$) em relação ao C ($37,70 \pm 3,06$) ($p<0,05$). A taxa de crescimento foi menor em D ($0,96 \pm 0,08$) em relação a C ($1,55 \pm 0,12$). O percentual de ganho de peso corporal (%GPC) foi maior no grupo D ($284,49 \pm 22,54$) em relação a C ($214,99 \pm 8,24$) na lactação, bem como no pós-desmame D ($630,72 \pm 36,16$) e C ($458,81 \pm 28,31$) ($p<0,05$). Esse percentual, no entanto, diminuiu no grupo DT em relação ao D e ao T após o início do treinamento físico moderado ($p<0,05$). Não houve diferença no peso absoluto (C = $1,39 \pm 0,08$; D = $1,53 \pm 0,30$; T = $1,44 \pm 0,06$; DT = $1,61 \pm 0,08$) bem como no peso relativo do coração (C = $0,003 \pm 0,0001$; D = $0,0048 \pm 0,0009$; T = $0,004164 \pm 0,0001$; DT = $0,0046 \pm 0,0003$) quando os grupos foram comparados entre si ($p>0,05$). A área do ventrículo esquerdo não sofreu alteração nos animais estudados ($p>0,05$). Em relação à área da cavidade do VE ocorreu diminuição em DT ($29,42 \pm 2,40$) em relação a C ($71,58 \pm 6,13$) e D ($83,28 \pm 13,74$) ($p<0,05$). A espessura da parede do VE, apresentou um aumento em DT ($6955,84 \pm 406,02$) quando comparados a C ($4678,83 \pm 465,79$) e D ($3981,40 \pm 246,18$). Houve uma diminuição da área dos cardiomiócitos em D ($317,78 \pm 9,87$) quando comparados a C ($441,20 \pm 29,40$) ($p<0,05$). DT apresentou aumento da área de secção transversa dos cardiomiócitos ($438,59 \pm 27,41$) quando comparados a D ($317,78 \pm 9,87$) ($p>0,05$). Os resultados demonstram que a desnutrição pode causar alterações na estrutura cardíaca e que o treinamento físico moderado é capaz de influenciar tais alterações principalmente em termos de estrutura celular.

Palavras-chave: plasticidade fenotípica, treinamento físico, coração, cardiomiócitos, ratos

Introdução

O coração é o primeiro órgão a concluir a formação em vertebrados e tem um papel fundamental na distribuição de nutrientes e oxigênio para o embrião (Buckingham, Meilhac *et al.*, 2005). O crescimento cardíaco pré-natal é devido, principalmente, à hiperplasia de cardiomiócitos. No entanto, ao final do desenvolvimento intra-uterino e no início da vida pós-natal, o processo hiperplásico dá lugar ao crescimento celular por hipertrofia. Esse processo coincide com a fase de diferenciação terminal do órgão, o que torna o miocárdio um tecido mais especializado (Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005). A precisão no funcionamento do coração permite o fluxo sanguíneo adequado para todos os órgãos do corpo atendendo às necessidades metabólicas em resposta às interferências do meio externo e mantendo a homeostase (Buckingham, Meilhac *et al.*, 2005).

Uma alimentação adequada é imprescindível para que os seres vivos atinjam seu pleno potencial de crescimento, saúde, reprodução e longevidade (Gniuli, Calcagno *et al.*, 2008). Por outro lado, a má nutrição é um dos fatores não genéticos que mais interferem no desenvolvimento normal dos órgãos (Morgane, Austin-Lafrance *et al.*, 1993). Indivíduos mal nutridos no início da vida, onde o período de crescimento ocorre de forma acelerada, apresentam sérias mudanças nas quais o organismo precisará ajustar-se para sobreviver (Engelbregt, Houdijk *et al.*, 2000).

Estudos mostram que a restrição nutricional sofrida pela mãe no período gestacional pode acarretar conseqüências na vida adulta, tais como obesidade, diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares (Barker, Osmond *et al.*, 1989; Gonzalez Zapata, Alvarez-Dardet Diaz *et al.*, 2006; Oken e Gillman, 2003). Esse

período de susceptibilidade do organismo é conhecido como período crítico do desenvolvimento e um déficit nutricional nesse momento pode ocasionar efeitos deletérios tanto no crescimento corpóreo, demonstrado pela taxa de crescimento (Gama, Carvalho *et al.*, 2007) quanto no desenvolvimento de órgãos e sistemas, como por exemplo, no coração demonstrado pela redução no número de cardiomiócitos (Cheema, Dent *et al.*, 2005; Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005) e pela diminuição da área de secção transversa dos cardiomiócitos e da área de secção transeveras e perímetro transverso do coração (Toscano, Amorim *et al.*, 2008).

O exercício físico é preconizado, atualmente, como indutor de um estilo de vida saudável pelo seu efeito de bem-estar, preventivo e terapêutico. Tem sido associado a benefícios metabólicos, imunológicos, neurovegetativos e cardiovasculares com redução na morbidade e mortalidade e melhora na capacidade funcional global (Barker, 2007; De Moura, Lisboa *et al.*, 2007; Gluckman, Seng *et al.*, 2007; Moita, Lustosa *et al.*, 2011; Pinheiro, Cunha *et al.*, 2007). É observado que a prática regular de exercício físico, de intensidade leve a moderada, aumenta a contratilidade miocárdica, o débito cardíaco, o volume de ejeção sistólico e diminui a pressão arterial e frequência cardíaca de repouso (Kemmler, Von Stengel *et al.*, 2009).

Há um consenso na literatura de que o condicionamento físico é benéfico à saúde (Magalhães, Barretti *et al.*, 2008; Silva, Peluzio *et al.*, 2011), atenuando prejuízos em situações patológicas, tais como no controle da pressão sanguínea e fatores de risco a diversas condições cardiovasculares (Magalhães, Barretti *et al.*, 2008). Por outro lado, desajustes nutricionais causam prejuízos ao coração (Bertram, Khan *et al.*, 2008; Cheema, Dent *et al.*, 2005; Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005; Hanson e Gluckman, 2005; Silva, Peluzio *et al.*, 2011; Toscano, Amorim *et al.*,

2008). Assim sendo, o presente estudo está testando a hipótese de que o treinamento físico moderado reverte os efeitos da desnutrição perinatal sobre aspectos morfométrico e morfológicos do coração. Desta forma os objetivos deste estudo foram: analisar os efeitos do treinamento físico moderado sobre parâmetros cardíacos de área, dimensão cavitária e espessura da parede do ventrículo esquerdo, além da área de secção transversa dos cardiomiócitos de animais que sofreram ou não desnutrição protéica na gestação e lactação

Métodos

Animais e dieta

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar* da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em sala com temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro invertido de 12/12h (luz das 05:00 h às 17:00 h) e livre acesso à alimentação e água. Os ratos foram divididos em 2 grupos experimentais de acordo com a dieta fornecida as mães durante a gestação e lactação: controle (caseína a 17%, n=16) e desnutridos (caseína a 8%, n=11). Após o desmame, os animais passaram a receber dieta padrão do biotério (Labina). Aos 60 dias de idade, os grupos foram subdivididos com relação ao treinamento físico moderado: controle (C n=8), desnutrido (D n=4), treinado (T n=8) e desnutrido treinado (DT n=7). O protocolo de treinamento foi realizado em esteira ergométrica durante 8 semanas.

Protocolo de Treinamento

O protocolo de treinamento físico consistiu em corrida em esteira ergométrica (Esteira Motorizada EP-131R, Insight Equipamentos Ltda., Ribeirão Preto, SP, Brasil), durante 8 semanas, 5 dias/semana, 60 minutos/dia a 70% do VO_{2max} de acordo com o protocolo de Leandro *et al.* (2007). Conforme o protocolo utilizado, a intensidade inicial do treino é leve e aumenta progressivamente a cada semana até atingir 70% de VO_{2max} , sendo mantida até o fim do programa de treinamento. Para isso é manipulada a velocidade, a inclinação da esteira e o tempo de exercício. A primeira semana de treinamento é dedicada à adaptação dos animais, assim a esteira funciona em baixa velocidade, por 20 minutos/dia. A partir da segunda semana, o exercício assume duração de 60 minutos, sendo dividido em quatro fases: aquecimento (5min), intermediária (20min) que pode ser subdividida em duas etapas de 10 minutos com velocidades diferentes, treino (30min) e desaceleração (5min). Somente na fase de treino é atingido 70% do VO_{2max} (Leandro, Levada *et al.*, 2007).

Evolução Ponderal

Os filhotes foram pesados diariamente durante todo o período de aleitamento, sendo, posteriormente pesados uma vez por semana. O peso corporal dos animais foi registrado através de balança eletrônica digital – Marte, modelo S-4000, com capacidade de 4kg e sensibilidade de 0,1g.

-Taxa de crescimento

A taxa de crescimento foi calculada com base nos pesos corporais (Bayol, Jones *et al.*, 2004) a partir da fórmula: $TC = P_x - P_A$. Onde: TC = Taxa de

crescimento (em gramas); P_A = Peso do dia anterior; P_x = Peso de cada dia subsequente

- Ganho de peso corporal

O ganho de peso corporal (GPC) dos animais foi calculado em percentual, tendo como referência o peso da primeira pesagem após o nascimento (Bayol, Jones *et al.*, 2004), através da seguinte fórmula: $\% \text{ GPC} = (P_x \times 100/P_1) - 100$. Onde: $\% \text{ GPC}$ = ganho de peso corporal em percentual; P_x = Peso de cada dia subsequente; P_1 = Peso da primeira pesagem

Extração dos tecidos

Aos 123 dias de idade, os animais foram anestesiados via intraperitoneal (uretana 12,5 mg, cloralose 0,5 mg, 1mL/100g de peso corporal do animal). Em seguida foi realizada a perfusão cardíaca com o objetivo de remover todo o sangue. Em seguida foi feita a fixação do material com líquido fixador Carnoy (600ml de álcool etílico, 300ml de clorofórmio e 100ml de ácido acético).

Ao final da perfusão o coração foi cuidadosamente retirado e devidamente dissecado (Toscano, Amorim *et al.*, 2008). Em seguida foi realizada a aferição do peso do coração utilizando uma balança digital (marca AND, modelo HR-200, com sensibilidade até 0,1mg e determinada a relação alométrica (Toscano, Amorim *et al.*, 2008). Posteriormente, seguiu-se a rotina histológica para montagem das lâminas (Toscano, Amorim *et al.*, 2008).

Análise histomorfométrica do ventrículo esquerdo

- Mensuração da área de secção transversa, perímetro transverso, área da cavidade e espessura da parede do VE

Depois de montadas, as lâminas foram avaliadas para a escolha dos cortes que serviram para análise morfométrica. As imagens dos cortes histológicos transversais do coração selecionadas em um microscópio foram capturadas, sob papel milimetrado, através de um Scanner (HP Deskjet F4280), acoplado a um microcomputador. Em seguida foi realizada a mensuração da área de secção transversa, área da cavidade e espessura da parede do VE. A medida da espessura da parede do ventrículo esquerdo foi calculada a partir da média de seis mensurações da parede do VE. Para essas análises, foi utilizado um microcomputador com o programa de análise de imagens ImageJ 1.44p®.

- Mensuração da área de secção transversa dos cardiomiócitos

Em cada corte foram analisados 30 campos microscópicos obtidos ao acaso sob microscópio óptico Olympus BX50 (objetiva 40X). Este microscópio foi acoplado a um microcomputador com um programa de captação de imagens, ATI-Tv Player, 6.3. Em cada lâmina, foram obtidas imagens de 50 células miocárdicas com seus respectivos núcleos. Em seguida, através do programa ImageJ 1.44p®, foi realizada a mensuração da área do cardiomiócito (Toscano, Amorim *et al.*, 2008).

Análise estatística

Os valores foram expressos em Média e Erro Padrão da Média ($\bar{x} \pm \text{EPM}$). Para a comparação entre os grupos controle e desnutrido foi utilizado o teste *t-student*. Para avaliação dos efeitos do treinamento físico nos parâmetros estudados foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) *two-way* seguido do teste de Bonferroni. O treinamento físico e a desnutrição foram utilizados como fatores. O nível de significância foi mantido em 5% ($p < 0,05$). Toda a análise estatística foi realizada utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0 para Windows.

Resultados

Peso corporal do animal:

Não houve diferença no peso ao nascer dos animais submetidos à desnutrição. Contudo, estes animais apresentaram um menor peso corporal no desmame, na taxa de crescimento, no percentual de ganho de peso corporal (%GPC) ($p < 0,05$) na lactação e até os 60 dias de vida (Tabela 1).

Tabela 1. Peso ao nascer (g), peso aos 21 dias (g), taxa de crescimento na lactação e percentual de ganho de peso corporal (%GPC) na lactação e pós-desmame (22–60 dias), dos animais dos grupos controle (C, n = 16) e desnutrido (D, n = 11).

Variáveis	Grupos Experimentais	
	C	D
Peso (g) ao nascer	6,87 ± 0,44	6,77 ± 0,31
Peso (g) aos 21 dias	37,70 ± 3,06	26,09 ± 1,93*
Taxa de crescimento na lactação	1,55 ± 0,12	0,96 ± 0,08*
% GPC na lactação	214,99 ± 8,24	284,49 ± 22,54*
% GPC no pós-desmame	458,81 ± 28,31	630,72 ± 36,16*

*p<0,05 utilizando o teste *t-student*.

Em relação ao percentual de ganho de peso corporal (%GPC) durante o protocolo de treino (60 – 120 dias), os animais do grupo desnutrido (D) apresentaram valores maiores (p<0,05) quando comparados aos do grupo controle (C). Os animais do grupo treinado (T) não apresentaram diferença quando comparados aos do grupo controle (C). Os animais do grupo desnutrido treinado (DT) apresentaram valores inferiores quando comparados aos animais dos grupos desnutrido (D) (p<0,05) (Figura 1).

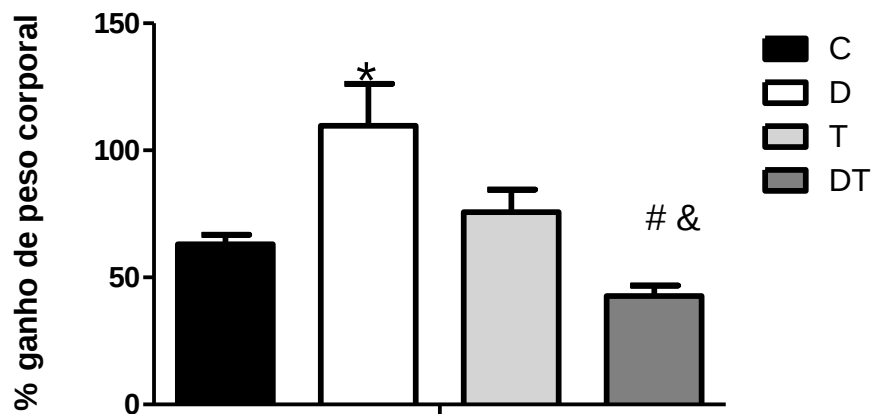


Gráfico 1. Percentual de ganho corporal durante o período de treinamento físico (60 – 120 dias) nos animais do grupo controle (C, n = 8) desnutrido (D, n = 4), treinado (T, n = 8) e desnutrido e treinado (DT, n = 7). * $p < 0,05$ vs C, # $p < 0,05$ vs D e & $p < 0,05$ vs T. Anova two-way seguido do teste de Bonferroni, $p < 0,05$.

Peso do coração:

Não houve diferença no peso absoluto (C = $1,39 \pm 0,08$; D = $1,53 \pm 0,30$; T = $1,44 \pm 0,06$; DT = $1,61 \pm 0,08$) bem como no peso relativo do coração (C = $0,003 \pm 0,0001$; D = $0,0048 \pm 0,0009$; T = $0,004164 \pm 0,0001$; DT = $0,0046 \pm 0,0003$) quando os grupos foram comparados entre si.

Parâmetros histomorfométricos:

Em relação à área do ventrículo esquerdo (VE), os grupos não apresentaram diferenças quando comparados entre si. Os animais do grupo desnutrido treinado (DT) apresentaram menor valor na área da cavidade do ventrículo esquerdo (VE) quando comparado aos animais do grupo controle (C), e desnutrido (D) ($p < 0,05$)

(Tabela 2). Quanto à espessura da parede do ventrículo esquerdo (VE), os animais do grupo desnutrido treinado (DT) mostraram aumento significativo dessa medida quando comparados aos animais do grupo controle (C) e aos animais do grupo desnutrido (D) ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Os animais do grupo desnutrido (D) apresentaram menor área do cardiomiócito quando comparados aos animais do grupo controle (C) ($p < 0,05$) (Tabela 2). Entretanto, os animais do grupo desnutrido treinado (DT) mostraram maiores valores de área da célula cardíaca quando comparados aos animais do grupo desnutrido (D) ($p < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Área (mm^2), área da cavidade (mm^2) e espessura da parede do VE (mm), área do cardiomiócito (mm^2) dos animais dos grupos controle (C, $n = 8$), desnutrido (D, $n = 4$), treinado (T, $n = 8$) e desnutrido treinado (DT, $n = 7$).

Variáveis	Grupos Experimentais			
	C	D	T	DT
Área VE	562,36±50,16	448,42±59,56	510,81±55,65	506,31±38,80
Área da cavidade VE	71,58 ± 6,13	83,28 ± 13,74	52,27 ± 7,81	29,42 ± 2,40*#
Espessura da parede VE	4678,83 ± 465,79	3981,40 ± 246,18	5289,36 ± 441,64	6955,84 ± 406,02 *#
Área do cardiomiócito	441,20 ± 29,40	317,78 ± 9,87*	384,36 ± 27,83	438,59 ± 27,41#

Tabela 2. * indica diferença em relação a C, # indica diferença em relação a D; ANOVA *two-way* seguido do teste de Bonferroni, $p < 0,05$. Os valores foram expressos em Média ± EPM.

DISCUSSÃO

A submissão de animais a uma dieta com restrição protéica como modelo de plasticidade fenotípica já está bem estabelecido (Barker, 2007; De Moura, Lisboa *et al.*, 2007; Gluckman, Seng *et al.*, 2007). No entanto, estudos relatando as repercussões do treinamento físico nesse contexto, sobretudo no coração, ainda são escassos.

No presente trabalho, foi analisado o efeito do treinamento físico moderado e da restrição protéica perinatal na morfometria de alguns aspectos cardíacos em ratos da linhagem *Wistar*. Assim, desnutrição associada ao protocolo de treinamento físico moderado não influenciou na área do ventrículo esquerdo, mas provocou diminuição da área de sua cavidade e aumento da sua espessura, o que sugere uma hipertrofia concêntrica neste grupo de animais. Os animais desnutridos tiveram alterações na morfologia cardíaca, concordando com Toscano *et al.* (2008). E o treinamento físico moderado trouxe efeitos benéficos ao coração (Silva, Peluzio *et al.*, 2011), uma vez que reverteu danos celulares nos cardiomiócitos.

Peso do animal

Os animais provenientes de nutrízes alimentadas com dieta pobre em proteína (caseína 8%) apresentaram déficit quantitativo no peso corporal e na taxa de crescimento no período da lactação corroborando com estudos anteriores que utilizaram semelhante modelo de desnutrição no período gestacional e na lactação (Cheema, Dent *et al.*, 2005; Moita, Lustosa *et al.*, 2011; Moraes, 2010). Uma possível explicação pode ser devido ao baixo estoque de nutrientes da mãe que pode acarretar em menor transferência de nutrientes para a prole (Barker, 2007). Além disso, a desnutrição perinatal parece induzir modificações na expressão de

mRNA do hormônio do crescimento contribuindo para a diferença nos padrões somáticos da prole na vida adulta (De Moura, Lisboa *et al.*, 2007).

O percentual de ganho de peso corporal (%GPC) foi maior nos animais do grupo desnutrido (D) tanto no período lactacional quanto no pós-desmame (22 – 60 dias) concordando com resultados (Moita, Lustosa *et al.*, 2011; Moraes, 2010). Neste sentido, é comum observar uma acelerada taxa de crescimento, demonstrado pelo ganho de peso corporal, em organismos que foram submetidos a déficit nutricional neonatal. Esse *catch up* de crescimento tem sido associado ao desenvolvimento de precoce de doenças cardiovasculares na vida adulta e seus fatores de risco, como resistência a insulina, obesidade (Singhal, Cole *et al.*, 2004).

Quanto ao percentual de ganho de peso corporal (%GPC) no período correspondente ao treinamento físico (60 – 120 dias) os animais do grupo desnutrido treinado (DT) tiveram uma redução desses valores, o que confirma os resultados de protocolos similares (Moita, Lustosa *et al.*, 2011; Moraes, 2010). Esse resultado demonstra o efeito benéfico do treinamento físico moderado no rápido ganho de peso corporal podendo atenuar os efeitos deletérios desse *catch up* de crescimento (Moraes, 2010).

Peso do coração

Outro parâmetro analisado foi a relação entre o peso do coração e o peso do animal no dia do sacrifício (Pc/Pa), que, no presente estudo, não teve diferença entre os grupos concordando com estudos anteriores (Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005; Fioretto, Querioz *et al.*, 2002; Toscano, Amorim *et al.*, 2008). Esse resultado pode ser explicado pelo fato de haver um paralelismo entre o peso corporal e o peso do coração do animal (Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005; Fioretto, Querioz *et al.*, 2002), pois houve uma recuperação do peso corporal no grupo desnutrido devido ao *catch up* ocorrido na lactação e pós-desmame (Singhal, Cole *et al.*, 2004). Desse modo,

qualquer modificação do peso do coração acontecido durante a desnutrição pode ter sido compensada durante o período de recuperação nutricional.

Parâmetros histomorfométricos

Para avaliar as conseqüências do treinamento físico e da desnutrição no coração, é essencial ter em mente que o adequado trabalho do sistema cardiovascular depende diretamente da forma e da função do músculo cardíaco. Assim, modificações na estrutura do mesmo podem acarretar falhas comprometendo outros sistemas relacionados ao coração e, dessa forma, o organismo.

Foi observado, no aspecto macrométrico, que a área de secção transversa do ventrículo esquerdo não sofreu alteração nos animais estudados, contrastando com os resultados de Toscano *et al.* (2008), os quais mostraram diminuição da área de secção transversa no coração de animais aos 30 e aos 71 dias de vida que foram desnutridos apenas no período de lactação. Esse contraste de resultados pode ter ocorrido em virtude da diferença da idade dos animais, que no presente estudo foi de 123 dias, bem como no período de manipulação dietética, sendo aqui gestacional e lactacional e a realização de treinamento físico moderado.

Já no tocante a área da cavidade do VE, os animais do grupo desnutrido treinado (DT) apresentaram diminuição das suas dimensões cavitárias quando comparados aos animais do grupo controle (C) e aos animais do grupo desnutrido (D). Resultados semelhantes foram observados por Sutton (1985), o qual sugere que a desnutrição levaria à redução na dimensão da cavidade do VE em decorrência da redução da massa do miocárdio (St John Sutton, Plappert *et al.*, 1985). Entretanto, outros autores observaram aumento da cavidade do VE (Bergman,

Human *et al.*, 1988; Fioretto, Querioz *et al.*, 2002) que poderia ser em decorrência da redução desproporcional da massa do VE em relação ao seu volume (Fioretto, Querioz *et al.*, 2002).

Em relação à espessura da parede do VE, há uma concordância com os resultados de Pluim *et al.* (2000) que observaram aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo em atletas corredores quando comparados aos seus controles justificando como adaptação fisiológica ao treinamento de endurance (Pluim, Zwinderman *et al.*, 2000). Também concorda com os achados de Cheema *et al.* (2005), que verificaram aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo de ratos submetidos à desnutrição protéica (caseína 9%), sugerindo hipertrofia ventricular patológica decorrente de disfunção cardíaca (Cheema, Dent *et al.*, 2005).

A literatura relata que a hipertrofia cardíaca ocorre como um mecanismo adaptativo em resposta a um aumento de sua atividade ou de sobrecarga funcional do coração. (Magalhães, Barretti *et al.*, 2008). Neste sentido, pode-se afirmar que esses resultados traduzem uma hipertrofia ventricular esquerda do tipo concêntrica, uma vez que essa condição é caracterizada por aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo e redução de seus diâmetros cavitários (Magalhães, Barretti *et al.*, 2008).

Sabe-se que as condições pré-natais são determinantes para o aparecimento de doenças cardiovasculares na vida adulta (Barker, 2007; Cheema, Dent *et al.*, 2005; Corstius, Zimanyi *et al.*, 2005; Hanson e Gluckman, 2005; Lillycrop, Rodford *et al.*, 2010; Lucas, 1991). Além disso, a literatura relata que o treinamento físico moderado isoladamente é capaz de provocar adaptações cardíacas fisiológicas (Rawlins, Bhan *et al.*, 2009). Sob o contexto da plasticidade do desenvolvimento, há escassez de estudos que retratem a adaptação cardíaca de animais desnutridos

submetidos ao treinamento. Neste sentido, os resultados do presente estudo indicam que o treinamento físico moderado associado à desnutrição foi capaz de induzir uma hipertrofia ventricular esquerda concêntrica no coração.

Diante do exposto, analogamente ao que ocorre em seres humanos, e, embora não tenham sido analisadas as condições hemodinâmicas dos animais desse estudo, a hipertrofia aqui encontrada pode ser justificada como decorrente de uma sobrecarga pressórica gerada pelo treinamento físico diante de possível alteração cardiovascular (Magalhães, Barretti *et al.*, 2008). Tais afirmações estão de acordo com o estudo de Cheema *et al.* (2005) no qual foi constatado aumento da pressão arterial sistólica em ratos adultos submetidos a restrição protéica prenatal.

O presente estudo encontrou diminuição da área dos cardiomiócitos dos animais do grupo desnutrido (D) quando comparado a dos animais do grupo controle (C), sugerindo uma hipotrofia dessas células devido à desnutrição imposta. Dados semelhantes foram demonstrados por Fioretto *et al.* (2002), onde ratos que foram submetidos à desnutrição desde o nascimento até a vida adulta também apresentaram diminuição da área de secção transversa de seus cardiomiócitos. Tendo associado a uma possível diminuição na síntese de componentes miofibrilares, e/ou um aumento no catabolismo protéico miofibrilar (Fioretto, Querioz *et al.*, 2002).

Além disso, os animais do grupo desnutrido treinado (DT) apresentaram uma maior área de secção transversa dos cardiomiócitos em relação ao seu controle. Tal fato mostra que a inibição do crescimento celular provocada pela desnutrição foi revertida pelo treinamento físico moderado aplicado nesse estudo. Dados semelhantes foram encontrados em ratos submetidos a um programa de exercício

aeróbico, onde dimensões como o volume e a largura dos cardiomiócitos desses animais também sofreram aumento (Silva, Peluzio *et al.*, 2011).

A hipertrofia dos cardiomiócitos é caracterizada pelo aumento no tamanho das células, por uma síntese aprimorada de proteínas e elevada organização do sarcômero, com aumento da espessura das miofibrilas, do seu número ou do seu comprimento (Frey, Katus *et al.*, 2004). Das células cardíacas que fazem parte da estrutura do coração os cardiomiócitos representam 1/3 do total das células, mas formam 70-80% da massa cardíaca. Essa característica os torna de fundamental importância na hipertrofia do miocárdio (Magalhães, 2008).

Diante do exposto, pode-se observar uma coerência entre os resultados macrométricos (espessura e área da cavidade do VE) e os micrométricos (área dos cardiomiócitos). Assim, sob a ótica da plasticidade do desenvolvimento, este estudo mostrou que as expressões fenotípicas parecem ser mais peculiares quando o treinamento físico está associado à desnutrição perinatal.

Conclusão

O presente trabalho mostrou que o treinamento físico moderado foi capaz de reverter as modificações na área de secção transversa dos cardiomiócitos de animais expostos a desnutrição perinatal. Esses achados são relevantes para o conhecimento dos benefícios do treinamento físico moderado sobre parâmetros morfométricos do ventrículo esquerdo de animais que sofreram desnutrição na gestação e lactação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barker, D. J. The origins of the developmental origins theory. J Intern Med, v.261, n.5, May, p.412-7. 2007.
2. Bayol, S., D. Jones, *et al.* The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. Br J Nutr, v.91, n.3, Mar, p.331-9. 2004.
3. Bergman, J. W., D. G. Human, *et al.* Effect of kwashiorkor on the cardiovascular system. Arch Dis Child, v.63, n.11, Nov, p.1359-62. 1988.
4. Bertram, C., O. Khan, *et al.* Transgenerational effects of prenatal nutrient restriction on cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal function. J Physiol, v.586, n.8, Apr 15, p.2217-29. 2008.
5. Buckingham, M., S. Meilhac, *et al.* Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. Nat Rev Genet, v.6, n.11, Nov, p.826-35. 2005.
6. Cheema, K. K., M. R. Dent, *et al.* Prenatal exposure to maternal undernutrition induces adult cardiac dysfunction. Br J Nutr, v.93, n.4, Apr, p.471-7. 2005.
7. Corstius, H. B., M. A. Zimanyi, *et al.* Effect of intrauterine growth restriction on the number of cardiomyocytes in rat hearts. Pediatr Res, v.57, n.6, Jun, p.796-800. 2005.
8. De Moura, E. G., P. C. Lisboa, *et al.* Malnutrition during lactation changes growth hormone mRNA expression in offspring at weaning and in adulthood. J Nutr Biochem, v.18, n.2, Feb, p.134-9. 2007.
9. Engelbregt, M. J., M. E. Houdijk, *et al.* The effects of intra-uterine growth retardation and postnatal undernutrition on onset of puberty in male and female rats. Pediatr Res, v.48, n.6, Dec, p.803-7. 2000.
10. Fioretto, J. R., S. S. Querioz, *et al.* Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.282, n.4, Apr, p.H1327-33. 2002.
11. Frey, N., H. A. Katus, *et al.* Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? Circulation, v.109, n.13, Apr 6, p.1580-9. 2004.
12. Gama, S. R., M. S. Carvalho, *et al.* [Childhood prevalence of cardiovascular risk factors]. Cad Saude Publica, v.23, n.9, Sep, p.2239-45. 2007.
13. Gluckman, P. D. e M. A. Hanson. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. Science, v.305, n.5691, Sep 17, p.1733-6. 2004.

14. Gluckman, P. D., C. Y. Seng, *et al.* Low birthweight and subsequent obesity in Japan. Lancet, v.369, n.9567, Mar 31, p.1081-2. 2007.
15. Gniuli, D., A. Calcagno, *et al.* Effects of high-fat diet exposure during fetal life on type 2 diabetes development in the progeny. J Lipid Res, v.49, n.9, Sep, p.1936-45. 2008.
16. Gonzalez Zapata, L. I., C. Alvarez-Dardet Diaz, *et al.* [Famine in the Spanish civil war and mortality from coronary heart disease: a perspective from Barker's hypothesis]. Gac Sanit, v.20, n.5, Sep-Oct, p.360-7. 2006.
17. Hanson, M. A. e P. D. Gluckman. Developmental processes and the induction of cardiovascular function: conceptual aspects. J Physiol, v.565, n.Pt 1, May 15, p.27-34. 2005.
18. Hanson, M. A. e P. D. Gluckman. Developmental origins of health and disease: new insights. Basic Clin Pharmacol Toxicol, v.102, n.2, Feb, p.90-3. 2008.
19. Kemmler, W., S. Von Stengel, *et al.* Exercise decreases the risk of metabolic syndrome in elderly females. Med Sci Sports Exerc, v.41, n.2, Feb, p.297-305. 2009.
20. Leandro, C. G., A. C. Levada, *et al.* A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. J Strength Cond Res, v.21, n.3, Aug, p.751-6. 2007.
21. Lillycrop, K. A., J. Rodford, *et al.* Maternal protein restriction with or without folic acid supplementation during pregnancy alters the hepatic transcriptome in adult male rats. Br J Nutr, v.103, n.12, Jun, p.1711-9. 2010.
22. Lucas, A. Programming by early nutrition in man. Ciba Found Symp, v.156, p.38-50; discussion 50-5. 1991.
23. Magalhães, F. D. C., D. Barretti, *et al.* HIPERTROFIA CARDÍACA INDUZIDA PELO TREINAMENTO FÍSICO: EVENTOS MOLECULARES E CELULARES QUE MODIFICAM O FENÓTIPO. Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte, v.7, n.1, p.189-193. 2008.
24. Moita, L., M. F. Lustosa, *et al.* Moderate physical training attenuates the effects of perinatal undernutrition on the morphometry of the splenic lymphoid follicles in endotoxemic adult rats. Neuroimmunomodulation, v.18, n.2, p.103-10. 2011.
25. Moraes, T. N. D. a. L. V. C. D. Q. K. D. S. D. L. T. J. B. D. M. F. S. R. a. D. Moderate aerobic physical conditioning reduces the fast weight gain of adult rats malnourished during pregnancy and lactation. Revista de Nutrição, v.23, n.2. 2010.

26. Morgane, P. J., R. Austin-Lafrance, *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. Neurosci Biobehav Rev, v.17, n.1, Spring, p.91-128. 1993.
27. Oken, E. e M. W. Gillman. Fetal origins of obesity. Obes Res, v.11, n.4, Apr, p.496-506. 2003.
28. Pinheiro, A. R., A. R. Cunha, *et al.* Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. Nutr Metab Cardiovasc Dis, v.17, n.5, Jun, p.365-75. 2007.
29. Pluim, B. M., A. H. Zwinderman, *et al.* The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. Circulation, v.101, n.3, Jan 25, p.336-44. 2000.
30. Rawlins, J., A. Bhan, *et al.* Left ventricular hypertrophy in athletes. Eur J Echocardiogr, v.10, n.3, May, p.350-6. 2009.
31. Silva, M. F., M. D. Peluzio, *et al.* Swimming training attenuates contractile dysfunction in diabetic rat cardiomyocytes. Arq Bras Cardiol, May 6. 2011.
32. Singhal, A., T. J. Cole, *et al.* Is slower early growth beneficial for long-term cardiovascular health? Circulation, v.109, n.9, Mar 9, p.1108-13. 2004.
33. St John Sutton, M. G., T. Plappert, *et al.* Effects of reduced left ventricular mass on chamber architecture, load, and function: a study of anorexia nervosa. Circulation, v.72, n.5, Nov, p.991-1000. 1985.
34. Toscano, A. E., M. A. Amorim, *et al.* Do malnutrition and fluoxetine neonatal treatment program alterations in heart morphology? Life Sci, v.82, n.21-22, May 23, p.1131-6. 2008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo mostraram que a desnutrição perinatal induz alterações na morfometria do ventrículo esquerdo e que o treinamento físico moderado na vida adulta pode reverter danos celulares no coração. Mais pesquisas são necessárias para elucidar os efeitos do treinamento físico moderado e das hipertrofias ventriculares de animais submetidos a injúrias nutricionais precoces.

O melhor conhecimento desse processo deve gerar novas oportunidades de intervenção terapêutica para a redução da morbi - mortalidade que acompanha as patologias cardiovasculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arcanjo, F. P., V. P. Pinto, *et al.* Anemia reduction in preschool children with the addition of low doses of iron to school meals. J Trop Pediatr, v.54, n.4, Aug, p.243-7. 2008.

Barker, D. J. The intrauterine origins of cardiovascular disease. Acta Paediatr Suppl, v.82 Suppl 391, Sep, p.93-9; discussion 100. 1993.

Barker, D. J. Fetal origins of coronary heart disease. BMJ, v.311, n.6998, Jul 15, p.171-4. 1995.

Barker, D. J. The origins of the developmental origins theory. J Intern Med, v.261, n.5, May, p.412-7. 2007.

Barker, D. J. e P. M. Clark. Fetal undernutrition and disease in later life. Rev Reprod, v.2, n.2, May, p.105-12. 1997.

Barker, D. J., C. Osmond, *et al.* Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. BMJ, v.298, n.6673, Mar 4, p.564-7. 1989.

- Bayol, S., D. Jones, *et al.* The influence of undernutrition during gestation on skeletal muscle cellularity and on the expression of genes that control muscle growth. Br J Nutr, v.91, n.3, Mar, p.331-9. 2004.
- Bertram, C., O. Khan, *et al.* Transgenerational effects of prenatal nutrient restriction on cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal function. J Physiol, v.586, n.8, Apr 15, p.2217-29. 2008.
- Brum, P. C., C. L. M. Forjaz, *et al.* Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. Rev. paul. Educ. Fís., v.18, p.21-31. 2004.
- Buckingham, M., S. Meilhac, *et al.* Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. Nat Rev Genet, v.6, n.11, Nov, p.826-35. 2005.
- Byrn, R. A., J. Mordenti, *et al.* Biological properties of a CD4 immunoadhesin. Nature, v.344, n.6267, Apr 12, p.667-70. 1990.
- Carlson, E. S., J. D. Stead, *et al.* Perinatal iron deficiency results in altered developmental expression of genes mediating energy metabolism and neuronal morphogenesis in hippocampus. Hippocampus, v.17, n.8, p.679-91. 2007.
- Carmo, J. C.; Peters, V. M.; Guerra, M. O. Cronologia do desenvolvimento embrionário e fetal de ratos, conforme a datação do início da prenhez. Boletim do Centro de Biologia da Reprodução de Juiz de Fora- MG, v. 23, p.5-16. 2004.
- Cheema, K. K., M. R. Dent, *et al.* Prenatal exposure to maternal undernutrition induces adult cardiac dysfunction. Br J Nutr, v.93, n.4, Apr, p.471-7. 2005.
- Coppen, A. M., J. A. Risser, *et al.* Metabolic syndrome resolution in children and adolescents after 10 weeks of weight loss. J Cardiometab Syndr, v.3, n.4, Fall, p.205-10. 2008.
- Corstius, H. B., M. A. Zimanyi, *et al.* Effect of intrauterine growth restriction on the number of cardiomyocytes in rat hearts. Pediatr Res, v.57, n.6, Jun, p.796-800. 2005.
- De Moura, E. G., P. C. Lisboa, *et al.* Malnutrition during lactation changes growth hormone mRNA expression in offspring at weaning and in adulthood. J Nutr Biochem, v.18, n.2, Feb, p.134-9. 2007.
- Dennison, E., C. Fall, *et al.* Prenatal factors influencing long-term outcome. Horm Res, v.48 Suppl 1, p.25-9. 1997.
- Dobbing, J. e J. Sands. Cell size and cell number in tissue growth and development. An old hypothesis reconsidered. Arch Fr Pediatr, v.42, n.3, Mar, p.199-203. 1985.
- Engelbregt, M. J., M. E. Houdijk, *et al.* The effects of intra-uterine growth retardation and postnatal undernutrition on onset of puberty in male and female rats. Pediatr Res, v.48, n.6, Dec, p.803-7. 2000.

- Fagundes, A. T., E. G. Moura, *et al.* Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring. Br J Nutr, v.98, n.5, Nov, p.922-8. 2007.
- Fioretto, J. R., S. S. Querioz, *et al.* Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. Am J Physiol Heart Circ Physiol, v.282, n.4, Apr, p.H1327-33. 2002.
- Gama, S. R., M. S. Carvalho, *et al.* [Childhood prevalence of cardiovascular risk factors]. Cad Saude Publica, v.23, n.9, Sep, p.2239-45. 2007.
- Garcia-Martinez, V. e G. C. Schoenwolf. Primitive-streak origin of the cardiovascular system in avian embryos. Dev Biol, v.159, n.2, Oct, p.706-19. 1993.
- Gianini, N. M., A. A. Vieira, *et al.* [Evaluation of the nutritional status at 40 weeks corrected gestational age in a cohort of very low birth weight infants]. J Pediatr (Rio J), v.81, n.1, Jan-Feb, p.34-40. 2005.
- Gluckman, P. D. e M. A. Hanson. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. Science, v.305, n.5691, Sep 17, p.1733-6. 2004.
- Gluckman, P. D., W. Cutfield, *et al.* The fetal, neonatal, and infant environments-the long-term consequences for disease risk. Early Hum Dev, v.81, n.1, Jan, p.51-9. 2005.
- Gluckman, P.D. and M.A. Hanson. Developmental plasticity and human disease: research directions. J Intern Med, v. 261, n. 5, p. 461-71, 2007.
- Gluckman, P. D., C. Y. Seng, *et al.* Low birthweight and subsequent obesity in Japan. Lancet, v.369, n.9567, Mar 31, p.1081-2. 2007.
- Gniuli, D., A. Calcagno, *et al.* Effects of high-fat diet exposure during fetal life on type 2 diabetes development in the progeny. J Lipid Res, v.49, n.9, Sep, p.1936-45. 2008.
- Gonzalez Zapata, L. I., C. Alvarez-Dardet Diaz, *et al.* [Famine in the Spanish civil war and mortality from coronary heart disease: a perspective from Barker's hypothesis]. Gac Sanit, v.20, n.5, Sep-Oct, p.360-7. 2006.
- Gupta, R. Recent trends in coronary heart disease epidemiology in India. Indian Heart J, v.60, n.2 Suppl B, Mar-Apr, p.B4-18. 2008.
- Hanson, M. A. e P. D. Gluckman. Developmental processes and the induction of cardiovascular function: conceptual aspects. J Physiol, v.565, n.Pt 1, May 15, p.27-34. 2005.
- Hanson, M. A. e P. D. Gluckman. Developmental origins of health and disease: new insights. Basic Clin Pharmacol Toxicol, v.102, n.2, Feb, p.90-3. 2008.

- Hanson, M. A. e K. M. Godfrey. Commentary: Maternal constraint is a pre-eminent regulator of fetal growth. Int J Epidemiol, v.37, n.2, Apr, p.252-4. 2008.
- Hodyl, N. A., F. R. Walker, *et al.* Modelling prenatal bacterial infection: functional consequences of altered hypothalamic pituitary adrenal axis development. Behav Brain Res, v.178, n.1, Mar 12, p.108-14. 2007.
- Ivanovic, D., C. G. Castro, *et al.* [Food and nutrition knowledge of elementary and high school-age children from Chile's Metropolitan Region]. Rev Med Chil, v.124, n.9, Sep, p.1058-70. 1996.
- Kemmler, W., S. Von Stengel, *et al.* Exercise decreases the risk of metabolic syndrome in elderly females. Med Sci Sports Exerc, v.41, n.2, Feb, p.297-305. 2009.
- Kumon, M., K. Yamamoto, *et al.* Maternal dietary restriction during lactation influences postnatal growth and behavior in the offspring of mice. Neurochem Int, v.57, n.1, Aug, p.43-50. 2010.
- Leandro, C. C., D. A. Bishop, *et al.* Semiautomated determination of pesticides in water using solid phase extraction disks and gas chromatography-mass spectrometry. J Agric Food Chem, v.54, n.3, Feb 8, p.645-9. 2006.
- Leandro, C. G., T. Martins De Lima, *et al.* Physical training attenuates the stress-induced changes in rat T-lymphocyte function. Neuroimmunomodulation, v.13, n.2, p.105-13. 2006.
- Marcondes, F. K., F. J. Bianchi, *et al.* Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. Braz J Biol, v.62, n.4A, Nov, p.609-14. 2002.
- Moita, L., M. F. Lustosa, *et al.* Moderate physical training attenuates the effects of perinatal undernutrition on the morphometry of the splenic lymphoid follicles in endotoxemic adult rats. Neuroimmunomodulation, v.18, n.2, p.103-10. 2011.
- Moore, L. K. e T. V. N. Persaud. Embriologia clínica. São Paulo: Elsevier. 2008
- Morgane, P. J., R. Austin-Lafrance, *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. Neurosci Biobehav Rev, v.17, n.1, Spring, p.91-128. 1993.
- Morgane, P. J., D. J. Mokler, *et al.* Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. Neurosci Biobehav Rev, v.26, n.4, Jun, p.471-83. 2002.
- Oken, E. e M. W. Gillman. Fetal origins of obesity. Obes Res, v.11, n.4, Apr, p.496-506. 2003.
- Oliveira, E.D., Krieger, J.E. Hipertrofia cardíaca e treinamento físico. Hipertens., v.5, n.2, p.73-78. 2002.
- Osborne, G., L. A. Wolfe, *et al.* Relationships between cardiac dimensions, anthropometric characteristics and maximal aerobic power (VO₂max) in young men. Int J Sports Med, v.13, n.3, Apr, p.219-24. 1992.

- Ozanne, S. E. e C. N. Hales. Early programming of glucose-insulin metabolism. Trends Endocrinol Metab, v.13, n.9, Nov, p.368-73. 2002.
- Ozanne, S. E., C. B. Jensen, *et al.* Low birthweight is associated with specific changes in muscle insulin-signalling protein expression. Diabetologia, v.48, n.3, Mar, p.547-52. 2005.
- Passos, M. C., C. F. Ramos, *et al.* The effect of protein or energy restriction on the biodistribution of Na99TcmO4 in Wistar rats. Nucl Med Commun, v.21, n.11, Nov, p.1059-62. 2000.
- Passos, M. C. F., C. F. Ramos, *et al.* Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. Nutrition Research, v.20, n.11, p.1603-1612. 2000.
- Paz, S. Redução no tempo de processamento de pequenas biópsias para inclusão em parafina. XII Congresso Brasileiro de Histotecnologia - III Jornada do Mercosul de Histotecnologia. Salvador-BA, 2001. 20 p.
- Pelliccia, A., F. Culasso, *et al.* Physiologic left ventricular cavity dilatation in elite athletes. Ann Intern Med, v.130, n.1, Jan 5, p.23-31. 1999.
- Penaloza, D. e J. Arias-Stella. The heart and pulmonary circulation at high altitudes: healthy highlanders and chronic mountain sickness. Circulation, v.115, n.9, Mar 6, p.1132-46. 2007.
- Perkins, C. C., J. M. Pivarnik, *et al.* Physical activity and fetal growth during pregnancy. Obstet Gynecol, v.109, n.1, Jan, p.81-7. 2007.
- Phillips, D. I. Fetal growth and programming of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Clin Exp Pharmacol Physiol, v.28, n.11, Nov, p.967-70. 2001.
- Pinheiro, A. R., A. R. Cunha, *et al.* Beneficial effects of physical exercise on hypertension and cardiovascular adverse remodeling of diet-induced obese rats. Nutr Metab Cardiovasc Dis, v.17, n.5, Jun, p.365-75. 2007.
- Porrello, E. R., R. E. Widdop, *et al.* Early origins of cardiac hypertrophy: does cardiomyocyte attrition programme for pathological 'catch-up' growth of the heart? Clin Exp Pharmacol Physiol, v.35, n.11, Nov, p.1358-64. 2008.
- Ravelli, G. P., Z. A. Stein, *et al.* Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. N Engl J Med, v.295, n.7, Aug 12, p.349-53. 1976.
- Reeves, P. G., F. H. Nielsen, *et al.* AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr, v.123, n.11, Nov, p.1939-51. 1993.
- Sadler, T. W. Susceptible periods during embryogenesis of the heart and endocrine glands. Environ Health Perspect, v.108 Suppl 3, Jun, p.555-61. 2000.

Saraiva, L. R., D. Brindeiro Filho, *et al.* [Kawasaki disease in Pernambuco, Brazil. Considerations on a case seen in a general hospital]. Arq Bras Cardiol, v.58, n.1, Jan, p.43-6. 1992.

Schramm, J. M. D. A., A. F. D. Oliveira, *et al.* Transição epidemiológica e o estudo de carga de doença no Brasil. Ciência & Saúde Coletiva, v.9, n.4, p.897-908. 2004.

Silveira, L. e B. S. Denadai. Efeito modulatório de diferentes intensidades de esforço sobre a via glicolítica durante o exercício contínuo e intermitente. Rev. paul. Educ. Fís, v.16, p.186-197. 2002.

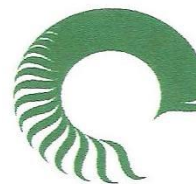
Smart, J. L. Under nutrition during early life and its effects on animal development and behaviour. Neuropharmacology, v.20, n.12B, Dec, p.1251-2. 1981.

Toscano, A. E., M. A. Amorim, *et al.* Do malnutrition and fluoxetine neonatal treatment program alterations in heart morphology? Life Sci, v.82, n.21-22, May 23, p.1131-6. 2008.

Who, W. H. O.-. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. Geneva: World Health Organization - WHO. 2003

**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 206/09

Recife, 27 de outubro de 2009.

Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFPE
Para: **Prof.: Hilton Justino da Silva**
Departamento: Nutrição / UFPE
Processo nº 23076.018163/2009-15

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEAA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado: **“Desnutrição Perinatal e Treinamento Físico Moderado: Estudo da Morfologia e Morfometria de Fibras Musculares Cardíacas.”**

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 CEEAA-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,

Observação: Origem dos animais: Biotério do do Departamento de Nutrição/UFPE ; Animais: Ratos, linhagem: Wistar; Sexo: Machos; Idade: 0 a 123 dias ; Nº de Animais previsto no projeto: 32 animais .