

**Caroline Wanderley Souto Ferreira Anselmo**

**Ação do Campo Eletromagnético de 60 Hz, 3 $\mu$ T, em Ratas  
Prenhas Submetidas à Dieta Básica Regional: Regulação  
Hormonal e Metabólica das Ratas Prenhas e Maturação  
Reflexa e Somática da Prole.**

**Recife - 2005**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO**

**PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO**

Caroline Wanderley Souto Ferreira Anselmo

**Ação do Campo Eletromagnético de 60 Hz, 3 $\mu$ T, em Ratas  
prenhas Submetidas à Dieta Básica Regional: Regulação  
Hormonal e Metabólica das Ratas Prenhas e Maturação  
Reflexa e Somática da Prole.**

Tese de Doutorado aprovada pelo  
Programa de pós-graduação em  
Nutrição do Centro de Ciências da  
Saúde da Universidade Federal de  
Pernambuco, como requisito para a  
obtenção do título de Doutor em  
Nutrição.

RECIFE - 2005

**Anselmo, Caroline Wanderley Souto Ferreira**

**Ação do campo eletromagnético de 60 Hz, 3 $\mu$ T, em ratas prenhas submetidas à Dieta Básica Regional : regulação hormonal e metabólica das ratas prenhas e maturação reflexa e somática da prole / Caroline Wanderley Souto Ferreira Anselmo. – Recife : O Autor, 2005.**

**viii, 184 folhas : il., fig., tab.**

**Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2005.**

**Inclui bibliografia e anexos.**

**1. Nutrição – Bases – Desnutrição. 2. Ratas prenhas – Dieta Básica Regional – Campo eletromagnético (60 Hz) – Dosagens hormonal e metabólica. 3. Prole – Desnutrição e campo eletromagnético – Maturação reflexa e somática. I. Título.**

**612.3**

**CDU (2.ed.)**

**UFPE**

**612.3**

**CDD (22.ed.)**

**BC2005-392**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

**Ação do Campo Eletromagnético de 60 Hz, 3 $\mu$ T, em Ratas  
prenhas Submetidas à Dieta Básica Regional: Regulação  
Hormonal e Metabólica das Ratas Prenhas e Maturação  
Reflexa e somática da Prole.**

Doutoranda: Caroline Wanderley Souto Ferreira Anselmo

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo Medeiros

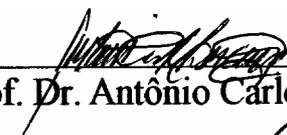
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho

Recife - 2005

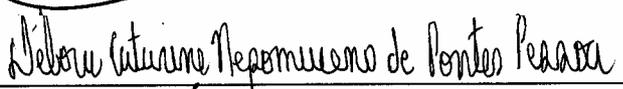
Ação do Campo Eletromagnético de 60 Hz, 3 $\mu$ T, em Ratas prenhas  
Submetidas à Dieta Básica Regional: Regulação Hormonal e Metabólica  
das Ratas Prenhas e Maturação Reflexa e Somática da Prole.

Caroline Wanderley Souto Ferreira Anselmo

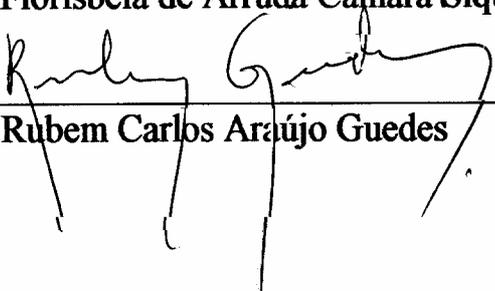
Examinadores:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Antônio Carlos Tavares de Lucena

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Arnele de Fátima Dornelas de Andrade

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Débora Catarine Nepomuceno de Pontes Pessoa

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Florisbela de Arruda Câmara Siqueira Campos

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Rubem Carlos Araújo Guedes

Recife - 2005

Dedico esta Tese ao meu marido Pedro  
aos meus pais Jorge e Maristela e a  
minha sobrinha Luiza.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de pós-graduação do Departamento de Nutrição.

À professora Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo Medeiros pela orientação, amizade e compreensão.

À professora Dr<sup>a</sup> Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho pela contribuição na minha vida acadêmica e pessoal, desde o Mestrado.

Ao professor Dr. Antônio Carlos Tavares de Lucena pela sua ajuda ao longo da minha vida acadêmica, pela sua amizade e confiança em mim depositada.

À minha mãe, Maristela Wanderley Souto Ferreira, pois sem a sua preciosa ajuda e seu apoio, teria sido impossível a finalização deste trabalho.

Ao meu esposo Pedro Anselmo Filho pelo seu incentivo e por seu apoio incondicional.

Às alunas de Iniciação Científica Ana Alice de Almeida Santos, Conciana Maria Andrade Freire, Ellen Cristina Nobre Alecrim, Leila Virgínia da Silva Prado, Maria Cristina de Souza Pereira Pinto, Patrícia Brazil Pereira, Talita de Goes Holanda e Tatiana Silva de Lima que foram imprescindíveis para a realização dos experimentos.

À Professora Lúcia Maria Pires Ferreira e ao Professor José Eulálio Cabral Filho pela orientação e ajuda na análise estatística.

À secretária da pós-graduação Neci Maria Santos do Nascimento pela sua presteza, simpatia e boa vontade.

Ao Sr Edeones Tenório de França veterinário do biotério do Departamento de Nutrição.

Aos funcionários do Departamento de Nutrição, em especial, à Fernanda Maria Almeida, ao Sr Hamilton Salviano da Silva, Ana Maria de França Silva, ao Sr José Paulino Ventura Ramos e ao Sr Moisés Aleixo de Souza.

A todos os professores da pós-graduação em Nutrição.

Ao Departamento de Biofísica pelo uso do Laboratório de Biofísica Celular

Ao Sr Fredson José Soares funcionário do Departamento de Biofísica.

Aos meus eternos professores do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco.

Aos colegas da pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Às queridas amigas Grece Mary Souza, Maria de Fátima Galdino e Syme Magnata pela ajuda nas dosagens e pelo companheirismo durante todo o doutorado.

Ao Coordenador do Curso de Fisioterapia da FIR Professor Evandro Sá Duarte pela compreensão e estímulo durante o período de realização do curso.

A todas as pessoas que contribuíram de forma direta e indireta para que a realização deste trabalho se tornasse possível.

“Todos os dias você deve progredir. Cada passo deve render frutos. Então irá se estender diante de você um caminho que sempre cresce, que sempre ascende, que sempre melhora. Você sabe que nunca irá terminar essa jornada. Porém, isto está longe de ser desencorajante, apenas acrescenta mais prazer e glória na sua escalada.”

Sir Winston Churchil  
Político Britânico (1874 -1965)

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	<b>3</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>5</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>6</b>
<b>RESUMO</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>8</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>12</b>
2.1. OS CAMPOS ELÉTRICOS E MAGNÉTICOS	12
2.1.1. Grandezas e Unidades	12
2.1.2. Efeitos Adversos do Campo Eletromagnético de 50/60 Hz	15
2.2. INTERAÇÃO NEUROENDÓCRINA (CORTÉX E TIREÓIDE)	43
2.2.1. Mecanismos de Controle Endócrino	44
2.2.2. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal	48
2.2.3. Efeitos Metabólicos dos Hormônios Glicocorticóides e Insulina	49
2.2.3.1. Atividade imunológica	49
2.2.3.2. Regulação metabólica	50
2.2.4. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireóide	52
2.3. DESNUTRIÇÃO	55
<b>3. JUSTIFICATIVAS</b>	<b>61</b>
<b>4. HIPÓTESE</b>	<b>64</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>65</b>
5.1 OBJETIVOS GERAIS	65

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	65
<b>6. TRABALHOS CIENTÍFICOS</b>	<b>67</b>
6.1. EFEITOS DO CEM ASSOCIADO A DBR NO SISTEMA ENDÓCRINO DE RATAS PRENHAS	67
6.2. EFEITOS DO CEM ASSOCIADO A DBR NA MATURAÇÃO REFLEXA DA PROLE	91
6.3. EFEITOS DO CEM ASSOCIADO A DBR NA MATURAÇÃO SOMÁTICA DA PROLE E NO PESO CORPORAL	110
<b>7. DISCUSSÃO GERAL</b>	<b>132</b>
<b>8. CONCLUSÕES</b>	<b>144</b>
<b>9. PERSPECTIVAS</b>	<b>145</b>
<b>10. REFERÊNCIAS</b>	<b>146</b>
<b>ANEXO I</b>	<b>163</b>
<b>ANEXO II</b>	<b>164</b>
<b>ANEXO III</b>	<b>184</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACA	Abertura do conduto auditivo
ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
ADH	Hormônio antidiurético (Vasopressina)
AO	Abertura do olho
AP	Aversão ao precipício
APA	Abertura do pavilhão auditivo
B	Densidade de fluxo magnético
Ca <sup>++</sup>	Cálcio
CEM	Campo eletromagnético
CRH	Corticotropina
CV	Colocação pelas vibrissas
DBR	Dieta básica regional
EDII	Erupção dos dentes incisivos inferiores
EDIS	Erupção dos dentes incisivos superiores
G	Gauss
GN	Geotaxia negativa
HHA	Hipotálamo-Hipófise-Adrenal
Hz	Hertz – Unidade de frequência equivalente a 1 ciclo/segundo (ABNT)
Isopor	Nome comercial do poliestireno
J	Joule
PP	Preensão palmar
RD	Recuperação de decúbito
RIE	Radioimunoensaio

RQDL	Recuperação de decúbito em queda livre
RS	Resposta ao susto
rT <sub>3</sub>	Triiodotironina inativa
T	Tesla
T <sub>3</sub>	Triiodotironina
T <sub>4</sub>	Tiroxina
TRH	Hormônio liberador da tireotrofina
TSH	Hormônio estimulador da tireóide ou tireotrofina
VA	Volt-Ampère, unidade de potência. Equivale a 1 Joule/segundo ou 1 watt
5'D-I	Desiodase tipo I
5'D-II	Desiodase tipo II
5'D-III	Desiodase tipo III

## LISTA DE FIGURAS

		Página
<b>Figura 1</b>	Desenho esquemático do eixo hipotálamo-hipofisário-supra-renal, ilustrando <i>feedback</i> negativo pelo cortisol (F) nos níveis hipotalâmico e hipofisário. Também existe uma alça de <i>feedback</i> negativo curta de ACTH sobre a secreção do hormônio de liberação da corticotropina (CRH).	44
<b>Figura 2</b>	Flutuações do ACTH e dos glicocorticóides plasmáticos durante todo o dia.	45
<b>Figura 3</b>	Desenho esquemático do efeito do estresse sobre a liberação do cortisol. O estresse ativa o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal: a hipófise anterior libera o hormônio ACTH, que induz a liberação de cortisol – principal hormônio regulador do sistema imunológico – pelo córtex das glândulas adrenais.	47

## LISTA DE TABELAS

		<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b>	Grandezas elétricas, eletromagnéticas, dosimétricas e unidades correspondentes SI.	<b>14</b>

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi Investigar a ação do campo eletromagnético (CEM) de 60 Hz, senoidal, com intensidade de 3  $\mu$ T, duas horas ao dia, durante vinte e um dias consecutivos, na regulação das concentrações hormonais e metabólicas em ratas prenhas, submetidas à dieta balanceada e ratas prenhas submetidas à Dieta Básica Regional (DBR), bem como o desenvolvimento reflexo e somático e evolução do crescimento corporal da prole. Foram constituídos quatro grupos de animais: dois grupos caseína (A e B), com 18% de caseína e dois grupos DBR (C e D), tratados com dieta contendo 8% de proteína mista, com ou sem exposição. As manipulações dietéticas ocorreram durante a gestação. Os parâmetros hormonais (insulina, cortisol,  $T_3$  e  $T_4$ ) e bioquímico (glicose) foram determinados no soro. Foram pesquisados, diariamente, entre 12:00 e 14:00 horas, os reflexos congênitos: preensão palmar (PP), recuperação do decúbito (RD), aversão ao precipício (AV), colocação pelas vibrissas (CV), geotaxia negativa (GN), resposta ao susto (RS) e recuperação do decúbito em queda livre (RDQL) e as características físicas: abertura do pavilhão (APA), do conduto auditivo (ACA), do olho (AO) e erupção dos dentes incisivos superiores (EDIS) e inferiores (EDII). Quanto aos parâmetros bioquímicos e hormonais: o grupo D apresentou concentração de glicose 113,09% maior em relação ao grupo C. O grupo C apresentou insulina e cortisol menores (77,5% e 54,67%) que o Grupo A, respectivamente. As concentrações séricas de  $T_3$ , oscilaram em valores percentuais menores, (71,43%, 91,16% e 97,28%) nos grupos B, C e D respectivamente em relação ao A e 69,05% no C comparado ao B. As de  $T_4$ , apresentaram 37,88%, 74% e 51,38% nos grupos B, C e D, respectivamente e 58,16% no C em relação a B. Quanto a maturação reflexa, o CEM associado a desnutrição (D) induziu retardo, em dias, no aparecimento ou desaparecimento dos reflexos RD, AP, CV, GN, RS, RDQL e PP em relação ao grupo A (caseína sem exposição ao CEM). Comparando-se a DBR à Caseína (D e B), ambos expostos ao CEM, o retardo ocorreu nos RD, CV, GN e AP e nos grupos (C e A), o efeito foi observado nos RD, AP, CV, GN, RS e PP. Quanto ao CEM, o grupo B diferiu do grupo A nos AP, RS, RDQL e PP e o grupo D diferiu do C apenas no reflexo PP. Considerando os indicadores de maturação somática, o grupo D apresentou retardo em relação ao grupo A, nos APA, ACA, AO, EDIS e EDII. Comparando-se a DBR à Caseína (D e B), os afetados foram APA e AO. Conclui-se que o CEM associado a desnutrição causou uma diminuição nas dosagens de  $T_3$  e  $T_4$  das ratas prenhas e retardo na maturação reflexa e somática da prole.

## ABSTRACT

The aim of the present study was to observe how exposition of the pregnant rats to the electromagnetic field (EMF) at 60Hz, 3 $\mu$ T for 2 hours per day, during twenty one days and/or using the Regional Basic Diet (RBD) influenced the regulation of the hormonal and metabolic concentrations in pregnant rats, and their influence on the reflex and somatic maturation in offspring. Four groups were formed: two groups casein (A and B) whose diet contained 18% of protein and two groups RBD (C and D), which were fed a diet with 8% of protein, exposed or not to the EMF. The diet manipulation occurred during the pregnancy. The hormonal (insulin, cortisol, T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub>) and metabolic concentrations (glucose) were assessed in the serum. The following reflexes were daily assessed (between 12:00 and 14:00 h): Palma Grasp (PG), Righting Reflex (RF), Cliff Avoidance (CA), Vibrissae Placing (VP), Negative Geotaxis (NG), Auditory Startle (AS) and Free-Fall Righting (FFR) and also the somatic maturation indexes: Eye Opening (EO), Auricle Opening (AO), Auditory Canal Opening (ACO), Low Incisor Eruption (LIE) and Upper Incisor Eruption (UIE). The results of the metabolic and hormonal serum concentrations were: Group D presented a glucose serum concentration 113.09% greater than that of Group C. Group C presented lower insulin and cortisol levels (77.5% and 54.67%) than those of Group A. The T<sub>3</sub> serum concentration, presented figures lower than the control Group A, i.e. 71.43% for Group B, 91.16% for Group C, and 97.28% for Group D. When comparing Group C with Group B, the difference presented was 69.05%. The T<sub>4</sub> serum concentrations, were 37.88%, 74% and 51.38% in the groups B, C and D, respectively. It presented a difference of 58.16% in the Group C in relation to Group B. The association between EMF and a deficient diet caused a delay in the appearance or disappearance of the reflexes RF, CA, VP, NG, AS, FFR and PG when compared with Group A (fed casein). When the diets were compared, both exposed to EMF (D and B), the delay occurred in the RF, VP, NG and CA. And in the Groups C and A, the effect was observed in RF, CA, VP, NG, AS and PG. In relation to the EMF, the Group B differed from Group A in CA, AS, FFR and PG and the Group D differed from C in the PG reflex. In the somatic indexes Group D showed delay in relation to Group A in the EO, AO, ACO, LIE and UIE reflexes. When Groups D and B (RBD and casein) were compared the delay happened in AO and EO. In conclusion, the association between EMF and undernutrition caused a decrease in the T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> serum concentration of pregnant rats and a delay in the reflex and somatic maturation of the offspring.

## 1. INTRODUÇÃO

A interação dos campos eletromagnéticos (CEMs) com o ser humano, por meio de correntes induzidas e campos suficientemente fortes podem resultar em efeitos agudos à saúde. Pesquisas epidemiológicas têm se expandido gradualmente e incluído outras patologias além do câncer como por exemplo: efeitos neurodegenerativos, suicídios e depressão (SOBEL; DAVANIPOUR, 1996; AHLBOM, 2001).

Diversos estudos têm sido feitos com o propósito de se identificar às mudanças que ocorrem no organismo, quando expostos à radiação eletromagnética. No entanto, muitas dúvidas ainda persistem, porém é conhecido o fato de que o número de diversas formas de câncer na população, tais como a leucemia infantil, tumores cerebrais, câncer pulmonar, câncer de mama, linfomas, etc. vem aumentando consideravelmente com os avanços tecnológicos (LOOMIS; SAVITZ; ANANTH, 1994; BALCER; ELIZABETH, 1995; HEALTH, 1996; STEVENS; DAVIS, 1996; TENFORDE, 1996; ERREN, 1997).

Becker (1972), sugeriu que o CEM no meio ambiente era o responsável por algumas doenças, pelo fato do CEM produzir correntes internas no organismo que competem com os que são produzidos naturalmente. Seguindo a tendência dos estudos em laboratório, deve-se esperar que o CEM esteja relacionado com várias doenças e não apenas com o câncer. Os estudos mostram que o campo eletromagnético é um estressor biológico e que a população sendo cronicamente estressada tem uma probabilidade maior de desenvolver doenças (MARINO; MORRIS, 1999). Segundo, Blank.; Soo; Papstein (1995), a instalação elétrica domiciliar ou do ambiente de trabalho, que produz um campo eletromagnético de 60 HZ, é capaz de estressar o organismo da população exposta, devido a alterações nas atividades enzimáticas como, por exemplo, alterações da Na, K-ATPase e segundo Tonini *et al* (2001) o CEM, 50-60 Hz atua na membrana

celular ao nível dos canais de cálcio e nos canais de potássio cálcio dependentes. Embora os campos eletromagnéticos de 60 Hz do ponto de vista biológico sejam classificados como não ionizantes, isto é, incapazes de promover ionização das cadeias de DNA, alguns estudos demonstram que o efeito Joule, desenvolvido no organismo irradiado, é capaz de provocar uma ruptura semelhante (LAI; SINGH, 1997).

Estudos similares têm sido publicados sobre o risco de efeitos adversos na reprodução humana, associados com a exposição ao CEM (CHERNOFF; ROGERS; KAVET, 1992; BRENT; BECKMAN; LANDEL, 1993; SHAW; CROEN, 1993; NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE; NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1996; TENFORDE, 1996; CREASEY, 2000). Segundo Juutilianem *et al* (1993), a exposição a campos eletromagnéticos pode causar aborto. A verdade é que, se não foi possível comprovar essa correlação, também não é conclusivo o fato de que as ondas eletromagnéticas são inofensivas quando incidem, com uma certa potência e frequência, sobre organismos vivos (GOLDBERG, 2000). Parece não haver dúvidas que a irradiação de ondas eletromagnéticas de baixa frequência é capaz de inibir o funcionamento da glândula pineal e a secreção da melatonina (WILSON *et al*, 1981; WELKER *et al*, 1983; LERCHL *et al*, 1990; KATO *et al*, 1991; LOESCHER *et al*, 1993; YELLON, 1994; WILSON *et al*, 1999). A queda na secreção da Melatonina e o aumento na liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e do Cortisol são sugestivos de que os corpos irradiados com as ondas eletromagnéticas de baixa frequência estão mais expostos a níveis elevados de estresse e por consequência, mais susceptíveis de desenvolver doenças ou desequilíbrios orgânicos (MARINO; MORRIS, 1999; LUCENA *et al*, 2002).

Grande parte da população brasileira é carente sendo classificada como de baixo poder aquisitivo e como tal, sendo vítima de uma nutrição inadequada e como

conseqüência sofrendo de desnutrição. A desnutrição promove alterações danosas aos diversos sistemas orgânicos, inclusive o sistema nervoso, tanto em animais de laboratório (CASTRO; TRACY; RUDY, 1989), como em humanos (STOCH *et al*, 1982). A Dieta Básica Regional foi elaborada por Teodósio *et al* (1981), baseando-se em um inquérito alimentar realizado em populações economicamente desfavorecidas da Zona da Mata de Pernambuco (BATISTA FILHO, 1968) e posteriormente analisada pelo setor de Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (TEODÓSIO *et al*, 1990). Essa dieta, a qual se convencionou chamar de “Dieta Básica Regional” (DBR), corresponde a uma alimentação multi-deficitária, contendo em torno de 8% de proteína mista das quais a maior proporção é de origem vegetal. Os animais submetidos experimentalmente ao consumo da DBR, apresentam alterações clínicas, bioquímicas e do desenvolvimento somático semelhantes àquelas encontradas em humanos desnutridos ( TEODÓSIO *et al*, 1981, 1983).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. OS CAMPOS ELÉTRICOS MAGNÉTICOS

#### 2.1.1. Grandezas e Unidades

Enquanto que os campos elétricos são associados somente com a presença de carga elétrica, os campos magnéticos resultam do movimento físico da carga elétrica (corrente elétrica). (INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION, 1998). Um campo elétrico **E**, exerce forças sobre uma carga elétrica, e é expresso em volt por metro ( $V.m^{-1}$ ).

Similarmente, campos magnéticos podem exercer forças físicas sobre cargas elétricas, mas somente quando tais cargas estão em movimento. Campos elétricos e magnéticos têm amplitude e direção (i.e. são grandezas vetoriais). Um campo magnético pode ser especificado de duas maneiras – como fluxo de densidade magnética **B**, expresso em tesla (**T**) ou como campo magnético **H**, expresso em Ampère por metro ( $A.m^{-1}$ ). As duas quantidades são relacionadas pela fórmula:  $\mathbf{B} = \mu\mathbf{H}$ , onde  $\mu$  é a constante de proporcionalidade (permeabilidade magnética). No vácuo ou no ar, bem como em materiais não magnéticos (inclusive meios biológicos),  $\mu$  tem o valor de  $4\pi.10^{-7}$  quando expresso em Henry por metro ( $H.m^{-1}$ ). Portanto, na descrição de um campo magnético, para finalidades de proteção, basta especificar uma das grandezas, **B** ou **H**, ver tabela 1.

Numa região distante da fonte geradora do CEM, o modelo de onda plana é uma boa aproximação para a propagação do mesmo. As características da onda plana são:

- As frentes de onda têm uma geometria plana;

- Os vetores E e H e a direção de propagação são mutuamente perpendiculares;
- A fase dos campos E e H é a mesma. No espaço livre (vácuo), o quociente E/H é igual a 377 ohm, que é o valor da impedância característica do espaço livre;
- A densidade de potência S, i.e., a potência por unidade de área normal à direção de propagação, está relacionada aos campos elétrico e magnético, pela expressão:

$$\mathbf{S} = \mathbf{E}\mathbf{H} = E^2/377 = 377 H^2$$

A mensuração do CEM próximo à fonte geradora é bem mais complicada, porque os valores máximo e mínimo dos campos E e H não ocorrem nos mesmos pontos ao longo da direção de propagação, como acontece na região de campo distante. Na região de campo próximo, a estrutura do campo eletromagnético pode não ser homogênea, e pode haver variações substanciais no valor da impedância de onda (377  $\Omega$  no campo distante), poderá haver quase exclusivamente campos E em algumas regiões e campos H em outras.

Exposições em campos próximos são mais difíceis de especificar, porque ambos os campos E e H devem ser medidos e porque os padrões dos campos são mais complicados; nesta situação, a densidade de potência não é mais uma quantidade apropriada para exprimir restrições à exposição (como ocorre no campo distante).

A exposição a CEM variáveis no tempo resulta em correntes internas no corpo e absorção de energia nos tecidos, que dependem dos mecanismos de acoplamento e da frequência envolvida.

O campo elétrico interno e a densidade de corrente estão relacionados pela Lei de Ohm:

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E}$$

- Onde  $\sigma$  é a condutividade elétrica do meio.

Tabela 1 – Grandezas elétricas, eletromagnéticas, dosimétricas e unidades correspondentes SI

<i>Grandeza</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Unidade</i>
Condutividade	$\sigma$	Siemens por metro ( $S.m^{-1}$ )
Corrente	I	ampére (A)
Densidade de corrente	J	ampére por $m^2$ ( $A.m^{-2}$ )
Frequência	f	Hertz (Hz)
Campo elétrico	E	Volt por metro ( $V.m^{-1}$ )
Campo magnético	H	Ampére por metro ( $A.m^{-1}$ )
Densidade de Fluxo magnético	B	Tesla (T) *
Permeabilidade magnética	$\mu$	Henry por metro ( $H.m^{-1}$ )
Permissividade	$\epsilon$	Farad por metro ( $F.m^{-1}$ )
Densidade de potência	S	Watt por $m^2$ ( $W.m^{-2}$ )
Absorção específica	SA	Joule por kg ( $J.kg^{-1}$ )

Fonte: INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION – 1998.

(\*) Como em alguns trabalhos, particularmente os norte-americanos, é usual a utilização de unidades do sistema CGS (Gauss), damos a seguir sua conversão:

$$1 \mu T = 10 \text{ mG}$$

**2.1.2. EFEITOS ADVERSOS DOS CAMPOS ELETROMAGNÉTICOS (50/60 HZ) EM HUMANOS E EM ANIMAIS: UMA REVISÃO DA LITERATURA.**

EFEITOS ADVERSOS DO CEM 50/60Hz

**ADVERSE EFFECTS OF THE ELECTRO-MAGNETIC FIELDS (50/60 HZ) IN HUMANS AND ANIMALS: A LITERATURE REVIEW.**

ADVERSE EFFECTS OF THE EMF 50/60Hz

Autores:

Caroline Wanderley Souto Ferreira Anselmo, Doutoranda do Departamento de Nutrição – Universidade Federal de Pernambuco.

Francisca Martins Bion, Professora do Departamento de Nutrição – Universidade Federal de Pernambuco.

Maria Teresa Jansem de Almeida Catanho, Professora do Departamento de Biofísica – Universidade Federal de Pernambuco.

Maria do Carmo Medeiros, Professora do Departamento de Nutrição - Universidade Federal de Pernambuco.

Endereço Institucional Primeiro Autor:

Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife-PE – CEP: 50670-901.

cwsfa@hotmail.com.

## **RESUMO**

Os avanços tecnológicos têm aumentado o número de equipamentos elétricos e eletrônicos, seja nas residências ou mesmo no ambiente de trabalho, fazendo com que a população conviva com um grande número de fontes de irradiação eletromagnética, com os mais diversos níveis de potência e frequência. Por muitos anos, alguns cientistas acreditaram que o campo eletromagnético (CEM) com frequência extremamente baixa não pudesse causar efeitos e alterações significantes no material biológico. Este trabalho tem como objetivo verificar os efeitos adversos dos CEMs, em humanos e animais, que foram publicados nos últimos anos, através de uma revisão da literatura disponível em medline, revistas nacionais e internacionais e catálogos de obras de referência na área dos CEM (50/60 Hz). Como resultado foi observado que o CEM (50/60 Hz) é capaz de produzir diversos efeitos adversos em humanos e animais, como por exemplo: Distúrbios na reprodução, doenças degenerativas, efeitos psiquiátricos e psicológicos, alterações citogenéticas, alterações no sistema cardiovascular, nervoso e neuroendócrino, bem como nos parâmetros biológicos e bioquímicos. Apesar de todas estas constatações e devido a muitas controvérsias entre vários autores, se faz necessário um estudo mais específico e aprofundado sobre este assunto.

Palavras-chave: Campo Eletromagnético, 50/60 Hz, Efeitos adversos.

## **ABSTRACT**

The technologic development has increased the number of electric and electronic devices for household and work environment applications. In this way, we have to cope with a diverse quantity of electromagnetic irradiation sources, with different power and frequency ranges. For many years, some scientists and engineers believed that low-frequencies electro-magnetic field (EMF) could not cause any bad effect or substantial alterations on the biologic livings. This work has the objective to perform a literature

review of the possible effects of EMF in human beings and animals, that was published in the past years on MEDLINE, international, and national journals about the EMF (50/60Hz). The results showed that extremely low EMF might produce adverse effects, i.e. cancer, reproduction disruption, degenerative illnesses, citogenetic alterations, and cardiovascular, neurologic and neuroendocrine system alterations, in humans and animals. The biologic and biochemical parameters suffered interference as well. Despite all these findings, we can find some disagreements among the authors. Hence it is necessary to extend the research about this issue.

Key words: Electro-magnetic fields, 50/60 Hz, Adverse effects.

## **INTRODUÇÃO**

Os avanços tecnológicos têm aumentado o número de equipamentos elétricos e eletrônicos, seja nas residências ou mesmo no ambiente de trabalho, fazendo com que a população conviva com um grande número de fontes de irradiação eletromagnética, com os mais diversos níveis de potência e frequência. A exposição humana a radiações do campo eletromagnético (CEM) ocorre por toda à parte, resultante da proximidade de linhas de força de alta voltagem e estações de força de transmissão, do uso de eletrodomésticos e equipamentos como microondas, monitores de vídeo e telefones celulares. Consequentemente, há interesse em determinar se há riscos aos indivíduos expostos de forma constante aos CEM (ESTÉCIO; SILVA, 2002).

Por muitos anos, alguns cientistas acreditaram que o campo eletromagnético (CEM) de baixa frequência não pudesse causar efeitos e alterações significantes no material biológico. Esse raciocínio esteve fundamentado no fato de o CEM não provocar ionizações em ligações moleculares do material genético e de apenas gerar uma quantidade de calor insuficiente para elevar a temperatura do tecido corporal. Contudo constatou-se que esses argumentos são incorretos, pois há outras formas dos campos

interagirem com células individuais para gerar tais alterações (LECHTER, 1991). Becker (1972), foi um dos primeiros pesquisadores a sugerir que o CEM no meio ambiente era o responsável por algumas doenças, pelo fato de o CEM produzir correntes internas no organismo que competem com os que são produzidos naturalmente.

Segundo Lai & Singh (1997a) embora os CEM de 60 Hz sejam classificados como não ionizantes, isto é, incapazes de romper, por vibração, as cadeias de DNA, alguns estudos demonstram que o Efeito Joule, desenvolvido no organismo irradiado, é capaz de provocar uma ruptura semelhante. Seguindo a tendência dos estudos em laboratório, devemos esperar que o CEM esteja relacionado com diversos tipos de doença e não apenas com o câncer. Os estudos mostram que o CEM é um estressor biológico e que a população sendo cronicamente estressada tem uma probabilidade maior de desenvolver doenças (MARINO & MORRIS, 1999).

Alguns estudos em trabalhadores envolvidos na fabricação de ímã indicaram vários sintomas subjetivos e distúrbios funcionais incluindo irritabilidade, fadiga, dor de cabeça, perda de apetite, bradicardia, taquicardia, queda da pressão sanguínea, alteração no eletroencefalograma, prurido, queimação e dormência (INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION, 1994).

Estudos similares têm sido publicados sobre o risco de efeitos adversos na reprodução humana, associados com a exposição ao CEM (CREASEY, 2000). Segundo Juutilianem et al (1993), a exposição a campos eletromagnéticos pode causar aborto. A verdade é que, se não foi possível comprovar essa correlação, também não é conclusivo o fato de que as ondas eletromagnéticas são inofensivas quando incidem, com uma certa potência e frequência, sobre organismos vivos (GOLDBERG, 2000).

Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo verificar os possíveis efeitos adversos do CEM, em humanos e animais, que foram publicados nos últimos quarenta

anos, através de uma revisão da literatura disponível em medline, revistas nacionais e internacionais e catálogos de obras de referência na área dos CEM (50/60 Hz).

## **CÂNCER EM HUMANOS**

Becker (1977) analisou o número de câncer, entre aproximadamente 1100 residentes de uma área rural no norte de Syracuse, Nova York. Esta área era cruzada por linhas de alta tensão e continha 20 antenas. A incidência de câncer nesta área entre 1974 e 1977, foi quase o dobro da esperada no estado como um todo. Em 1979, Wertheimer & Leeper apresentaram um estudo indicando que os ambientes expostos aos campos eletromagnéticos de 50 e 60 Hz podem aumentar o risco de doenças crônicas – mortalidade por câncer em crianças. Três anos depois este estudo foi seguido pelo trabalho de Milham (1982), que mostrou uma relação entre leucemia e trabalho em ambientes expostos ao CEM, ao utilizar uma base de dados fundamentada em certificados de óbito, que incluía tipos de emprego e informações sobre a mortalidade por câncer, em Washington. Outros estudos similares foram feitos por Wright et al (1985) em Los Angeles e por Coleman et al (1983) na Inglaterra, onde os resultados obtidos concordaram com os resultados de Milham.

McDowall (1983), publicou um estudo epidemiológico envolvendo 537 mortes, por leucemia, na Inglaterra e País de Gales em 1973; o grupo controle incluía todos os tipos de morte exceto leucemia. Ele encontrou um risco relativo maior de desenvolver leucemia os trabalhadores submetidos ao CEM em seus ambientes de trabalho. Em estudo similar Pearce et al (1985), também reportaram que eletricitistas na Nova Zelândia tinham um risco maior de sofrer de leucemia. Li et al (1997), informaram haver um aumento de casos de leucemia em adultos morando a menos de 50 metros de uma linha de força de alta tensão.

Lin et al (1985), estudaram a relação entre ocupação e mortalidade por tumor de cérebro que ocorreram entre homens brancos residentes em Maryland entre 1969-1982. Análises preliminares mostraram mais mortes entre trabalhadores expostos ao CEM (eletricistas, engenheiros elétricos) do que o esperado. Foi observado um número significativamente diferente entre o número de indivíduos portadores de glioma e astrocitoma entre os indivíduos expostos quando comparados com o grupo controle. Segundo Swerdlow (1983), em um estudo epidemiológico entre 1962 e 1977, onde observou uma alta taxa de câncer de olho entre homens que trabalhavam na indústria elétrica e eletrônica na Inglaterra e País de Gales, os valores encontrados para este grupo foram bem mais altos que os valores encontrados entre os trabalhadores em geral para este tipo de doença.

Vagero & Olin (1983), estudaram os casos de câncer reportados na Suécia, no período de 1961-73, eles observaram uma maior quantidade de casos de câncer entre homens e mulheres, com idade entre 15 e 64 anos, no grupo formado por trabalhadores da indústria eletrônica. Eles observaram um aumento na incidência de câncer de 15% entre homens e de 8% entre as mulheres que trabalhavam na indústria eletrônica quando comparados com o restante dos trabalhadores. Trabalhadores de linha de alta tensão no Canadá exibiram uma taxa três vezes maior na quantidade de câncer de intestino quando comparados com os outros trabalhadores (HOWE & LINDSAY, 1983). Em estudos posteriores Savitz & Ahlbom (1994), que utilizaram bases de dados semelhantes; observaram que os tipos de câncer, para os quais foram notados índices elevados, variaram nos diversos estudos, particularmente quando foram caracterizados os subtipos de câncer.

Segundo Stevens et al (1992), as nações industrializadas apresentam um alto índice de câncer de mama entre as mulheres. Segundo Savitz et al (1990), em um estudo realizado em Denver, relataram uma ligação entre o uso pré-natal de cobertores elétricos e a

leucemia na infância. Um outro estudo feito em Los Angeles constatou uma associação entre leucemia e crianças que usavam secadores de cabelo e assistiam televisão em receptores monocromáticos (LONDON et al, 1991). Linet et al (1997) fizeram um extenso estudo de casos, nos Estados Unidos (638 casos e 620 indivíduos de controle), para testar se a leucemia linfóide aguda na infância está associada à exposição a campos magnéticos de 60 Hz. Eles observaram uma associação positiva, entre os campos magnéticos e o risco de leucemia. Segundo Loomis et al (1998), existe uma associação positiva entre o risco de câncer de cérebro e a exposição ocupacional ao CEM. Conclusões similares têm sido reportadas quanto ao desenvolvimento de câncer em adultos, particularmente quanto ao aumento da incidência de tumor no cérebro e leucemia em trabalhadores da rede elétrica nos Estados Unidos (ROBINSON et al, 1997) e na Suécia (FLODERUS et al, 1994). Feychting & ahlbom (1994), fizeram um estudo epidemiológico entre adultos, na Suécia, que viviam perto de linhas de alta tensão e observaram um aumento de leucemia e tumores no sistema nervoso central. Feychting et al (1998), em outro estudo epidemiológico na Suécia, observaram uma relação entre exposição ao CEM de jovens mulheres, até 50 anos, que viviam perto de linhas de alta tensão e o diagnóstico de câncer de mama.

Juutilainen et al (2000), ao estudarem mulheres expostas ao CEM no ambiente de trabalho, propuseram a hipótese de que a exposição ao CEM pode potenciar os efeitos de agentes carcinogênicos conhecidos, mas apenas quando ambas as exposições são crônicas. Há indicações de que o CEM pode influenciar a ação de enzimas, o sinal de transdução, a expressão gênica e a síntese de proteínas, que exercem atividades importantes na regulação da proliferação celular e nos processos envolvidos na promoção tumoral (TOSKO, 2000).

Villeneuve et al (2000a), fizeram um estudo epidemiológico entre 31453 trabalhadores da indústria elétrica e observaram que os CEM atuam com um agente promotor na etiologia da leucemia em adultos. Villeneuve et al (2000b), após um estudo epidemiológico em Ontário, com trabalhadores, do sexo masculino, da indústria elétrica, suportaram a hipótese de que o CEM pode ser um agente promotor na etiologia do linfoma “non-Hodgkin’s”.

Tynes et al (2003), suportaram a idéia de que havia uma relação entre o surgimento do melanoma e a exposição ao CEM, após realizarem um estudo epidemiológico na Noruega, utilizando adultos com idade a partir dos dezesseis anos.

### **CÂNCER EM ANIMAIS**

Holmberg (1995), fez uma revisão dos trabalhos publicados que usaram CEM com intensidade entre,  $0.5\mu\text{T}$  e  $30\text{mT}$ , em ratos e chegaram à conclusão de que o CEM não é iniciador do desenvolvimento tumoral, mas pode ser o promotor do processo já iniciado. Essa hipótese é apoiada por estudos mostrando que a exposição ao CEM acelera a tumorigênese em animais expostos a carcinogênicos. Os dados apresentados pela revisão de Loescher & Liburdy (1998) mostram indicações, a partir de estudos em animais, que a exposição ao CEM de 50-60 Hz exerce efeito co-promotor ou promotor de câncer em células já iniciadas no processo cancerígeno.

### **REPRODUÇÃO EM HUMANOS**

Lindholm et al (1992) observaram mulheres grávidas submetidas ao CEM emitidos por monitores de vídeo e constatou um maior índice de aborto entre elas. Segundo Juutilainen et al (1993), mulheres grávidas submetidas ao CEM no ambiente em que vivem, estão mais propensas a sofrer aborto.

## **REPRODUÇÃO EM ANIMAIS**

Segundo Cecconi (2000), o CEM de 50 Hz pode prejudicar o potencial reprodutivo de fêmeas mamíferas pela redução da capacidade dos folículos de atingirem o estágio de desenvolvimento essencial para o sucesso da reprodução. Eles chegaram a essa conclusão expondo células foliculares in-vitro ao CEM de 50 Hz, 1.5 mT, por um período de cinco dias. Al-Akhras et al (2001), submeteram ratos Sprague-Dawley adultos, machos e fêmeas, ao CEM de 50 Hz, 50  $\mu$ T, por noventa dias antes de acasalar. Os ratos apresentaram redução na fertilidade e o número de ratas prenhas foi menor entre as ratas que foram acasaladas com ratos expostos ao CEM, e o número de reabsorção fetal foi maior nas ratas. Lee et al (2004), observou os efeitos do CEM de 60 Hz, 0.1 mT ou 0.5 mT, por 24 horas, durante oito semanas, nas células germinativas dos testículos em ratos machos adultos. Como resultado eles observaram que o CEM pode induzir a morte de células germinativas em ratos.

## **DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS EM HUMANOS**

De acordo com Repacholi (1998), a exposição ao CEM pode gerar disfunções do sistema nervoso central (SNC), induzindo ao nervosismo, à ansiedade, ao estresse, a distúrbios do sono e outros.

Segundo Savitz et al (1998), há indicações de que a exposição ocupacional aos campos magnético e elétrico pode estar associada a um risco aumentado para o aparecimento de doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson e esclerose amiotrófica lateral. Sobel & Davanipour (1996), também sugeriram que haveria uma associação entre doença de Alzheimer e exposição ocupacional a campos magnéticos.

Segundo os dados obtidos por Ahlbom (2001) em uma meta-análise, utilizando o material apresentado no Simpósio sobre CEM que foi organizado pelo *US National Institute of Environmental Health Sciences* em 1998, verificou que existe uma forte

evidência de aumento do risco de esclerose lateral amiotrófica em pessoas que trabalham com eletricidade. No entanto, a exposição ao CEM, é uma entre várias causas possíveis. Ahlbom (2001), suporta a hipótese de que um trabalhador exposto ao CEM, em sua profissão, está muito mais susceptível a desenvolver esclerose lateral amiotrófica do que Alzheimer.

### **EFEITOS PSIQUIÁTRICOS E PSICOLÓGICOS EM HUMANOS**

No final da década de 70, Reichmanis et al(1979), publicaram um trabalho indicando que havia uma relação entre a exposição ao CEM e suicídio. Baris et al (1996), afirmaram existir evidências de uma associação entre suicídio e exposição cumulativa ao CEM. Wilson (1988), sugere que o transtorno causado pela exposição ao CEM ao ritmo circadiano da melatonina poderia estar relacionado com a depressão.

Massot et al (2000) em seus experimentos *in vitro* observaram que o CEM de 50 Hz, 2  $\mu$ T e 2 mT, especificamente interage com os receptores 5-HT<sub>1B</sub>, induzindo mudanças estruturais da proteína resultando em uma diminuição da sensibilidade funcional dos receptores. Por isso, *in vivo*, a exposição ao CEM pode levar a mudanças fisiológicas, particularmente no campo das alterações do humor onde o sistema 5-HT é fortemente envolvido.

### **CITOGENÉTICA EM HUMANOS**

Alguns estudos citogenéticos realizados *in vitro* não demonstraram aumento das frequências de aberrações cromossômicas em células expostas ao CEM (SCARFI, et al, 1994), enquanto outros observaram diferenças significantes nas frequências de aberrações cromossômicas em consequência da ação do CEM em situações específicas (KHALIL & QASSEN, 1991). Esses autores relataram ocorrência aumentada de aberrações cromossômicas em células cultivadas expostas ao CEM, de 50 Hz, 1.05 mT,

72h, sendo atribuída uma correlação entre a frequência de alterações e o tempo de exposição.

Nordenson et al (1994), usando células amnióticas de humanos, publicaram que exposição contínua ou intermitente ao CEM de intensidade 0,03 mT e com frequência de 50 Hz levava a uma quantidade duas ou três vezes maior de aberrações cromossômicas. No entanto, quando a intensidade era aumentada para 0,3 mT nenhum efeito era observado (NORDENSON et al, 1994).

Ahuja et al (1999), após expor amostras de sangue ao CEM de 50 Hz, divididas em cinco grupos de intensidades diferentes (2, 3, 5, 7 e 10 mT) evidenciou que o CEM de 50 Hz, pode ter efeito genotóxico em linfócitos humanos, principalmente de mulheres. Liburdy & Löscher Apud Repacholi & Greenebaum (1999), em um estudo *in vitro*, afirmaram que a proliferação celular era aumentada em uma variedade de tipos celulares quando expostas ao CEM de intensidade acima que 1 mT. Valjus et al (1993), analisaram linfócitos periféricos cultivados por 48h em trabalhadores de linhas de força, considerados um grupo com exposição elevada ao CEM de 50 Hz, e em trabalhadores de linhas telefônicas (grupo-controle). Esses autores relataram uma taxa aumentada, em relação aos controles, de células com quebras cromatídicas entre trabalhadores de linhas de força. Estécio & Silva (2002), também utilizaram culturas de 48h de linfócitos de sangue venoso periférico e observaram que as quebras cromatídicas também foram o tipo de alteração mais frequentemente encontrado nos indivíduos expostos ao CEM emitido pelos monitores de vídeo dos computadores. Contudo, as características do CEM produzidos pelos monitores de vídeo dos computadores são diferentes daquelas dos demais experimentos. Contrariando estes resultados, Fairbairn & O'Neill (1994), não detectaram quebras na cadeia simples do DNA em estudos moleculares realizados com células humanas cultivadas expostas ao CEM. Khalil & Qassem (1991), expuseram

linfócitos humanos ao CEM de 50 Hz, 1.05 mT, com tempos de exposição diferentes, sendo a primeira amostra exposta por 24h, a segunda por 48 h e a terceira por 72 h. Após este experimento eles sugeriram uma correlação entre o aumento da frequência de alterações citogenéticas e o tempo de exposição ao CEM (KHALIL & QASSEM, 1991).

Segundo Estécio & Silva (2002), também foi verificada relação entre aumento da idade e capacidade diminuída das células em reparar o DNA danificado, sendo o reparo do DNA mais eficiente em indivíduos mais jovens. Independentemente do mecanismo de ação, o CEM gera instabilidade cromossômica. Indivíduos com essa instabilidade podem gerar células com uma frequência maior de mutações ou aberrações cromossômicas do que aqueles com genoma estável, o que aumenta o risco de desenvolvimento de câncer (HSU et al, 1986). De acordo com Estécio & Silva (2002), sob condições semelhantes de exposição ambiental, um indivíduo que apresenta mecanismo de reparo de DNA ineficiente provavelmente acumula mais mutações e aberrações cromossômicas do que um com sistema de reparo de DNA normal. Assim, a ocorrência aumentada de certos tipos de cânceres entre indivíduos expostos ao CEM, encontrada em diversos estudos epidemiológicos, poderia estar relacionada a uma instabilidade cromossômica.

Os resultados conflitantes obtidos pelos diferentes estudos, quanto à ação do CEM sobre o material genético, devem decorrer da utilização de diferentes metodologias, tipos celulares, dose e período de exposição ao CEM. Porém, permanece ainda uma forte sugestão do efeito deletério do CEM sobre os sistemas biológicos (ESTÉCIO & SILVA, 2002).

## **CITOGENÉTICA EM ANIMAIS**

Lai & Singh (1997b), observaram um aumento nas quebras das cadeias simples de DNA em células do cérebro de ratos expostos ao CEM de 60 Hz, 0.1, 0.25 e 0.5 mT. Lai & Singh (2004), repetiram o experimento anterior utilizando uma intensidade de 0.01 mT por 24h e 48h e observaram quebras nas cadeias simples e duplas do DNA e este efeito foi maior nas células expostas por 48h, mostrando um efeito cumulativo. Robison et al (2002), demonstraram que células expostas ao CEM de 60 Hz, 0.15 mT, apresentaram uma diminuição na taxa de reparo nas linhas celulares HL-60 e HL-60R.

Heredia-Rojas et al (2004), estudaram o efeito do CM de 60 Hz, 2.0 mT, em células germinativas de ratos. Eles observaram um efeito oposto em termos de aberrações cromossômicas e morfologia do espermatozóide, quando compararam o grupo exposto ao CM com o grupo tratado com mitomicina C.

### **SISTEMA CARDIOVASCULAR EM HUMANOS**

De acordo com Cook et al (1991), quando voluntários, homens saudáveis, foram expostos aos campos eletromagnéticos de 20  $\mu$ T e 60 Hz, foram observadas mudanças na frequência cardíaca (diminuição). Os efeitos eram maiores logo depois que o campo era ligado ou desligado. Estudos recentes em humanos têm revelado variações temporárias e reversíveis na frequência cardíaca em humanos expostos a CEM de 20  $\mu$ T (SASTRE et al, 1998). Pelo menos um estudo epidemiológico fala de uma associação entre exposição ocupacional aos campos eletromagnéticos e morte devido a arritmias ou infarto agudo do miocárdio, apesar da ausência de doença cardíaca crônica (SAVITZ et al, 1999).

### **SISTEMA CARDIOVASCULAR EM ANIMAIS**

Jeong et al (2005), observaram que a exposição de ratos ao CEM de 60 Hz, 20 Gauss, durante um dia, pode suprimir o aumento da frequência cardíaca afetando a

repolarização ventricular e pode retardar o sistema cardiovascular induzido pelo agonista simpático.

### **SISTEMA NERVOSO EM ANIMAIS**

O CEM de 50 Hz, causou uma variedade de mudanças na estrutura neuronal nos cérebros de coelhos expostos, incluindo alterações do retículo endoplasmático das células de Purkinje, e a formação de numerosos corpos lamelares (HANSSON, 1981). Jeong et al (2000), observaram que ratos expostos ao CEM de 60 Hz, 20gauss, durante 24h, sofreram uma inibição no aumento do limiar de dor durante a noite e uma hiperalgesia durante o dia, com o envolvimento de opióides e do sistema benzodiazepínico. Choi et al (2003), estudaram o efeito do CEM de 60 Hz, 1.5 mT, no limiar de dor em ratos, sendo um grupo exposto ao CEM de 8h às 20h e o outro de 20h às 8h, durante cinco dias. Com este estudo eles sugeriram que o CEM pode alterar o limiar de dor diurno, atuando no sistema, que é associado com o ciclo noite-dia do meio ambiente.

### **PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM ANIMAIS**

Bonhomme-Faivre et al (1998), em um estudo experimental mensuraram mudanças nos parâmetros biológicos, bioquímicos e de cortisol em camundongos *swiss* com seis semanas de idade. Os camundongos foram expostos continuamente ao CEM gerado por transformadores. A média diária de exposição de 50  $\mu$ T foi mantida por 350 dias. Os parâmetros hematológicos foram comparados com os dos ratos controles expostos a um CEM ambiente baixo de 0,1  $\mu$ T. Os parâmetros bioquímicos analisados no soro (sódio, potássio, cloreto, cálcio, magnésio, fósforo, amilase, creatino fosfoquinase e lactato desidrogenase) foram quantificados depois de 28 dias de exposição e o cortisol depois de 90 e 190 dias. Vinte dias após o início da exposição os ratos expostos mostraram uma diminuição significativa no número de leucócitos, eritrócitos, linfócitos e

monócitos, bem como um aumento significativo nos valores da hemoglobina e do hematócrito, enquanto que volume corpuscular médio aumentou. Noventa dias após, uma queda significativa foi observada na quantidade de leucócitos, neutrófilos polinucleares e eosinófilos nos animais expostos. Após 190 dias, os animais expostos sofreram neutropenia e uma diminuição nos valores de cortisol (BONHOMME-FAIVRE, 1998).

### **SISTEMA NEUROENDÓCRINO EM HUMANOS**

A teoria neuroendócrina para explicar os efeitos biológicos do CEM induzido foi formulada por Marino (1993), onde ele fala que o CEM é detectado pelas células do sistema nervoso e a informação é transmitida para o hipotálamo o qual é responsável por liberar respostas hormonais e elétricas para se opor aos efeitos do CEM nas interações elétricas que mediam processos vitais como a transcrição, tradução e as interações com os anticorpos. A magnitude e direção de cada parâmetro mensurável que constitui a resposta em cascata são influenciadas por fatores internos do organismo e pelos fatores ambientais (MARINO, 1993).

Apesar de mudanças neuroendócrinas estarem relacionadas à exposição ao CEM, não existem conhecimentos das conseqüências dessas mudanças para a saúde (REPACHOLI & GREENEBAUM, 1999). Segundo Stevens (1987), a supressão da melatonina como resultado da exposição ao CEM tem levantado a hipótese de que esta exposição pode levar ao câncer de mama. De acordo com Wilson et al (1989), outras desordens podem ocorrer no ser humano, através de um ou mais mecanismos, envolvendo os hormônios da glândula pineal. McLauchlan (1992); Scaiano et al (1994) e outros têm proposto que 50/60 Hz CM aumentam o tempo de vida dos radicais livres no organismo. No entanto Valberg et al (1997), afirmaram que os efeitos biológicos do CEM reportados na literatura não são os principais fatores para explicar o mecanismo de ação dos radicais

livres no organismo. Segundo Méndez et al (1992), ao comparar trabalhadores expostos ao CEM por dez anos com trabalhadores não expostos, observaram que os trabalhadores expostos apresentaram alterações no sistema imune que foram demonstradas através da dosagem de IgG e IgA. A imunidade se encontrou diminuída tanto na roseta ativa quanto na roseta espontânea.

Simkó & Mattsson (2004), baseados numa extensa revisão da literatura, sugeriram que a exposição ao CEM é capaz de causar efeitos adversos ao organismo devido ao aumento dos níveis de radicais livres no mesmo.

### **SISTEMA NEUROENDÓCRINO EM ANIMAIS**

Segundo Kato et al (1994), exposição de ratos ao CEM (0.02 e 1.0  $\mu$ T) por 42 dias, leva a uma diminuição nos níveis de melatonina diurnos e noturnos. Similarmente, exposição de ratos albinos ao CEM de 50Hz com intensidade de 0.1 mT, diminuiu os níveis de melatonina noturna que por sua vez limitou a taxa enzimática, N-acetiltransferase, na glândula pineal (SELMAOUI & TOUITOU, 1995).

Experimentos baseados na hipótese, de que o câncer de mama e outras desordens no ser humano estariam relacionados com um ou mais mecanismos envolvendo os hormônios da glândula pineal, tem indicado que a exposição ao campo magnético (CM) pode aumentar o risco de câncer de mama em ratos tratados com dimetilbenzantraceno (LOESCHER et al, 1994). Rosen et al (1998), mostraram que o CEM de 50  $\mu$ T e 60Hz, em dez experimentos, causou em média uma redução de 46% na produção de melatonina pelas células pineais em animais de laboratório.

Wilson et al (1999) expuseram mamíferos sensíveis ao tempo de exposição à luz, *Phodopus sungorus*, ao CEM de 60 Hz (0.1 mT), dividindo-os em dois grupos: um exposto a um pequeno período de luz (8:16) e o outro exposto a um período maior de luz (16:8). Foi observada uma alteração na função da glândula pineal e do eixo

hipotálamo-pituitária-gonadal. Estas alterações podem ser determinadas pela supressão da melatonina pineal e o aumento das concentrações de norepinefrina. Animais expostos por 16 dias ao CEM aumentou o nível da prolactina circulante. Animais expostos diariamente por 30 a 42 dias ou mais obtiveram uma redução no peso das gônadas e retardo no crescimento.

A exposição de macacos ao CEM produziu um aumento nos níveis de corticóides na urina por mais ou menos seis dias, depois os níveis de corticóide retornaram ao nível normal apesar de continuarem expostos ao CEM (FRIEDMAN & CAREY, 1972).

Segundo Lucena et al (2002), ratos *Wistar*, com sessenta dias de vida, que foram submetidos ao CEM de 60 Hz, intensidade de 3 $\mu$ T, durante duas horas por dia, apresentaram um aumento nas dosagens de ACTH, cortisol e glicose circulantes, quando comparados com o grupo controle, indicando que os mesmos foram estressados pela exposição ao CEM.

De acordo com Harakawa et al (2004), ratas ovárioectomizadas, expostas ao CEM de 60 Hz por 60 minutos, apresentaram um aumento estatisticamente significativo nos níveis de ACTH, glicose, lactato e piruvato plasmático, demonstrando que o CEM altera a resposta ao estresse e o metabolismo energético em ratas estressadas.

Rodriguez et al (2002), estudaram o efeito do CEM de 60 Hz, 30  $\mu$ T, em vacas prenhas, submetidas a dias mais curtos (8h claro/16h escuro). Eles observaram que as vacas submetidas ao CEM apresentaram uma produção maior de leite do que as vacas não submetidas ao CEM, na quarta semana do experimento. Rodriguez et al (2004), estudaram o efeito do CEM de 30 $\mu$ T, em vacas leiteiras, submetidas a dias curtos (8h claro/16h escuro), durante 4 semanas, através das concentrações séricas de melatonina e prolactina. Eles observaram que o CEM pode modificar a resposta das vacas leiteiras a mudanças no tempo de exposição à luz.

## **SISTEMA IMUNOLÓGICO**

Montenegro et al (2003), observaram através de uma revisão da literatura que os campos eletromagnéticos não ionizantes de baixa frequência, interferem na atividade fagocítica, reconhecimento de antígenos e proliferação dos linfócitos no sistema imune, provocando diversas alterações, tanto aumentando ou diminuindo a resposta à indução promovida pelos campos. Ichinose et al (2004), observaram 60 trabalhadores submetidos ao CEM de 60 Hz durante o horário de trabalho e verificou entre eles uma redução na atividade da ornitina descarboxilase, e alguns marcadores imunológicos eram mais fortes.

## **CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO ANIMAL**

Sandrey et al (2002) observaram que ratos jovens expostos ao CEM (60 Hz), perderam mais massa que os animais não expostos e que a recuperação foi mais lenta.

Grimaldi et al (2004), mostrou que quando populações de girino (*Xenopus laevis*) eram submetidas ao CEM de 50 Hz, 1 mT, 45% dos indivíduos sofriam metamorfose enquanto que no grupo de girinos não expostos este percentual era de 85%.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Através desta revisão da literatura foi observado que o CEM de frequência extremamente baixa é capaz de produzir efeitos adversos em seres humanos e animais, como por exemplo: Câncer, distúrbios na reprodução, doenças neurodegenerativas, efeitos psiquiátricos e psicológicos, alterações citogenéticas, alterações no sistema cardiovascular, nervoso, neuroendócrino e imunológico, distúrbios no crescimento e desenvolvimento, bem como nos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Apesar de todas estas constatações e devido a muitas controvérsias entre vários autores, se faz necessário um estudo mais específico e aprofundado sobre este assunto.

## **REFERÊNCIAS**

- AHLBOM, A 2001. Neurodegenerative Diseases, Suicide and Depressive Symptoms in Relation to EMF. *Bioelectromagnetics Supplement 5*:S132-S143.
- AHUJA, YR et al 1999. In vitro effects of low level, low frequency eletromagnetic fields on DNA damage in human leucocytes by comet assay. *Indian Journal of Biomechemistry and Biophysics 36*:318-22.
- AL-AKHRAS, M et al 2001. Effects of extremely low frequency magnetic field don fertility of adult male and female rats. *Bioeletromagnetics 22(5)*:340-344.
- BARIS, D; ARMSTRONG, BG; DEADMAN, J; THÉRIAULT, GA 1996. mortality study of electrical utility workers in Quebec. *Occupational and Environmental Medicine 53*:25-31.
- BECKER, RO 1972. Electromagnetic Forces and Life Process. *Technology Review (MIT) 75*:32-38.
- BECKER, RO 1977. Microwave radiation, N.Y. State. *Journal of Medicine 77*:217.
- BONHOMME-FAIVRE, L et al 1998. Alterations of biological parameters in mice chronically exposed to low-frequency (50 Hz) electromagnetic fields. *Life Sciences 62(14)*:1271-1280.
- CECCONI, S. 2000. Evaluation of the effects of extremely low frequency electromagnetic on mammalian follicle development. *Human Reproduction 15(1)*:2319-2325.
- CHOI, YM et al 2003. Extremely low frequency magnetic field exposure modulates the diurnal rhythm of the pain threshold in mice. *Bioelectromagnetics 24(3)*: 206-10.
- COLEMAN, MP.; BELL, CMJ.; SKEET, R 1983. Leukemia incidence in electrical workers. *Lancet i*:246.

COOK, MR; GRAHAM, C; COHEN, HD; GERKOVISH, MM 1991. A replication study of human exposure to 60-Hz fields: Effect on neurobehavioral measures. *Bioelectromagnetics* 13:261.

CREASEY, WA 2000. Podem a potência e a frequência dos campos eletromagnéticos ser mutagênicas? *EMF Health Report* 8(2), mar/abr.

ESTÉCIO, MRH; SILVA, AE 2002. Alterações cromossômicas causadas pela radiação dos monitores de vídeo de computadores. *Revista de Saúde Pública* 36(3):330-6.

FAIRBAIRN, DW; O'NEILL, KL 1994. The effect of eletromagnetic field exposure on the formation of DNA single strand breaks in human cells. *Cellular & Molecular Biology Letters* 40:561-7.

FEYCHTING, M; AHLBOM, A 1994. Magnetic fields, leukemia, and central nervous system tumors in Swedish adults residing near high-voltage power lines. *Epidemiology* 5:501-509.

FEYCHTING, M et al 1998. Magnetic fields and breast cancer in Swedish adults residing near high-voltage power lines. *Epidemiology* 9:392-7.

FLODERUS, B; TORNQVIST, S; STENLUND, C 1994. Incidence of selected cancers in Swedish railway workers, 1961-79. *Cancer Causes & Control* 5(2):189-194.

FRIEDMAN, H; CAREY, RJ 1972. Biomagnetic stressor effects in primates. *Physiology & Behavior* 9:171.

GOLDBERG, R B 2000. Breast Cancer Risk and EMF Exposure. *EMF Health Report* 8(1) Jan/Feb.

GRIMALDI, S et al 2004. Influence of 50 Hz Electromagnetic Field on Anurian (*Xenopus laevis*) Metamorphosis. *The Scientific world journal* 4(S2):41:47.

HARAKAWA, S; TAKAHASHI, I; DOGE, F; MARTIN, DE 2004. Effect of a 50 Hz electric field on plasma ACTH, glucose, lactate, and pyruvate levels in stressed rats. *Bioelectromagnetics* 25(5): 346-51.

HANSSON, H 1981. Lamellar bodies and purkinje nerve cells experimentally induced by electric field. *Brain Research* 216:187-191.

HEREDIA-ROJAS, JA; CABALLERO-HERNADEZ, DE; FUENTE, AOR; RAMOS-ALFANO, G; FLORES, LER 2004. Lack of alterations on meiotic chromosomes and morphological characteristics of male germ cells in mice exposed to a 60 Hz and 2.0 mT magnetic field. *Bioelectromagnetics* 25(1): 63-8.

HOLMBERG, B 1995. Magnetic fields and cancer: Animal and cellular evidence – an overview. *Environmental Health Perspectives* 103(2):63-7.

HOWE, GR; LINDSAY, JP 1983. A follow-up study of ten-percent sample of the Canadian Labor Force. *Journal of the National Cancer Institute* 70:37-44.

HSU, TC; RAMKISSOON, D; FURLONG, C 1986. Differential susceptibility to a mutagen among human individuals: synergistic effect on chromosome damage between bleomycin and aplidicolin. *Anticancer Research* 6:1171-6.

ICHINOSE, TY et al 2004. Immune markers and ornithine decarboxilase among electric utility workers. *Journal of Occupation and Environmental Medicine* 46(2):104-12.

INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECION 1994. Guidelines on limits of exposure to static magnetic fields. *Health Physics Society* 66(1):100-106.

JEONG, JH et al 2000. Effects of extremely low frequency magnetic fields on pain thresholds in mice: roles of melatonin and opioids. *Journal of Autonomic Pharmacology*, 20:259-264.

JEONG, JH et al 2005. Influence of exposure to electromagnetic field on the cardiovascular system. *Autonomic & Autacoid Pharmacology* 25:17-23.

JUUTILAINEN, J; MAITILAINEN, P; SAARIKOSKI, S; LAARA, E; SUONIO, S 1993. Early pregnancy loss and exposure to 50 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 14:229-236.

JUUTILAINEN, J et al 2000. Nocturnal 6-hydroxymelatonin sulfate excretion in female workers exposed to magnetic fields. *Journal of Pineal Research* 28:97-104.

KATO, M; HONMA, K; SHIGEMITSU, T; SHIGA, Y 1994. Circularly polarized 50 Hz magnetic field exposure reduces pineal gland melatonin and blood concentrations of Long-Evans rats. *Neuroscience Letters* 166:59-62.

KHALIL, AM; QASSEM, W 1991. Cytogenetics effects of pulsing electromagnetic field on human lymphocytes *in vitro*: chromosome aberrations, sister-chromatid exchanges and cell kinetics. *Mutation Research* 247:141-6.

LAI, H; SINGH, NP 1997a. Acute exposure to a 60Hz magnetic field increases DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 18:156-165.

LAI, H; SINGH, NP 1997b. Melatonin and a spin-trap compound blocked radiofrequency, radiation induced DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 18:446-454.

LAI, H; SINGH, NP 2004. **Magnetic-Field-Induced DNA Strand Breaks in Brain Cells of the Rat.** *Environmental Health Perspectives* 112:687-694.

LECHTER, GS 1991. A radiação eletromagnética. *PC Mag Bras.* 44-54, dez.

LEE, JS; AHN, SS; JUNG, KC; KIM, YW; LEE, SK 2004. Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian Journal of Andrology* 6:29-34.

LI, C-Y; GILLES THÉRIAULT, G; LIN, RS 1997. Residential exposure to 60-Hertz magnetic fields and adult cancers in Taiwan. *Epidemiology* 8:25-30.

LIN, RS; DISCHINGER, PC; CONDEE, J; FARRELL, KP 1985. Occupational exposure to electromagnetic fields and occurrence of brain tumors. *Journal of Occupational Medicine* 27:413-419.

LINET, MS et al 1997. Residential exposure to magnetic fields and acute lymphoblastic leukemia in children. *New England Journal of Medicine* 337:1-7.

LINDBOHM, M.L. et al 1992. Magnetic fields of video display terminals and spontaneous abortion. *American Journal of Epidemiology* 136:1041-1051.

LOESCHER, W; MEVISSSEN, M; LEHMACHER, W; STAMM, A 1994. Effects of weak alternating magnetic fields on nocturnal melatonin production and mammary carcinogenesis in rats. *Oncology* 51:288-295.

LÖESCHER, W; LIBURDY, RP 1998. Animal and cellular studies on carcinogenic effects of low frequency (50/60-Hz) magnetic fields. *Mutation Research* 410:185-220.

LONDON, SJ et al 1991. Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *American Journal of Epidemiology* 134:923-937.

LOOMIS, D.; KROMHOUT, H.; KLECKNER, R.; SAVITZ, D 1998. Effects of the analytical treatment of exposure data on association of cancer and occupational magnetic field exposure. *American Journal of Industrial Medicine* 34:49-56.

LUCENA, ACT.; ANSELMO, CWSF; OLIVEIRA, IM; FILHO, MB; CATANHO, MTJA 2002. Effects of 60 Hz Electric Magnetic Field on the Immune System in the Wistar Rats, p.837 – 845. *Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop, v.II Rhodes, Greece.*

MARINO, AA 1993. Electromagnetic fields, cancer, and the theory of neuroendocrine-related promotion. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* 29:255-276.

MARINO, AA; MORRIS, DM 1999. Chronic Electromagnetic Stressors in the Environment: A Risk Factor in Human Cancer. Shreveport. Disponível em <http://www.ortho.lsume.edu/faculty?Marino/Papers/Cite67>>. Acesso em:2001.

MASSOT, O et al 2000. Magnetic field desensitizes 5-HT<sub>1B</sub> receptor in brain: pharmacological and functional studies. Brain Research 858:143-150.

McDOWALL, ME 1983. Leukemia mortality in electrical workers in England and Wales. Lancet (i):246.

McLAUCHLAN, KA 1992. Are environmental magnetic fields dangerous? Phys.World. p.41-45.

MÉNDEZ, AC et al 1992. Efecto de las radiaciones electromagneticas no ionizantes sobre la inmunidad humoral y celular em trabajadores expuestos. Ver Cub Méd Militar 21(2):85-92.

MILHAM, S 1982. Mortality from leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. New England Journal of Medicine 307:249.

MONTENEGRO, EJM; DANTAS, MC; HIRAKAWA, PRTR; CASTRO, RM; CASTRO, CMMB 2003. Efeito dos campos eletromagnéticos não ionizantes no sistema imune. Anais da Faculdade de Medicina Universidade Federal de Pernambuco 48(2):148-151.

NORDENSON, I; HANSSON, MK; ANDERSON, G; SANDSTRÖN, M 1994. Chromosomal aberrations in human amniotic cells after intermittent exposure to 50 Hz magnetic fields. Bioelectromagnetics 15:293-301.

PEARCE, NE; SHEPPARD, RA; HOWARD, JK; FRASER, J; LILLEY, BM 1985. Leukemia in electrical workers in New Zealand. Lancet i:811.

REICHMANIS, M; PERRY, FS; MARINO, AA; BECKER, RO 1979. Relation between suicide and the electromagnetic field of overhead power lines. *Physiological Chemistry and Physics* 11:395-403.

REPACHOLI, MH 1998. Low-level exposure to radiofrequency electromagnetic fields: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 19:1-19.

REPACHOLI, MH; GREENEBAUM, B 1999. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: Health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 20:133-160.

ROBINSON, CF; PETERSEN, M; PALU, S; SESTITO, JP 1997. Mortality patterns among the international brotherhood of electrical workers, p. 1982-1987. Abstract book of Second World Congress of Electricity and Magnetism in Biology and Medicine, Bologna, June 8-13.

ROBISON, JG; PENDLETON, AR; MONSON, KO; MURRAY, BK; O'NEILL, KL 2002. Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* 23(2):106-12.

RODRIGUEZ, M; PETITCLERC, D; NGUYEN, DH; BLOCK, E; BURCHARD, JF 2002. Effect of Electric and Magnetic Fields (60 Hz) on Production, and Levels of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor 1, in Lactating, Pregnant Cows Subjected to Short Days. *Journal Dairy Science* 85:2843–2849.

RODRIGUEZ, M; PETITCLERC, D; BURCHARD, JF; NGUYEN, DH; BLOCK, E 2004. Blood melatonin and prolactin concentrations in dairy cows exposed to 60 Hz electric and magnetic fields during 8 h photoperiods. *Bioelectromagnetics* 25(7):508-15.

ROSEN, LA; BARBER, I; LYLE, DB 1998. "A 0,5 G, 60 Hz magnetic field supresses melatonin production in pinealocytes". *Bioelectromagnetics* 19:123-127.

SANDREY, MA et al 2002. Effect of short duration electromagnetic field exposures on rat mass. *Bioelectromagnetics* 23(1):2-6.

SASTRE, A.; COOK, M.R.; GRAHAM, C 1998. Nocturnal exposure to intermittent 60-Hz magnetic fields alters human cardiac rhythm. *Bioelectromagnetics* 19:98-106.

SAVITZ, DA; JOHN, E M; KLECKNER, RC 1990. Magnetic field exposure from electric appliances and childhood cancer. *American Journal of Epidemiology* 131:763-773.

SAVITZ, DA; AHLBOM, A 1994. Epidemiologic evidence on cancer in relation to residential and occupational exposure p.233-262. In: *Biological effects of electric and magnetic fields*, v.2. Academic Press, New York.

SAVITZ, DA; CHECKOWAY, H; LOOMIS, DP 1998. Magnetic field exposure and neurodegenerative disease mortality among electric utility workers. *Epidemiology* 9:398-404.

SAVITZ, DA; LIAO, D; SASTRE, A; KLECKNER, RC; KAVET, R 1999. Magnetic field exposure and cardiovascular disease mortality among electric utility workers. *American Journal of Epidemiology* 149:135-142.

SCAIANO, JC; COZENS, FL; McLEAN, J; THANSANDOTE, A 1994. Application of the radical pair mechanism to free radicals in organized systems: can the effects of 60 Hz magnetic fields be predicted from studies under static fields? *Bioelectromagnetics* 15:549-554.

SCARFI, MR et al 1994. Lack of cromosomal aberration and micronucleus induction in human lymphocytes exposed to pulsed magnetic fields. *Mutation Research* 306:129-33.

SELMAOUI, B; TOUITOU, Y 1995. Sinusoidal 50 Hz magnetic fields depress rat pineal NAT activity and serum melatonin. Role of duration and intensity of exposure. *Life Science* 57:1351-1358.

SIMKÓ, M & MATTSSOM, M-O 2004. Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields as Effectors of Cellular Responses In Vitro: Possible Immune Cell Activation. *Journal of Cellular Biochemistry* 93:83–92.

SOBEL, E; DAVANIPOUR, Z 1996. EMF exposure may cause increased production of amyloid beta and eventually lead to Alzheimer's disease. *Neurology* 47:1594-1600.

STEVENS, RG 1987. Electric power use and breast cancer, a hypothesis. *American Journal of Epidemiology* 125:556-561.

STEVENS, RG; DAVIS, S; THOMAS, DB; ANDERSON, LE; WILSON, BW 1992. Electric power, pineal function, and the risk of breast cancer. *FASEB Journal* 6:853-860.

SWERDLOW, AJ 1983. Epidemiology of eye cancer in adults in England and Wales 1962-1977. *American Journal of Epidemiology* 118:294-300.

TROSKO JE 2000. Human health consequences of environmentally-modulated gene expression: potential roles of ELF-EMF induced epigenetic versus mutagenic mechanisms of disease. *Bioelectromagnetics* 21:402-6.

TYNES,T;KLÆBOE, L; HALDORSEN,T 2003. Residential and occupational exposure to 50 Hz magnetic fields and malignant melanoma: a population based study. *Occupational & Environmental Medicine* 60:343-347.

VAGERO, D; OLIN, R 1983. Incidence of cancer in the electronics industry: using the New Swedish cancer environment registry as a screening instrument. *British Journal of Industrial Medicine* 40:188-192.

VALBERG, PA; KAVET, R; RAFFERTY, CN 1997. Can low-level 50/60 Hz electric and magnetic fields cause biological effects? *Radiation Research* 148:2-21.

VALJUS, J et al 1993. Analysis of chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei among power linesmen with long-term exposure to 50 Hz electromagnetic fields. *Radiation and Environmental Biophysics* 32:325-36.

VILLENEUVE, PJ; AGNEW, DA; MILLER, AB; COREY, PN; PURDHAM, JT 2000a. Leukemia in electric utility workers: the evaluation of alternative indices of exposure to 60 Hz electric and magnetic fields. *American Journal of Industrial Medicine* 37(6): 607-17.

VILLENEUVE, PJ; AGNEW, DA; MILLER, AB; COREY, PN 2000b. Non-Hodgkin's lymphoma among electric utility workers in Ontario: the evaluation of alternate indices of exposure to 60 Hz electric and magnetic fields. *Occupational & Environmental Medicine* 57: 249-257.

WERTHEIMER, N; LEEPER, E 1979. Electrical wiring configurations and childhood cancer. *American Journal Epidemiology* 11:345-355.

WILSON, BW 1988. Chronic exposure to ELF fields may induce depression. *Bioelectromagnetics* 9:195-205.

WILSON, BW; STEVEN'S, RG; ANDERSON, LE 1989. Neuroendocrine mediated effects of electromagnetic-field exposure: possible role of the pineal gland life. *Life Science* 45:1319-1332.

WILSON, BW et al 1999. Effects of 60 Hz Magnetic Field Exposure on the Pineal and Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in the Siberian Hamster (*Phodopus Sungorus*). *Bioeletromagnetics* 20:224-232.

WRIGHT, WE; PETERS, J; MACK, T 1985. Leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *Lancet* i:811.

## 2.2. INTERAÇÃO NEUROENDÓCRINA (CÓRTEX E TIREÓIDE)

Em um sentido conceitual, os sistemas endócrinos e nervosos têm importantes semelhanças funcionais. Cada um deles é basicamente um sistema de sinalização, ambos funcionam de conformidade com um processo de estímulo resposta (AXELROD; REISINE, 1984; BERTALANFFY, 1986) e cada um destes sistemas transmite sinais que em alguns casos, são altamente localizados e específicos quanto a seu propósito e, em outros casos, sua finalidade é ampla, generalizada e diversificada. Cada um destes sistemas é fundamental para o processo fisiológico cooperativo de células, tecidos e órgãos altamente diferenciados que compõem o organismo humano (MIRANDA, 2001).

A função hipotalâmica é regulada tanto por sinais mediados por hormônio – por exemplo, *feedback* negativo – quanto por impulsos neurais de várias fontes. Estes sinais nervosos são mediados por neurotransmissores, como a acetilcolina, dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina, ácido gama-aminobutírico e opióides. O hipotálamo pode ser considerado uma via final comum pela qual, sinais de múltiplos sistemas alcançam a hipófise anterior. Este sistema de interações imunoendócrinas é importante na resposta do organismo a vários estresses, como mostrado na figura 1, (GREENSPAN; STREWLER, 2000; AL-AYADHI, 2005; WIDMER *et al*, 2005).

A ativação dos sistemas neuronal serotoninérgico e histaminérgico estimulam a liberação do hormônio liberador da corticotrofina pelos neurônios paraventriculares (KJAR *et al*, 1992), mediando a liberação estresse-induzida da prolactina (PRL) e ACTH (KNIGGE *et al*, 1989; JORGENSEN *et al*, 1996). O ACTH é o hormônio trófico das zonas fasciculada e reticular da hipófise, sendo o principal regulador da produção de cortisol e androgênio pelo córtex supra-renal. O ACTH, por sua vez, é regulado pelo

hipotálamo, pela vasopressina (AVP) e pelo sistema nervoso central através dos neurotransmissores e do hormônio de liberação de CRH e ACTH (VICENNATI *et al*, 2004). A secreção de cortisol é rigorosamente regulada pelo ACTH, através do controle neuro-endócrino, e os níveis plasmáticos de cortisol acompanham os níveis de ACTH (GREENSPAN; STREWLER, 2000; VAHL *et al*, 2005).

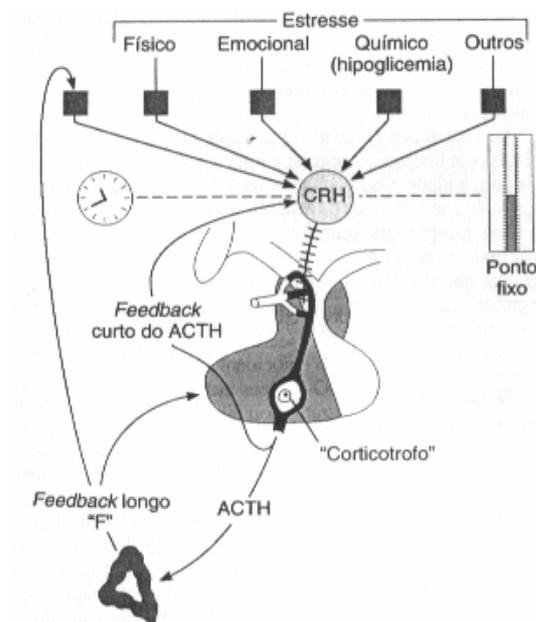


Figura 1 – Desenho esquemático do eixo hipotálamo-hipofisário-suprarrenal, ilustrando feedback negativo pelo cortisol (F) nos níveis hipotalâmico e hipofisário. Também existe uma alça de feedback negativo curta de ACTH sobre a secreção do hormônio de liberação da corticotropina (CRH), (GREENSPAN; STREWLER, 2000).

### 2.2.1. Mecanismos de Controle Endócrino

Os mecanismos de controle endócrinos são: ritmo circadiano; responsividade ao estresse e a inibição por *feedback*.

O ritmo circadiano (cortisol) é superposto a secreção episódica (ACTH); constitui o resultado de eventos do sistema nervoso central que regulam o número e a

magnitude dos episódios secretores de CRH e ACTH, figura 2. Entretanto, há o aumento da secreção de cortisol em resposta à alimentação e ao exercício (TRAUSTADOTTIR; BOSCH; MATT, 2005). Embora este ritmo tenha um padrão uniforme, há uma considerável variabilidade intra e interindividual, e o ritmo circadiano pode ser alterado por modificações no padrão de sono, exposição à luz ou escuro e horários de alimentação, etc. Segundo Kok *et al* (2004), a obesidade altera o ritmo circadiano do ACTH em mulheres obesas pré-menopausa.

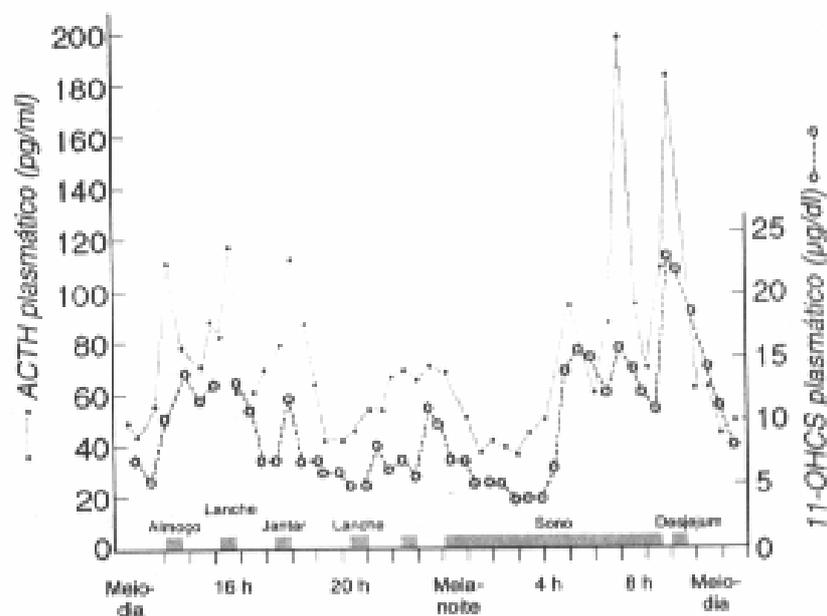


Figura 2 – Flutuações do ACTH e dos glicocorticóides plasmáticos durante todo o dia. (GREENSPAN; STREWLER; 2000).

As secreções plasmáticas de ACTH e cortisol também são caracteristicamente responsivas ao estresse físico. Segundo Bauer (2002), as respostas fisiológicas as experiências sensoriais ou psicológicas são consideradas estresse. O ACTH e o cortisol plasmáticos são secretados minutos após o início de estresses (VAHL *et al*, 2005). As respostas ao estresse originam-se no sistema nervoso central e aumentam a secreção de

CRH hipotalâmico, e assim, a secreção de ACTH hipofisário (TRAUSTADOTTIR; BOSCH; MATT, 2005).

O estresse pode afetar muitos órgãos e sistemas, mas os principais mediadores de resposta para o estresse são o sistema nervoso simpático e o eixo hipotálamo-pituitária adrenal (McCANN, 2000). Muitos estresses alteram a concentração de ACTH, freqüentemente suplantando a ritmicidade diurna normal. O aumento dos níveis de ACTH durante o estresse é mediado pela vasopressina e, também, pelo CRH. Embora níveis fisiológicos de cortisol não reduzam a resposta do ACTH ao estresse, corticosteróides exógenos em altas dosagens o suprimem (VICENNATI *et al*, 2004).

O estressor, agindo sobre o organismo, gera informações sob forma de impulsos nervosos no córtex cerebral, na formação reticular e no sistema límbico, que atuam no hipotálamo, como pode ser visto no esquema da figura 3. Nesta região do encéfalo, a informação alcança certas células neuroendócrinas que agem como transdutores, transformando os sinais nervosos em mensageiros hormonais (SELYE, 1976). Assim por exemplo, a conseqüente secreção de hormônio liberador de corticotropina, proveniente do hipotálamo, provoca na circulação geral uma descarga de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) a partir da hipófise. O ACTH alcança o córtex adrenal, acarretando a liberação de corticóides. Estes, por sua vez, em vários tecidos, facilitam reações metabólicas que fornecem a energia necessária para a realização das adaptações exigidas, além de possibilitar respostas outras, como as imunológicas (AXELROD; REISINE, 1984; ÁLVAREZ *et al*, 1989; DUNN, 1989; BAUER, 2002).

Indivíduos após uma situação de estresse, reação de luto ou um episódio depressivo apresentariam uma maior suscetibilidade a doenças infecciosas, carcinomas, maior morbidade e mortalidade em geral, assim como doenças auto-imunes

(ALBRECHT; HELDERMAN; SCHLESSER, 1985; ARNETZ; WASSERMAN; PETRINI, 1987; GARCIA *et al*, 2000).

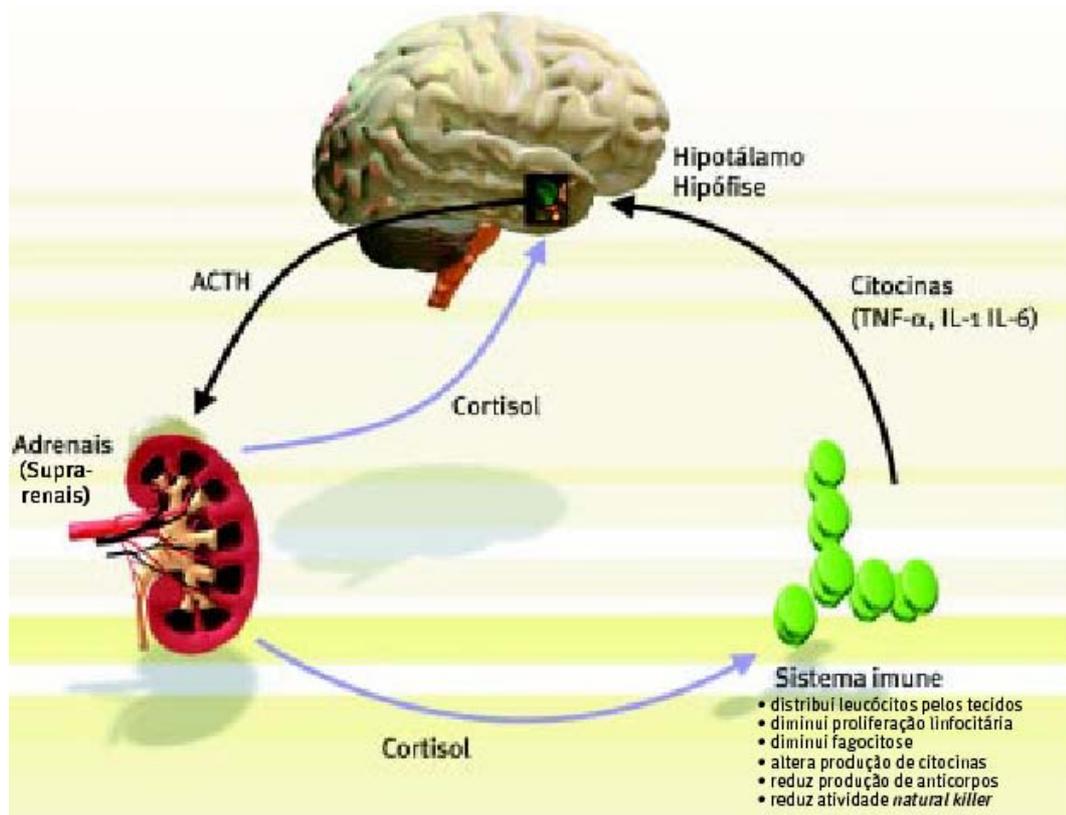


Figura 3 – Desenho esquemático do efeito do estresse sobre a liberação do cortisol. O estresse ativa o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal: a hipófise anterior libera o hormônio ACTH, que induz a liberação de cortisol – principal hormônio regulador do sistema imunológico – pelo córtex das glândulas adrenais, (BAUER, 2002).

O terceiro principal regulador da secreção de ACTH e cortisol é o da inibição por *feedback* da secreção de CRH, ACTH e cortisol por glicocorticóides. A inibição por *feedback* pelos glicocorticóides ocorre na hipófise e no hipotálamo, envolvendo dois mecanismos distintos: a inibição por *feedback* rápido que é sensível à velocidade de alteração dos níveis de cortisol e o *feedback* lento que é sensível ao nível absoluto de cortisol. Além do *feedback* negativo dos corticóides, o ACTH também inibe sua própria secreção (*feedback* em alça curta) (GREENSPAN; STREWLER, 2000).

### 2.2.2. Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

O eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HHA) está envolvido na produção de CRH (Hipotálamo), ACTH (Hipófise) e Cortisol (Adrenal). Segundo Caetano; Caetano; Krämer; (1999); Greenspan; Strewler (2000); Widmer *et al* (2005), o hipotálamo e a hipófise formam uma unidade que exerce controle sobre a função de várias glândulas endócrinas e como consequência tem-se a modulação da atividade do sistema nervoso central, constituindo os principais mecanismos reguladores de praticamente todas as atividades fisiológicas. O sistema imune também interage com os sistemas endócrino e nervoso. Tais interações neuroendócrinas também são importantes na fisiopatologia das doenças.

O hormônio de liberação da corticotropina (CRH) é secretado pelo hipotálamo obedecendo a um ritmo circadiano, quando liberado atravessa o sistema porta hipofisário, estimulando a secreção do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e outros produtos de sua molécula precursora, pró-opiomelanocortina (VICENNATI *et al*, 2004). A estrutura do CRH humano é idêntica aquela do CRH do rato. O CRH tem uma meia vida plasmática longa (aproximadamente 60 minutos) e tanto o ADH quanto a angiotensina II potencializam a secreção de ACTH mediada pelo CRH. Em contraste, a ocitocina inibe a secreção de ACTH mediada por CRH. Os neurônios secretores de CRH são encontrados na porção anterior dos núcleos paraventriculares e o CRH também é liberado pela placenta humana (GREENSPAN; STREWLER, 2000).

As medidas basais de ACTH geralmente não constituem indicadores fidedignos da reserva secretora hipofisária, pois uma curta meia-vida plasmática e secreção episódica resultam em amplas flutuações dos níveis plasmáticos. Por isso, a

interpretação dos níveis plasmáticos de ACTH requer a avaliação simultânea da secreção de cortisol pelo córtex supra-renal (GREENSPAN; STREWLER, 2000).

A síntese do cortisol e dos androgênios pelas zonas fasciculada e reticular começa com o colesterol, assim como a síntese de todos os hormônios esteróides. As lipoproteínas plasmáticas são a principal fonte de colesterol supra-renal, embora também ocorra síntese na glândula a partir do acetato. Há um pequeno reservatório de colesterol livre na supra-renal para a rápida síntese dos esteróides, quando a supra-renal é estimulada. Quando ocorre estimulação, também há o aumento da hidrólise dos ésteres de colesterol armazenados em colesterol livre, aumento da captação das lipoproteínas plasmáticas, e aumento da síntese de colesterol na glândula (VICENNATI *et al*, 2004).

### 2.2.3. Efeitos Metabólicos dos Hormônios Glicocorticóides e Insulina

#### 2.2.3.1. Atividade imunológica

O sistema imune tem como funções: defesa, vigilância e manutenção da homeostase. A resposta imune surgiu nos organismos nucleados (células nucleadas) para permitir aos mesmos manterem o mesmo padrão celular, distinguindo, assim, seus próprios componentes (células e moléculas) daqueles que são estranhos ou não – próprios (provenientes de outros organismos) (CAETANO; CAETANO; KRÄMER, 1999).

O estresse psicológico crônico nas condições naturais de vida da população, tem sido implicado como um fator de aumento da reatividade cardiovascular, elevação de catecolaminas e diminuição da resposta imune em vários estudos (KELLER; WEISS;

SCHLEIFER, 1983; FLEMING; BAUM; DAVIDSON, 1987; KIECOLT; GLASER, 1995).

Os glicocorticóides são importantes mediadores da interação endócrino-imune. Tais hormônios desempenham funções imunomoduladoras, produzindo efeitos inibitórios sobre as muitas funções do sistema imunológico, tais como, redução do número de linfócitos circulantes, derivado do timo (células T) e monócitos (SONG *et al*, 1999; OGAWA *et al*, 2000; BAUER *et al*, 2000). Outras alterações também ocorrem como redução do crescimento de células linfóides, formação de anticorpos e também modificações na toxicidade celular, entre outros danos produzidos pelos glicocorticóides ao sistema imune (OYA *et al*, 2000).

Os glicocorticóides influenciam múltiplos aspectos da responsividade imunológica e inflamatória, como a mobilização e a função dos leucócitos. Eles inibem a fosfolipase A<sub>2</sub>, uma enzima fundamental na síntese das prostaglandinas. Esta inibição é mediada por uma classe de peptídeos denominados lipocortinas ou anexinas. Eles também comprometem a liberação de substâncias efetoras, como a linfocina interleucina 1, o processamento do antígeno, a produção e a eliminação dos anticorpos, bem como as outras funções específicas dos linfócitos, derivados da medula óssea e do timo. O sistema imune, por sua vez, afeta o eixo hipotalâmico-hipofisário-supra-renal; a interleucina-1 estimula a secreção de CRH e ACTH. (CAETANO; CAETANO; KRÄMER, 1999).

#### 2.2.3.2. Regulação metabólica

De acordo com Champe and Harvey (2002) o nível de glicose sangüínea controla o nível de insulina. As concentrações sangüíneas de glicose são controladas por

dois componentes: secreção de insulina por células  $\beta$ , e sensibilidade dos tecidos hepático, adiposo e muscular à insulina. A perda desse controle pode resultar de falhas na secreção ou resistência dos tecidos à insulina, por modificação da ligação da insulina ao receptor ou por uma alteração da atividade da enzima quinase do receptor de insulina (BARBOSA, 1987; LARNER, 1987; WILKIN, 2001).

Em 1869, Paul Langerhans descobriu ilhotas como agrupamentos de células que estavam dispersas entre ácinos no pâncreas e, em 1893, Laguesse sugeriu a função endócrina das mesmas, denominando-as de ilhotas de Langerhans. Sabe-se atualmente, que as ilhotas compreendem cerca de 1 a 2% do pâncreas, e constituem-se de uma massa compacta, inervada por fibras simpáticas e parassimpáticas, nervos peptidérgicos e são ricamente vascularizadas por um fluxo direto arteriolar, que entra na região central das ilhotas ocupadas por células e tem um papel fundamental no controle hormonal do combustível metabólico e, principalmente, na homeostase da glicose (LAYCOCK, 1983).

Estruturalmente, o receptor de insulina, constitui-se de duas subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ , sendo que a  $\beta$  está ligada à insulina. O receptor promove a internalização do hormônio insulina, isto considerando fatores como tempo, temperatura e o próprio processo endocitótico, requerente de energia, iniciando-se então, reação de autofosforilação em cascata do resíduo de tirosina da subunidade (BLOCK *et al*,1991).

O mecanismo de sinalização entre a ativação do receptor de insulina e o sistema de transporte da glicose, também pode ser conseqüente da protease produzindo mediadores ou pela ativação do fosfatidilacitol. O fosfatidilacitol ao ser ativado, sofre fosforilação gerando como produto o trifosfato de inositol e o 1, 2 diacilglicerol. O trifosfato de inositol provoca um breve aumento na concentração de  $Ca^{++}$  citosólico, refletindo na liberação de insulina. O 1, 2 diacilglicerol, que é um eficiente modulador

da ativação da proteína cinase C, produz ácido araquidônico essencial à síntese das prostaglandinas (GRANPENGISSER *et al*,1990; BOGGS *et al*,1991; JUNCO *et al*,1993).

#### 2.2.4. O Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireóide

Os hormônios tireoideanos são formados nas células foliculares da tireóide e são liberados para a circulação sistêmica em resposta ao hormônio estimulador da tireóide ou tireotrofina (TSH), este sintetizado e secretado pela adenohipófise, dependente do hormônio liberador da tireotrofina (TRH) produzido pelo hipotálamo.

A tireóide secreta predominantemente tiroxina ( $T_4$ ) e pequena quantidade de triiodotironina ( $T_3$ ), em seres humanos essa taxa é de 14:1, enquanto no rato adulto é de 5:1 (PAZOS-MOURA *et al*, 2003; MOURA; PAZOS-MOURA, 2004). O hormônio tireoideano metabolicamente ativo é o  $T_3$ , formado a partir da síntese tireoideana e pela desiodação do  $T_4$ . O processo da desiodação ocorre pela ação de 3 isoenzimas, classificadas com base em critérios bioquímicos, funcionais e de distribuição tecidual: desiodase tipo I (5'D-I), responsável por gerar  $T_3$  circulante, está presente predominantemente no fígado, tireóide e rins; desiodase tipo II (5'D-II), origina  $T_3$  intracelular, encontrada na hipófise, córtex cerebral, cerebelo, tecido adiposo marrom, tireóide humana e músculo esquelético; e desiodase tipo III (5D-III) que ocorre na placenta, útero, diversos tecidos fetais como cérebro e pele, tendo a concentração aumentada durante a gestação (BIANCO *et al*, 2002; BIANCO, 2004). A desiodase III inativa  $T_4$  e  $T_3$  por remover átomos de iodo do anel interno, que são facilmente disponíveis no transporte para o feto (SCHRÖDER-VAN DER ELST *et al*, 1998; CARVALHO, 2003). As desiodases que convertem  $T_4$  para  $T_3$  inativo ( $rT_3$ ) aparecem

precocemente durante a vida intra-uterina, assim o  $rT_3$  supera o  $T_3$  no soro (VAN DEN HOVE *et al*, 1999). As desidases placentárias e/ou fetais têm papel crítico no desenvolvimento (BATES *et al*, 1999), fazendo com que as concentrações séricas de  $T_3$  sejam baixas no feto (SANTINI *et al*, 1993).

Calvo *et al* (1990), observaram que  $T_4$  ou  $T_3$  diminuem nos tecidos extra-tireoideanos como no plasma, fígado, rins, pulmões, coração e músculo esquelético no final da prenhez em ratos, exceto as concentrações de  $T_3$  do córtex cerebral, possivelmente devido ao aumento da 5'D-II. O tecido adiposo marrom expressa a 5'D-II que é importante para a produção do  $T_3$  extra-tireoideano os recém-nascidos eutiróideos (SILVA; MATHEUS, 1984).

Em situações de estresse há uma maior liberação de cortisol o que leva a uma diminuição da liberação de TSH e como conseqüência uma diminuição na concentração sérica de  $T_3$  livre, no entanto a concentração de  $T_4$  encontra-se normal (CHAN *et al*, 2002; MOURA; PAZOS-MOURA *et al*, 2004).

Os hormônios tireoideanos são essenciais para o neurodesenvolvimento fetal, principalmente no “período crítico” de crescimento (PORTERFIELD; HENDRICH, 1993). Distúrbios como a hipoxitiroxina materna, isto é baixa tiroxina livre circulante antes do início da função tireoideana fetal e até a metade da gestação, aumentam o risco de deficiência no neurodesenvolvimento fetal (LAVADO-AUTRIC *et al*, 2003).

Mudanças no ambiente uterino ou que atuem numa etapa precoce da vida podem ativar adaptações fisiológicas, chamadas de programação metabólica ou impressão metabólica que podem influenciar permanentemente a fisiologia do animal (CSABA; NAGBY, 1985; BARKER, 2000).

O Maior risco para doenças crônicas, tais como a síndrome metabólica, no indivíduo adulto pode ter origem mesmo antes do nascimento e em períodos precoces

da vida (BARKER, 2000; HARDING; 2001). Em humanos, durante a vida intra-uterina, exposições a altas concentrações do hormônio tireoideano podem modificar a regulação do sistema hipotálamo-hipófise-tireóide, como no hipertireoidismo gestacional que provoca o hipotireoidismo congênito em crianças ( KEMPERS *et al*, 2003). Segundo Barker *et al* (1993), um exemplo de programação metabólica acontece em situações de desnutrição materna na gestação, que produz mudanças no metabolismo fetal e nas concentrações de hormônios fetais e placentários.

Em animais, a desnutrição materna durante o período de lactação modifica a função tireoideana das mães e de suas proles. Filhotes de ratas que sofreram restrição protéica durante a lactação apresentaram o peso corporal menor que o controle (PASSOS *et al*, 2000). Quando a restrição protéica ocorre em diferentes períodos da lactação, os filhotes apresentam redução significativa na concentração sérica de T<sub>4</sub> livre aos 4 dias de idade e no final da lactação; T<sub>3</sub> sérico se encontra aumentado durante todo o período de lactação sendo importante para garantir o desenvolvimento do sistema nervoso (PASSOS *et al*, 2001a; PASSOS *et al*, 2001b). Passos *et al* (2002a), observaram que aos 6 meses de vida, animais cujas mães foram submetidas à restrição protéica durante a lactação apresentaram concentrações séricas mais altas de T<sub>4</sub> e T<sub>3</sub> e aumento na captação de radioiodeto pela tireóide, caracterizando uma hiperfunção da glândula tireóide; enquanto os animais cujas mães foram submetidas a restrição calórica apresentaram apenas concentrações séricas de T<sub>3</sub> elevadas, provavelmente por ocorrer um aumento da conversão de T<sub>4</sub> a T<sub>3</sub>. O efeito é programado desde a lactação e o tipo de desnutrição é importante para determinar o tipo de alterações na vida adulta (PASSOS *et al*, 2002b).

### 2.3. DESNUTRIÇÃO

Uma nutrição adequada é aquela decorrente da ingestão de alimentos adequados a fim de assegurar as necessidades nutricionais do organismo que os ingere. Deve, portanto, ser suficiente para contemplar as necessidades energéticas e de nutrientes para as sínteses orgânicas; deve ser também harmoniosa, de modo que os diferentes nutrientes guardem uma correta relação entre si, e adequada à situação biológica do indivíduo (OMS, 1984).

Caso ocorra um desequilíbrio e/ou uma deficiência de nutrientes no organismo é caracterizado como desnutrição (Martorell, 2001). Tais desequilíbrios são freqüentemente produzidos pela deficiência relativa de proteínas, de carboidratos e de gorduras, como fonte de energia, bem como pela carência de micronutrientes. Estas deficiências são seguidas de alterações fisiopatológicas que primeiro refletem-se em prejuízo funcional, e posteriormente, por danos bioquímicos e físicos (Martinez, 2001), podendo causar incapacidade e morte (Martorell, 2001).

As deficiências alimentares de macro e micro-nutrientes, por outro lado, levam a quadros de desnutrição, reconhecidamente um grave problema mundial. A desnutrição promove alterações danosas aos diversos sistemas orgânicos, inclusive ao sistema nervoso, tanto em animais de laboratório (Castellano e Oliverio, 1976; Morgane *et al*, 1978; Soto-Moyano *et al*, 1987; Root *et al*, 1988; Castro *et al*, 1989) como em humanos (Nwuga, 1977; Dixon *et al*, 1982; Stoch *et al*, 1982).

Há uma relação direta entre a intensidade das seqüelas causadas pela desnutrição no tecido nervoso e fatores tais como: a duração, a severidade, o tipo de deficiência nutricional (se protéica, calórica, vitamínica ou de elementos-traço) e o estágio de desenvolvimento neural no qual a desnutrição atuou (MORGANE *et al*, 1978;

BALLABRIGA, 1989). A nutrição desempenha um papel crítico no desenvolvimento pré-natal e pós-natal do cérebro em todos os níveis, incluindo estrutural, químico farmacológico e funcional (PRASAD, 1998; FERNSTROM, 2000). Muitas das substâncias neurotransmissoras (substâncias neuroativas) estão presentes em nossa alimentação, ou são resintetizadas usando precursores fornecidos pela dieta e, portanto, podem influenciar diretamente na química cerebral (PRASAD, 1998). Assim, uma deficiência em nutrientes particulares durante a concepção, embriogênese e desenvolvimento cerebral pode levar a notáveis efeitos no cérebro (FERNSTROM, 2000).

Para o sistema nervoso central, a deficiência nutricional será tanto mais danosa quanto mais precoce se estabelecer a desnutrição. O desenvolvimento do sistema nervoso (SN) envolve processos epigenéticos que ativam genes de maneira seqüencial em momentos diferentes (JESSEL, 1995). Esses processos incluem vários fatores ambientais e não celulares que podem modificar, modular e direcionar o desenvolvimento subsequente (NISHI, 1994). Portanto, somente as informações genéticas de um ser vivo não seriam suficientes para especificar, por exemplo, toda a formação de interconexões neuronais (JESSEL, 1995). Nas fases iniciais da vida, o crescimento e o desenvolvimento do cérebro ocorrem com grande intensidade, através dos processos de hiperplasia, hipertrofia e mielinização. A neurogênese, a gliogênese e a migração neuronal realizam-se, então, com velocidade máxima, provocando um rápido aumento do peso cerebral. Esta fase é denominada de “período de crescimento rápido do cérebro” ou “período crítico” e é caracterizada por ser uma fase de grande vulnerabilidade a vários tipos de agressão, inclusive a desnutrição (DOBBING, 1968). Esta fase ocorre em épocas distintas nas diversas espécies animais. Assim, o “período crítico” nos seres humanos inicia-se no período pré-natal (último trimestre de gestação)

continuando até os primeiros anos de vida (2 a 4 anos); nos animais, corresponde à vida pré-natal; no rato e no cão, ocorre no período de aleitamento (SCRIMSHAW; GORDON, 1968).

Os efeitos neurais da desnutrição irão depender do seu grau de severidade e duração (MELO, 1994; ROCHA-DE-MELO; GUEDES, 1997). A desnutrição durante o período pré e pós-natal acarreta um retardo na maturação reflexa e somática e esse retardo é mais severo em animais que sofreram desnutrição no período do aleitamento (SMART; DOBBING, 1971). Em modelos animais, um ponto de consenso a respeito das conseqüências funcionais da desnutrição é que os animais expostos precocemente a este insulto exibem mudanças duradouras no campo das emoções, motivações e/ou ansiedade (LEVITSKY; STRUPP, 1995), além de alterações morfológicas (PICANÇO-DINIZ *et al*, 1998), fisiológicas, bioquímicas e comportamentais (RESNICK *et al*, 1979).

Em relação aos modelos experimentais de desnutrição, têm-se usado várias técnicas de privação nutricional em animais, como por exemplo: redução do teor de proteínas (GUEDES *et al*, 1987; ANDRADE *et al*, 1990; TEODÓSIO *et al*, 1990; AZZOLIN *et al*, 1991; COLOMBO *et al*, 1992; PESSOA *et al*, 2000; SANTOS-MONTEIRO; TEODÓSIO; GUEDES, 2000; MONTEIRO *et al*, 2001), redução protéico-calórica (EKHERT *et al*, 1976; DASTUR *et al*, 1977; NORDBORG, 1978; TEODÓSIO *et al*, 1981) e redução de outros nutrientes específicos (GOTO *et al*, 1986; ROOT *et al*, 1988; XIE; SMART, 1991). Os resultados de tais experimentos demonstraram que todos os nutrientes estudados têm influência na maturação do cérebro. Segundo estes autores, a proteína parece ser o componente mais crítico. Assim a síntese de proteínas estruturais, o crescimento, a organização funcional e a produção de neurotransmissores

cerebrais dependem da disponibilidade de aminoácidos essenciais contidos nas proteínas da dieta (MORGANE *et al*, 1978; WIGGINS *et al*, 1984).

No Nordeste do Brasil, a dieta consumida por parte da população que vive na área de cultivo da cana de açúcar, Zona da Mata de Pernambuco, é conhecida como Dieta Básica Regional (DBR) (COUTINHO, 1976). Essa dieta, a qual se convencionou chamar de “Dieta Básica Regional” (DBR), corresponde a uma alimentação multi-deficitária, contendo em torno de 8% de proteína dos quais a maior proporção é de origem vegetal. A Dieta Básica Regional foi elaborada por Teodósio *et al* (1981), baseando-se em um inquérito alimentar realizado em populações, economicamente desfavorecidas, da Zona da Mata de Pernambuco (BATISTA FILHO, 1968) e posteriormente analisada pelo setor de Nutrição do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Estudos pioneiros têm indicado que esta dieta experimental, DBR, produz em ratos um tipo de desnutrição similar ao que prevalece entre as crianças dessa região do Brasil, a desnutrição protéica-energética, com sinais clínicos, parâmetros bioquímicos semelhantes aos observados no marasmo (TEODÓSIO *et al*, 1981, 1983). Quando esta dieta é comparada com uma dieta padrão, observa-se que ela é deficiente em proteínas (conteúdo e qualidade), calorias, gorduras, vitaminas e minerais (PESSOA, 1997). A partir destes resultados, a DBR tem sido consolidada como modelo experimental de desnutrição (TEODÓSIO *et al*, 1990; PESSOA, 1997; ROCHA DE MELO; GUEDES, 1997).

No rato, do nascimento aos 21 dias de vida, ocorre alta taxa de síntese protéica associada ao crescimento do cérebro. No período de crescimento rápido do encéfalo, a falta de aminoácidos essenciais compromete a síntese protéica cerebral, alterando conseqüentemente o crescimento e desenvolvimento desse órgão (MORGANE *et al*, 1978).

Em animais de laboratório a desnutrição protéica, em idades precoces, provoca inúmeras alterações no tecido nervoso, tais como: diminuição nos teores de glicogênio e glicose cerebrais, aumento na utilização de corpos cetônicos, aumento na concentração de ácido glutâmico e glutamina (JOHN *et al*, 1991; GARRIGA; CUSSÓ, 1992; COLOMBO *et al*, 1992). A carência nutricional protéica imposta durante a gestação acarreta, na prole diminuição da concentração de DNA e das proteínas cerebrais, bem como alterações da taxa de divisão celular, resultando em redução do número final de células nervosas (ZAMENHOF, 1991; MORGANE *et al*, 1993) com diminuição do peso cerebral (TEODÓSIO *et al*, 1990). No período de aleitamento este tipo de desnutrição leva a uma diminuição do peso do cerebelo, do hipocampo e do córtex cerebral de ratos, evidenciando-se uma maior vulnerabilidade dessas estruturas à agressão nutricional (FULLER; WIGGINS, 1984; MELO, 1994). Também foram relatadas alterações comportamentais e eletrofisiológicas em animais desnutridos no período de gestação e aleitamento (RESNICK *et al*, 1979; RESNICK; MORGANE, 1984; RUIZ *et al*, 1985; WOLF *et al*, 1986; PRASAD, 1991).

Levitsky e Barnes (1972), divulgaram a hipótese do “isolamento funcional”, na qual consideraram que as taxas diminuídas de crescimento e o atraso no desenvolvimento psicomotor em indivíduos mal nutridos, se deveria à adaptação do organismo à desnutrição precoce. Essa adaptação poderia estar envolvida com a conservação de energia, de modo que o indivíduo utilizasse melhor sua cota energética, dando prioridade à manutenção corporal; em segundo lugar, ao crescimento e por último a alguma atividade comportamental ou cognitiva. Dessa forma, a energia necessária para a sobrevivência é poupada, apresentando esse indivíduo, além de reduzidos tamanho e peso corporal, menor exploração do seu ambiente físico e social;

curiosidade diminuída; habilidades motoras e intelectuais compatíveis com aquelas de um organismo jovem.

Esses autores mostram em seus trabalhos que algumas alterações neurais, ocasionadas pela desnutrição podem ser parcialmente revertidas pelo tratamento de estimulação ambiental, empregado durante o processo de desnutrição, ou mais tarde, durante um período de recuperação alimentar, inferindo que a estimulação ambiental é uma condição que pode ajudar a prevenir ou recuperar os efeitos prejudiciais da desnutrição, tanto em animais de laboratório (LEVITSKY; BARNES, 1972; FERNANDEZ *et al*, 1989; LIMA, 1992; SANTOS-MONTEIRO; TEODÓSIO; GUEDES, 2000), como em humanos (GRANTHAM-McGREGOR *et al*, 1991; COLOMBO *et al*, 1993)

### 3. JUSTIFICATIVAS

A associação da desnutrição à exposição incondicional da população aos campos eletromagnéticos de diferentes frequências, densidades e intensidades, tem sido um grande motivo de preocupação e questionamento por parte de pesquisadores da área e em menor proporção por parte da população em geral, devido a ignorância da mesma em relação ao assunto. Outro fator preocupante é a associação da desnutrição com a exposição ao CEM no período gestacional.

Apesar dessa população ser carente e viver em grande privação, ela não está livre da atuação dos campos eletromagnéticos, pois mesmo nos casos raros onde não existe nenhum eletrodoméstico no domicílio, existem as linhas de alta tensão que passam próximo das residências, fazendo com que esta população também seja exposta ao CEM. Esta situação aliada ao estado de má nutrição nos faz pensar que os CEMs atuem de maneira muito mais intensa no organismo deste grupo já debilitado pela carência alimentar.

A gravidez é um período de aumento da demanda metabólica, principalmente devido a mudanças fisiológicas na mulher e das necessidades do feto em crescimento (KING, 2000). Durante este período, deficiência em micronutrientes causa prejuízo tanto para a saúde da mulher grávida, quanto a saúde do feto em crescimento. Deficiência de zinco, cobre, magnésio, ferro, ácido fólico e iodo tem sido associado com perda de gravidez, anomalias congênitas, hipertensão na gravidez, ruptura prematura de membranas, ruptura da placenta, parto prematuro e uma alta incidência de bebês de baixo peso. (PRASAD *et al*, 1974; KUMAR, 1987; WYNN; WYNN, 1988; YASODHARA *et al*, 1996; CAULFIELD *et al*, 1998; ALMONTE *et al*, 1999; FAWCETT *et al*, 1999, PRIYALI *et al*, 2004).

De acordo com Marino (2005) a relação entre fatores ambientais e doenças em termos de uma variável interna chamada estresse (como por exemplo: morte de uma pessoa querida, perda de emprego, situação matrimonial infeliz, dieta pobre, etc.), ajuda a entender as influências do campo eletromagnético (CEM) do meio ambiente.

Devido ao exposto utilizamos a DBR como dieta experimental de desnutrição que além de ser deficiente em proteína é deficiente em lipídeos, vitaminas e minerais (MONTEIRO *et al*, 2001). A escolha da intensidade de  $3\mu\text{T}$  foi devido a necessidade de se usar uma intensidade de CEM maior do que as encontradas normalmente em residências e locais de trabalho. Nesses lugares a média de intensidade dos CEMs de 50/60 Hz, deve-se encontrar entre 0,1 e  $0,3\mu\text{T}$  (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, 1996). Neste estudo foi utilizada uma intensidade de CEM dez vezes maior que a intensidade esperada, pois dependendo da distância entre os condutores e o aterramento, as densidades do fluxo magnético podem ter media de 22mT em função da carga da corrente na linha (SIMOM, 1992) e este valor ainda pode depender da localização geográfica e da natureza do material magnético próximo a área observada (REPACHOLI; GREENEBAUM, 1999). Normalmente pode ser visto que cada pesquisador usa uma frequência, intensidade ou densidade de CEM que as vezes não coincide com o que foi escolhido neste estudo o que dificulta a comparação dos resultados obtidos. No entanto isto é uma das coisas que caracteriza o estudo da ação dos campos eletromagnéticos, pois segundo Savitz *et al* (1994), um dos desafios que distingue o estudo dos efeitos do CEM à saúde dos efeitos causados por muitos outros agentes é a incerteza quanto aos aspectos dos campos utilizados para definir a exposição. O meio ambiente contém campos elétricos e magnéticos de variadas frequências, incluindo harmônicas de frequência (50 ou 60 Hz), que variam durante intervalos de tempos de milissegundos a horas, dias, meses e anos. As fontes do campo

variam também dependendo do local, pois várias fontes existem no local de trabalho, na casa e em outros ambientes.

Os estudos dos efeitos da associação do CEM com a desnutrição, em organismos vivos, se faz necessário para investigar os prováveis mecanismos e compreender a gravidade do problema, tendo como finalidade realizar um diagnóstico preciso sobre o meio ambiente e a qualidade de vida da população.

#### **4. HIPÓTESE**

A associação do CEM à desnutrição em ratas prenhas causaria alguma alteração hormonal e metabólica?

A associação do CEM à desnutrição em ratas prenhas causaria alguma alteração na maturação reflexa da prole?

A associação do CEM à desnutrição em ratas prenhas causaria alguma alteração na maturação somática da prole?

A associação do CEM à desnutrição em ratas prenhas causaria alguma alteração no peso corporal da prole no período de lactação?

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. OBJETIVOS GERAIS

Investigar a ação do campo eletromagnético variável de 60 Hz, senoidal, com intensidade de 3  $\mu$ T, duas horas ao dia, durante vinte e um dias consecutivos, na regulação das concentrações hormonais e metabólicas em ratas prenhas, submetidas à dieta balanceada e ratas prenhas submetidas à dieta multicarenal da Zona da Mata Nordestina (DBR), bem como o desenvolvimento reflexo e somático e evolução do crescimento corporal da prole.

### 5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as dosagens metabólica (glicose) e hormonais (cortisol, insulina, T3 e T4) das ratas submetidas a dieta caseína ou DBR e expostas ou não ao CEM, durante a prenhez;
- Comparar os resultados obtidos das dosagens metabólica e hormonais entre os grupos;
- Avaliar o desenvolvimento reflexo da prole proveniente de ratas submetidas a dieta caseína ou DBR e expostas ou não ao CEM, durante a prenhez;
- Comparar os dados obtidos do desenvolvimento reflexo da prole entre os quatro grupos;
- Avaliar o desenvolvimento somático da prole proveniente de ratas submetidas a dieta caseína ou DBR e expostas ou não ao CEM, durante a prenhez;

- Comparar os dados obtidos do desenvolvimento somático da prole entre os quatro grupos;
- Acompanhar o crescimento corporal da prole proveniente de ratas submetidas a dieta caseína ou DBR e expostas ou não ao CEM, durante a prenhez;
- Comparar a evolução ponderal da prole entre o quatro grupos.

## 6. TRABALHOS CIENTÍFICOS

### 6.1. EFEITOS DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO, 60 Hz, 3 $\mu$ T, NA REGULAÇÃO HORMONAL E METABÓLICA EM RATAS PRENHAS DESNUTRIDAS.

Este trabalho foi enviado para a revista *Nutrition Research* e teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição de ratas prenhas alimentadas por uma dieta multicarenal, DBR, ao CEM de 60 Hz, 3 $\mu$ T, durante duas horas por dia na regulação metabólica, glicose sérica, e na regulação hormonal onde os seguintes parâmetros foram estudados: insulina, cortisol T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>. O CEM associado a desnutrição causou alterações na regulação hormonal e metabólica destas ratas, sendo mais notável nas concentrações séricas de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>, com uma relação T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub> quase 18 vezes maior do que a encontrada no grupo alimentado pela dieta caseína. Os resultados são preocupantes, pois como sabemos, estes hormônios são muito importantes no desenvolvimento normal da prole.

**EFFECTS OF THE ELECTROMAGNETIC FIELD, 60 HZ, 3 $\mu$ T, ON THE  
HORMONAL AND METABOLIC REGULATION OF UNDERNOURISHED  
PREGNANT RATS**

**Caroline W.S.F. Anselmo<sup>a,\*</sup>, Patrícia B. Pereira<sup>a</sup>, Maria Teresa J.A. Catanho<sup>b</sup>,  
Maria do Carmo Medeiros<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego,  
Departamento de Nutrição, CDU, Recife-PE, CEP: 50670-901, Brazil*

<sup>b</sup>*Department of Biophysics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego,  
Departamento de Biofísica, CDU, Recife-PE, CEP: 50670-901, Brazil*

\*Corresponding author, Tel.: +55 81 32273861; fax: +55 81 32282873.

*E-mail address:* cwsfa@hotmail.com or caroline.wanderley@gmail.com (Caroline W.S.F. Anselmo).

*Address:* Rua Monsenhor Silva, 166, Madalena, Recife-PE, Brazil, CEP:50610-360.

## **Abstract**

Epidemiological studies have implicated maternal protein-calorie deficiency as an important public health problem in developing countries. Over the last decades, a remarkable diffusion of electricity and an increased level of the electromagnetic field (EMF) in the environment have characterized modern societies. Therefore, researchers are concerned with the biological effects of 50-60 Hz, EMF. The aim of this study is to show the effects of EMF of 60 Hz, 3  $\mu$ T, exposure for two hours per day in the regulation of the hormonal and metabolic concentrations in pregnant rats, which were fed by Regional Basic Diet (RBD) during their pregnancy as compared with pregnant rats fed a standard diet. Pregnant rats exposed to EMF of 60Hz, 3 $\mu$ T, over the pregnancy and fed with RBD presented an increase in glucose release when compared with the Group subjected only to the RBD ration. Rats fed RBD presented a decrease in their insulin and cortisol serum levels when compared with the Group fed with casein. The T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> concentrations presented the greatest variation among the Groups. The relation T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub> was much exaggerated in the Group subjected to RDB and exposed to EMF when compared to the others. In conclusion, the group subjected to the association of the EMF and under nutrition suffered a decrease in its serum concentration of T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> when compared to the well- nourished group and the relationship T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub> in the former group was almost eighteen-fold the later one.

**Keywords:** Casein; Electromagnetic Field; Metabolism; Hormone; Regional Basic Diet; Undernourished Pregnant Rats.

## **1. Introduction**

Over the last decades, a remarkable diffusion of electricity and an increased level of the electromagnetic field (EMF) in the environment have characterized our society. Recent epidemiological studies of occupational and residential exposure to EMF are concerned with the biological effects of 50-60 Hz fields (extremely low frequencies or ELF), particularly with determining an increase in cancer incidence in individuals exposed to these types of radiation [1]. A milestone in epidemiological research on ELF is the study of Wertheimer and Leeper [2]: it links the presence of power lines (60 Hz) near homes with the development of childhood leukaemia in Colorado, USA.

The main efforts of researchers have been focused on the possible link between electromagnetic fields and cancer development; different endpoints have been assessed [1]. The ELF field influences pineal gland activity and decreased melatonin production [3,4]. Besides the major role of the pineal in the regulation of the circadian rhythm of various physiological functions and seasonal adaptation through the cyclic production of melatonin [5], this organ was found to be closely associated with the hypothalamic-pituitary-gonad-thyroid-adrenal axis [6]. Most probably, the pineal gland converts the environmental photic, thermic and magnetic signals into information that affects neuroendocrine system [7].

In accordance with Marino [8], in order to understand the relationship between environmental factors and disease in terms of an internal state variable called stress, (for instance: death of a loved one, loss of job, an unhappy marital situation, poor diet, etc.), it is helpful to understand the influences of environmental EMFs.

Epidemiological studies have implicated maternal protein-calorie deficiency as an important public health problem in developing countries [9,10]. Experimental studies

have shown that pre- or postnatal nutritional manipulation may program adult size, metabolism, blood lipids, diabetes, obesity, blood pressure, glomerular hypertrophy, arteriosclerosis, behaviour, and learning [11].

In North-Eastern Brazil, the diet that is consumed by the population living in the area of sugar-cane cultivation in coastal Pernambuco is known as “Regional Basic Diet” (RBD) [12]. The RBD was prepared by TEODÓSIO et al. [13], according to data from food consumption surveys in the Pernambuco coastal forest strip [12]. The RBD is made with the most frequent foods and in the same proportion consumed by the population as detected by the surveys.

When this diet is compared with the standard one, is noticed that it is deficient in proteins (content and quality) calories, fat, vitamins and minerals [14]. Pioneer studies have indicated that this experimental diet, RBD, produces in rats a type of under nutrition similar to that prevalent among children from this region of Brazil, namely an association with nutritional dwarfism, with some clinical signs of marasmus [13].

In light of the fact that pregnancy is a period of increased metabolic demands mainly due to changes in the woman’s physiology and the requirements of the growing fetus [15], resulting in the deficiency of micronutrients having a detrimental effect on the health of both pregnant women and the growing fetus [16], the aim of this paper is to show the effects of the EMF of 60 Hz, 3  $\mu$ T, in the regulation of the hormonal and metabolic concentrations in pregnant rats, which were fed RBD during their pregnancy as compared with pregnant rats fed standard diet.

## **2. Materials and Methods**

### *2.1. Animals*

Twenty females Wistar rats were used in this experiment; they were 90 days old at the onset of exposure, which started after the pregnancy was detected. The fertilization was

detected by the presence of sperm in the vaginal washing of the mated females. They were kept under conditions of constant temperature ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ), light/dark cycle (12-h/12-h) with a background magnetic field of  $0.28 \mu\text{T}$ . The animals had food and water *ad libitum*. Animal use was approved by the Federal University of Pernambuco Committee on Animal Research.

## 2.2. Diets

The ingredients of the multideficient diet used in this experiment were beans (*Phaseolus vulgaris*), manioc flour (*Manihot esculenta*), dried and salted meat, and sweet potato (*Ipomoea batatas*) [17]. The diet was prepared in our laboratory as follows: all ingredients (except manioc flour) were cooked, dehydrated for 24-60 h (according the type of ingredient) at  $60^\circ\text{C}$  and pulverized. Each component was mixed with manioc flour by humidifying. Meat fat was then added, and the mixture was shaped into squares which were dehydrated for 24 h at  $60^\circ\text{C}$ . The centesimal composition of the RBD, which was determined by the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, is given in Table 1. The caloric adequacy of the RBD was calculated to be about 316 Kcal per 100g. The control diet provided 18% of protein (commercial casein) and it was balanced according to recommendations for pregnant rats (AIN – 93), as shown in Table 2. The diet during the mating period was maintenance pellet chow, with 23% of protein (Purina do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brazil).

## 2.3. Feeding Protocol

During the mating period, all female and male rats were fed with a standard balanced diet provided by Purina. Throughout this period, the detection of sperm in the vagina was taken to indicate that fertilization had occurred. Fertilized females were then immediately transferred to cages, two per cage, of 60cm length, 50cm width and 22cm

height, put on supports made from polystyrene of 35cm width, 50cm length and 35cm height [18]. Two Groups were fed RBD and two Groups were fed casein.

#### *2.4. Exposure to EMF*

The rats were divided in four Groups: Group A (n=6), composed rats that consumed casein without exposure to EMF; Group B (n=4), composed of rats that consumed casein and were exposed to the EMF; Group C (n=6), composed of rats that consumed the RBD and were not exposed to EMF; and Group D (n=4), composed of rats that consumed RBD and were exposed to the EMF. The Groups B and D were exposed to EMF of 60 Hz, senoidal, of  $3\mu\text{T}$ , measured by a gauss meter, on the scale of 0-10  $\mu\text{T}$ , for two hours per day for twenty-one consecutive days, one hour in the morning from 8:00h to 9:00h and one hour in the afternoon from 14:00h to 15:00h. They were exposed when the pregnancy was detected and removed from exposure when they gave birth. As the radiation source, transformers of 220/110 volts of 500 VA, working with opened secondary, and controlled by an electronic timer were used, and placed under the polystyrene supports. Control animals were achieved by simply not placing the transformers under the polystyrene supports. The transformers were previously examined and tested to confirm their working parameters at the Biomedical Engineering Department of the Biophysics and Radiobiology Department of the Federal University of Pernambuco. The EMF was measured inside the cage and it remained constant independent of the position. It should be noted that, except for the weekly cage cleaning, and the weekly measuring of their weight, the rats were not moved or handled during this experiment. Exposed animals should be compared with control that have been derived from the same source and simultaneously handled and assayed in the same way, except for the presence of the fields.

On the terminal day of the experiment, the twenty-first day, when the rats had given birth, all animals were anaesthetized with ethylic ether. After that, blood was taken by a cardiac puncture (3ml) to obtain the serum, always at the same time in the afternoon, from 12:30h to 14:00h. Serum samples obtained after centrifugation were stored at -5° C for assay of cortisol, triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), and insulin and glucose concentrations.

### *2.5. Metabolic and Hormone Assessment*

Serum concentration of cortisol, insulin, T3 and T4 was measured by radioimmunoassay technique (RIE) using the cortisol coat-A-count kit, DPC (USA) and the analysis was made in a gamma meter of scintillation, auto-gamma, CobraII (Packard a Camberra Company), at the Department of Biophysics of the Federal University of Pernambuco. Serum glucose levels were measured by the glucose oxidase method using the PAPglucose kit – Labtest Diagnóstica – Brazil. Every measure was duplicated or triplicated.

### *2.6. Statistical Analysis*

The results were analysed using variable average. The significance of the results were assessed through the ANOVA and Tukey for the comparison among Groups, considering the level of significance  $p < 0.05$ .

## **3. Results**

### *3.1. Effects of the under nutrition and EMF in the glucose serum concentration*

The average  $\pm$  Standard Deviation (SD) of glucose serum concentration for the Group A was  $111.8 \pm 16.8$  mg/dL, for Group B was  $81 \pm 15.9$  mg/dL, for Group C was  $63.4 \pm 12.2$  mg/dL, and for Group D was  $135.1 \pm 55.1$  mg/dL, Figure 1. They only showed a significant difference ( $p=0.012$ ) between Groups C and D, where Group D was 113.09% greater than Group C.

### 3.2. Effects of the under nutrition and EMF in the insulin serum concentration

The average  $\pm$  SD of the insulin serum concentration for Group A was  $1.22 \pm 0.55$   $\mu$ IU/mL, for Group B was  $0.97 \pm 0.45$   $\mu$ IU/mL, for Group C was  $0.28 \pm 0.08$   $\mu$ IU/mL, and for Group D was  $0.83 \pm 0.15$   $\mu$ IU/mL, Figure 2. They only showed a significant difference ( $p=0.03$ ) between Groups A and C, where Group C was 77.5% lower than Group A.

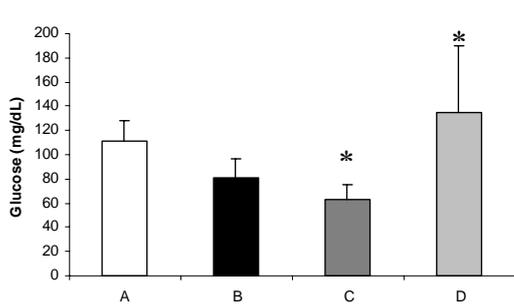


Figure 1

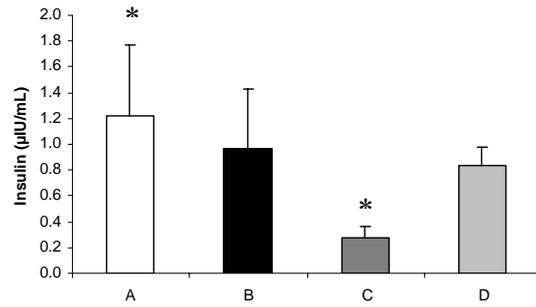


Figure 2

### 3.3. Effects of the under nutrition and EMF in the cortisol serum concentration

The average  $\pm$  SD of the cortisol serum concentration for Group A was  $0.75 \pm 0.25$   $\mu$ g/dL, for Group B was  $0.64 \pm 0.33$   $\mu$ g/dL, for the Group C  $0.34 \pm 0.12$   $\mu$ g/dL and for Group D was  $0.44 \pm 0.13$   $\mu$ g/dL, Figure 3. They only showed a significant difference ( $p=0.045$ ) between Groups A and C, where the Group C was 54.67% lower than Group A.

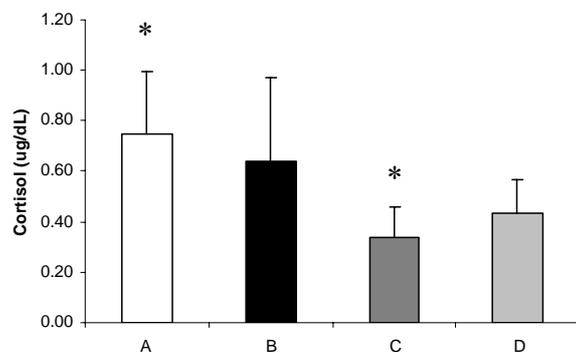


Figure 3

### *3.4. Effects of the under nutrition and EMF in the T3 serum concentration*

The results show that the T3 serum concentration of the rats was significantly different among Groups ( $p=0.01$ ). The average  $\pm$  SD for Group A was  $1.47 \pm 0.05$  nmol/L, for Group B was  $0.42 \pm 0.09$  nmol/L, for Group C was  $0.13 \pm 0.03$  nmol/L, and for Group D was  $0.04 \pm 0.01$  nmol/L, Figure 4. In addition, the greater difference was between Groups A and D, where Group D was 97.28% lower than Group A, whereas the smallest difference was between Groups B and C, where the Group C was 69.05% lower than Group B. Therefore, the figure of Group B was 71.43% lower than the figure of Group A, the figure of Group C was 91.16% lower than the figure of Group A. Finally, the figure of Group D was lower than the figures of Groups B and C with a difference of 90.48% and 69.23% respectively.

### *3.5. Effects of the under nutrition and EMF in the T4 serum concentration*

The results show that the T4 serum average  $\pm$  SD concentration of the rats for Group A was  $14.89 \pm 2.17$  nmol/L, for Group B was  $9.25 \pm 1.92$  nmol/L, for Group C was  $3.87 \pm 1.10$  nmol/L, and for Group D was  $7.24 \pm 3.47$  nmol/L, Figure 5. Some Groups showed a significant difference ( $p<0.001$ ). The figure of Group A showed a significant difference from Groups B, C and D, where the figures of Groups B, C and D were 37.88%, 74%, and 51.38% lower than Group A, respectively. Therefore the figure of Group B was significantly different from Group C, where Group C showed a figure 58.16% lower than the figure of the Group B.

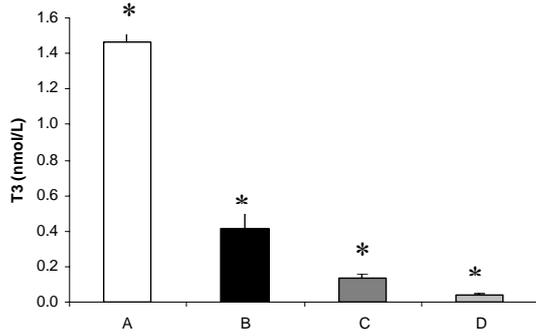


Figure 4

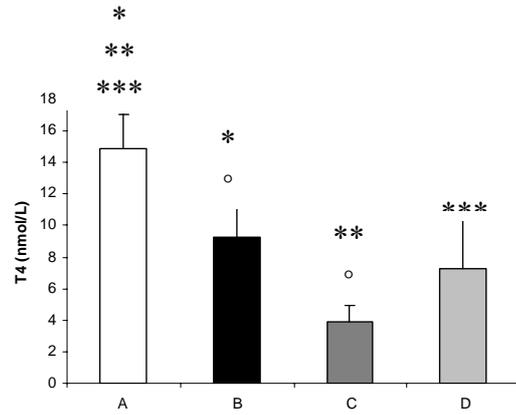


Figure 5

### 3.6. Effects of the under nutrition and EMF in the relationship T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub>

The relationship between the serum concentrations of T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub> in this study is given in Table 3. A huge difference, almost eighteen-fold, can be seen between Group A, the group control, and Group D, the group feeding by RBD and exposed to EMF.

## 4. Discussion

The experimental diet used here is not only deficient in protein, but also in lipids, vitamins, sodium and other minerals [19]. The choice of intensity of 3μT was due to the necessity of using a higher intensity of EMF than in residences and most work places. In those places, the average 50/60 Hz magnetic fields are between 0.1 and 0.3μT [20]. In this study, a value ten times higher than the maximum value expected was used. Depending on the distance between the conductors and ground, and magnetic flux densities can average 22μT in function of the current load in the line [21] and this value could also depend on the geographic location and the nature of the magnetic material near the subject area [22].

Despite the numeric difference of the concentrations of glucose, insulin, cortisol, T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> among Groups, they do not show a statistically significant difference in all cases. However, a trend can be seen in their figures. For instance Group A, composed of rats that consumed casein without exposure to EMF, always have the biggest concentration when compared to the other Groups except for glucose, where the largest

concentration was the Group D, formed of rats that consumed RBD and were exposed to the EMF. The concentration of glucose in Group D was significantly different from Group C, composed of rats that consumed RBD and were not exposed to EMF. This result was unexpected, since both Groups C and D were feeding on RBD, which is deficient. It could be explained because Group D was exposed to EMF. And in accordance to Armario, Martí, Gil [23]; De Boer et al [24]; Martí, Armario [25], repeated stress is associated with the sensitivity of glucose, inducing hyperglycaemia. In accordance with Harakawa et al [26], EMF of 50 Hz increases ACTH, glucose, lactate, and pyruvate levels in stressed rats, demonstrating that the 50 Hz EMF alters both stress responses and energy metabolism in stressed rats.

The trend of the concentration of insulin among groups was similar to that of glucose. However, in this case Group A, composed of rats that consumed casein without exposure to EMF, and Group C, composed of rats that consumed the RBD and were not exposed to the EMF, showed a significant difference, which was expected because Group A was fed casein and Group C was fed RBD. Although Group C, composed of rats that consumed RBD and were not exposed to EMF, and Group D, formed by rats that consumed RBD and were exposed to EMF, do not show significant difference between them, they had the same pattern of the glucose, where the Group D, that had the same diet of the Group C, suffered an increase in its figures. This can be explained by the same mechanism which increased the glucose levels, since when glucose levels rise the level of insulin has to increase as well. According to Champe and Harvey [27], the level of blood glucose controls the level of blood insulin. These results show that EMF changes the body's metabolism, because it was expected that Group B (composed of rats that consumed casein and were exposed to the EMF) and, Group C, control group, (composed by rats that consumed the RBD) had presented a difference

statistically significant between their figures to agree with what happened between Group A, composed by rats that consumed casein without to be exposed to the EMF, and Group C (composed by rats that consumed the RBD) and were not exposed to the EMF.

The same occurred with the cortisol dosages as occurred with the insulin dosages in this study. These results show once more that EMF exposure affects the body's metabolism. In according with Stevens' hypothesis [28,29] the field exposure has effects not only on melatonin, but also on the reproductive hormones and the immune system. The reason for measuring the cortisol serum concentration in this experiment was because cortisol is well known as a stress indicator [30].

Our results regarding glucose and cortisol dosages do not agree with the results obtained by Lucena et al [18]. They exposed adult male rats, fed maintenance pellet chow, with 23% of protein, over thirty days to EMF with the same parameters as we did. However, the rats that were exposed to EMF suffered an increase in their cortisol and glucose dosage levels when compared with the control.

The serum concentrations  $T_4$  and  $T_3$  presented a greater number of Groups that differ statistically. We can see in this study that the Groups subject to EMF and/or RBD present a lower serum concentration for  $T_4$  and  $T_3$  when compared with the control Group (A), the control Group. This data is in agreement with data reported by Zagorskaya and Rodina (1990) *Apud* [31]. These authors found lowered concentration of thyroid hormones during two months after a single exposure of rats to 20 mT ELF-EMF. And our data is in agreement in part with Rajkovic et al [31], who exposed rats to 50 Hz, 50-500  $\mu$ T ELF-EMF for three months when a part of them (Group I) were sacrificed, while the rest of the animals were subjected to recovery evaluation of the gland and sacrificed after one (Group II), two (Group III) and three (Group IV) weeks.

They found that serum T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> concentrations were significantly lower in all exposed animals, except in Group I. However, our data do not agree with data obtained by Lafreniere and Persinger [32] or Selmaoui et al [33]. Lafreniere and Persinger [32] had shown that no alterations in serum T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> concentrations were found in rats exposed to different intensities of 0.5 Hz EMF perinatally or/and as adults. The study of Selmaoui et al [33], reported insignificant differences in serum T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> levels between sham-exposed men and men exposed to continuous and intermittent 50 Hz magnetic field of 10 μT for one night. On the contrary, Udintsev et al (1978) *Apud* [31] found increased levels of circulating T<sub>4</sub> and TSH in rats exposed to 50 Hz EMF of 20 mT for 18h. However, differences in exposure facilities and experimental protocols among these experiments, including our study, complicate the adequate comparison of obtained results.

The serum concentration of T<sub>3</sub> in all Groups in our study was much lower than the serum concentration of T<sub>4</sub>. This can be explained by Pazos-Moura, Ortiga-Carvalho, Moura [34] and Moura, Pazos-Moura [35]. They say that the thyroid releases T<sub>4</sub> predominantly and small quantities of T<sub>3</sub>. In human beings, this rate is 14:1, while in adult rats this rate is 5:1. In this study, the difference between T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> was greater than expected in all Groups. The difference in Group A, the control group, was the smallest, while the difference in Group D, subjected to EMF exposition and RBD, was the greatest. According to Moura, Pazos-Moura [35], individuals subject to acute stress can experience a significant decrease of the serum TSH, despite the simultaneous reduction of the serum concentrations of free T<sub>3</sub> and normal levels of T<sub>4</sub>.

The T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub> relations could have been exaggerated in this study due to the pregnant conditions of the rats. In humans pregnancy increases the mother's needs of T<sub>4</sub>, increasing production of that substance 25-50% [36]. However, in this experiment,

these dosages were performed at the end of the rat pregnancy. In this period, the dosages are normally lower [37]. The data reveals that T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> decreased in all extra thyroidal tissues studied namely plasma, liver, kidney, lung, heart, and skeletal muscle in normal pregnant rats between 17-22 days of gestation. In this study, we had a huge difference in this relation, almost eighteen-fold, between Group A, the Group control, and Group D, feeding by RBD and exposed to EMF. This can be explained by a decrease in the amount of deiodinases or its inactivity due to the two factors acting together, i.e. EMF and under nutrition. According to Bianco et al [38] and Bianco [39], the active thyroidian hormone is T<sub>3</sub>. T<sub>3</sub> is produced by two different and relatively independent processes, namely by direct thyroid secretion or during extra thyroidal 5' deiodination of T<sub>4</sub>. The deiodination occurs by the action of three isoenzymes, classified by the biochemical and functional criteria, and the tissue distribution: deiodinase type I (5'D-I), deiodinase type II (5'D-II) and deiodinase type III (5'D-III). According to Bianco et al [38] in both experimental animals and humans the coordinated changes in the expression and activity of these enzymes ensure thyroid hormone homeostasis and the constancy of T<sub>3</sub> production, constituting a major mechanism for adaptation to changes in the ingestion of iodine, starvation and changes in environmental temperature.

The thyroidian functions may be affected by many factors during different phases of the individual's lifetime and in function of age, nutrition, gender, and pregnancy. Under nutrition affects the thyroidian function [40,41,42,43,44,45]. Possible alterations in enzyme actions involved in cytotoxic processes in thyrocytes and hormone release should be taken into consideration. Results of experimental investigations that demonstrated the EMF effect on enzymes [46,47,48,49] and alterations in the structure and function of cellular membranes [50,51] which are appointed as primary targets of

EMF action on biological systems [52,53], implicate the possible aspect of a direct EMF influence on the thyroid gland (MATAVULJ et al, 1998) *Apud* [31]. Therefore Tonini et al [54] in their study demonstrated that a 50/60-Hz magnetic field interacts with cell differentiation through two opposing mechanisms. ELF-EMF is able to prevent the shift in surface charges potential promoted by differentiating agents. Simultaneously, it stimulates the increase in intracellular calcium in a dose-dependent manner.

## **5 Conclusions**

The group subjected to the association of the EMF and under nutrition suffered a decrease in its serum concentration of  $T_4$  and  $T_3$  when compared to the well-nourished group and the relationship  $T_4:T_3$  in the former group was almost eighteen-fold the later one.

## 6 References

- [1] Galloni P, Marino C. Effects of 50 Hz Magnetic Field Exposure on Tumour Experimental Models. *Bioelectromagnetics* 2000; 21: 608-614.
- [2] Wertheimer N, Leeper E. Electrical wiring configuration and childhood cancer. *Am J Epidemiol* 1979; 109: 273-284.
- [3] Wilson B, Chess ES, Anderson LE. 60 Hz electric field effects on pineal melatonin rhythms: time course for onset and recovery. *Bioelectromagnetics* 1986; 7: 239-242.
- [4] Ubeda A, Trillo MA, House DE, Blackman CF. A 50 Hz magnetic field blocks melatonin-induced enhancement of junctional transfer in normal C $\mu$ H/10T1/2 cells. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2945-2949.
- [5] Reiter RJ. The mammalian pineal gland: Structure and function. *Am J Anat* 1981; 162: 287-313.
- [6] Kappers JA. The mammalian pineal gland, a survey. *Acta Neurochir* 1976; 34: 109-149.
- [7] Jankovic BD, Jovanova-Nesic K, Nikolic V, Nikolic P. Brain-applied, magnetic fields and immune response: role of the pineal gland. *Intern. J. Neuroscience* 1993; 70: 127-134.
- [8] Marino AA. Environmental Electromagnetic Energy and public Health. Department of Orthopaedic Surgery, Louisiana State University School of Medicine in Shreveport. Shreveport, Louisiana. Available in: <http://www.ortho.lsuhsu.edu/Faculty/Marino/Papers/79MBch27.pdf>. Access in: 09/03/2005.
- [9] Pissaia O, Rossi MA, Oliveira JSM. The heart in protein-calorie malnutrition in rats: morphological, electrophysiological and biochemical changes. *J Nutr* 1980; 110: 2035-2044.

- [10] Olubodun JOB. Nutritional factors and heart failure in Nigerians with hypertensive heart disease. *Int J of Cardiol* 1992; 35: 71-76.
- [11] Lucas A. Programming by early nutrition: an experimental approach. *J Nutr* 1998; 128: 401S-406S.
- [12] Coutinho EM. Relações Hospedeiro-Parasito na Esquistossomose Mansônica em Função da Dieta Básica Regional: Estudo Epidemiológico e Anatomo-Patológico. Recife, 1976, 100p. Tese de Livre-Docência.
- [13] Teodósio, NR, Lago ES, Romani SAM, Guedes RCA. A regional basic diet from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. *Arch Latinoam Nutr* 1990; XL: 533-547.
- [14] Pessoa DCNP. Efeitos da desnutrição pela dieta básica regional (DBR), em três gerações de ratos, sobre a reprodução, crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos. Tese Doutorado Universidade Federal de Pernambuco. 1997.
- [15] King JC. Determination of maternal zinc status during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1334S-1343S.
- [16] Priyali P, Umesh K, Kumar KS, Renu S, Anand K, Nandita G, Nand DS, Rajvir S, Preeti S. Prevalence of multiple micronutrient deficiencies amongst pregnant women in a rural area of Haryana. *Indian J Pediatr* 2004; 71: 1007-1014.
- [17] Teodósio NR, Varela RM, Bion FM, Campos FACS, Lira RAB, Flores H. Protein deficiency and calorie deficiency in etiology of early malnutrition in rats. In: *International Congress of Nutrition, XII, San Diego, Proceedings, Abstract n. 1013, 1981.*
- [18] Lucena ACT, Anselmo CWSF, Oliveira IM, Bernardo Filho M, Catanho MTJA. Effects of 60 Hz Electric Magnetic Field on the Immune System in the Wistar Rats. In: *Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop, 2002, Rhodes, Greece. Anais*

Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop. Rhodes, Greece, v.II, p.837 - 845, 2002.

[19] Monteiro FMF, Lahlou S, Albuquerque JA, Cabral AMS. Influence of a multideficient diet from northeastern Brazil on resting blood pressure and baroreflex sensitivity in conscious, freely moving rats. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 271-280.

[20] NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE; NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Possible health effects of exposure to residential electric and magnetic fields. Washington: National Academy Press, 1996.

[21] Simon NJ. Biological effects of static magnetic fields: a review. International Cryogenic Materials Commission, Boulder, Colorado, p.284, 1992.

[22] Repacholi MH, Greenebaum B. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 1999; 20:133-160.

[23] Armario A, Marti J, Gil M. The Serum glucose response to acute stress is sensitive to the intensity of the stressor and to habituation. *Psychoneuroendocrinology* 1990; 15: 341-347.

[24] De Boer SF, Koopmans SJ, Slangen JL, Gugten, VJ. Plasma catecholamine, corticosterone and glucose responses to repeated estresse in rats: effect of interstressor interval length. *Physiol Behav* 1990; 47: 1117-1124.

[25] Marti O, Armario A. Influence of exposure to chronic stress on the pattern of habituation of pituitary-adrenal hormones, prolactin and glucose. *Stress* 1997;1: 179-189.

[26] Harakawa S, Takahashi I, Doge F, Martin DE. Effect of a 50 Hz electric field on plasma ACTH, glucose, lactate, and pyruvate levels in stressed rats. *Bioelectromagnetics* 2004; 25:346-51.

- [27] Champe PC, Harvey RA. *Bioquímica ilustrada*. 2nd ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.
- [28] Stevens RG. Electric power use and breast cancer: a hypothesis. *Am J Epidemiol* 1987; 125: 556-561.
- [29] Stevens RG, Davis S. The melatonin hypotheses: electric power and breast cancer. *Environ Health Persp* 1996; 104: 135-140.
- [30] Clow A, Hucklebridge F. The impact of psychological stress on immune function in the athletic population. *Exerc Immunol Rev* 2001; 7: 5-17.
- [31] Rajkovic V, Matavulj M, Gledic D, Lazetic B. Evaluation of rat thyroid gland morphophysiological status after three months exposure to 50 Hz electromagnetic field. *Tissue & Cell* 2003; 35: 223-231.
- [32] Lafreniere GF, Persinger MA. Thyroid morphology and activity does not respond to ELF electromagnetic field exposures. *Experientia* 1979; 35: 561-562.
- [33] Selmaoui B, Lambrozo J, Touitou Y. Endocrine functions in young men exposed for one night to a 50 Hz magnetic field. A circadian study of pituitary, thyroid and adrenocortical hormones. *Life Science* 1997; 61: 473-486.
- [34] Pazos-Moura CC, Ortiga-Carvalho TM, Moura EG. The autocrine/paracrine regulation of thyrotropin secretion. *Thyroid* 2003; 13: 167-175.
- [35] Moura EG, Pazos-Moura CC. Regulação da síntese e secreção de tireotrofina. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2004; 48: 40-52.
- [36] Burrow GN, Fisher DA, Larsen PR. Maternal and fetal thyroid function. *The N Engl J Med* 1994; 331:1072-8.
- [37] Calvo R, Obregón MJ, Ruiz-De-Oña C, Ferreiro B, Escobar Del Rey F, Morreale De Escobar G. Thyroid hormone economy in pregnant rats near term: A “physiological” animal model of nonthyroidal illness? *Endocrinology* 1990; 127: 10-16.

- [38] Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrinology Review* 2002; 23: 38-89.
- [39] Bianco AC. Triplets! Unexpected structural similarity among the three enzymes that catalyze initiation and termination of thyroid hormone effects. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2004; 48:16-24.
- [40] Moura EG, Ramos CF, Nascimento CCA, Rosenthal D, Breitenbach MMD. Thyroid function in fasting rats: variations in <sup>131</sup>I uptake and transient in peroxidase activity. *Braz J Med Biol Res* 1987; 20: 407-410.
- [41] Ortiga-Carvalho TM, Curty FH, Nascimento-Saba CC, Moura EG, Polak J, Pazos-Moura CC. Pituitary neuromedin B content in experimental fasting and diabetes mellitus: correlation with thyrotropin secretion. *Metabolism* 1997; 46: 149-153.
- [42] Passos MCF, Ramos CF, Mouço T, Moura, EG. Increase of T3 secreted through the milk in protein restricted lacting rats. *Nutrition Research* 2001a; 21: 917-24.
- [43] Passos MCF, Ramos, CF, Dutra SCP, Moura EG. Transfer of iodine through the milk in protein-restricted lacting rats. *J Nutr Biochem* 2001b; 12: 300-303.
- [44] Passos MCF, Ramos CF, Dutra SCP, Mouço T, Moura EG. Long-term effects of malnutrition during lactation on the thyroid function of offspring. *Horm Metab Res* 2002a; 34: 40-43.
- [45] Passos MCF, Ramos CF, Dutra SCP, Bernardo Filho M, Moura EG. Biodistribution of <sup>99</sup>TcMO<sub>4</sub>Na changes in adult rats whose mothers were malnourished during lactation. *The Journal of Nuclear Medicine* 2002b; 43: 89-91.
- [46] Blank M, Soo L, Papstein V. Efeito dos campos magnéticos de baixa frequência na atividade do Na, K-ATPase. *Bioelectrochem Bioenerg*; 38: 267-273.

- [47] Holian O, Astumian RD, Lee RC, Reyes HM, Attar BM, Walter RJ. Protein-Kinase-C activity is altered in HL60 cells exposed to 60 Hz AC electric fields. *Bioelectromagnetics* 1996; 17: 504-509.
- [48] Loschinger M, Thumm S, Hammerle H, Rodemann HP. Stimulation of protein kinase A activity and induced terminal differentiation of human skin fibroblasts in culture by low frequency electromagnetic fields. *Toxicol Lett* 1998; 96-97: 369-376.
- [49] Ding GR, Wake K, Taki M, Miyakoshi J. Increase in hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase gene mutations by exposure to electric field. *Life Science* 2001; 68: 1041-1046.
- [50] Lisi A, Pozzi D, Pasquali E, Rieti S, Girasole M, Cricenti A, Generosi R, Serafino AL, Congiu-Castellano A, Ravagnan G, Giulliani L, Grimaldi S. Three dimensional (3D) analysis of the morphological changes induced by 50 Hz magnetic field exposure on human lymphoblastoid cells (Raji). *Bioelectromagnetics* 2000; 21: 46-51.
- [51] Bordiushkov IN, Goroshinskaya IA, Frantsiyants EM, Tkacheva GN, Gorlo EI, Neskubina IV. Structural-functional changes in lymphocyte and erythrocyte membranes after exposure to alternating magnetic field. *Vopr Med Khim* 2000; 46: 72-80.
- [52] Tenforde TS, Kaune WT. Interaction of extremely low frequency electric and magnetic fields with humans. *Health Physics* 1987; 53: 585-606.
- [53] Goodman EM, Greenebaum B, Marron, MT. Effects of electromagnetic fields on molecules and cells. *Int Rev Cytol* 1995; 158: 279-338.
- [54] Tonini R, Baroni MD, Masala E, Micheletti M, Ferroni A, Mazzanti M. Calcium Protects Differentiating Neuroblastoma Cells during 50 Hz Electromagnetic Radiation. *Biophys J* 2001; 81: 2580-2589.

## 7 Tables

Table 1: Centesimal composition of the Regional Basic Diet (RBD) (TEODÓSIO, 1990).

INGREDIENTS	g%	Proteins	Carbohydrates	Fats	Fibers	Kcal%
	( g )	(%)	(%)	(%)	(%)	
Beans	18.34	3.99	10.66	0.24	1.09	60.76
Manioc flour	64.81	0.84	48.59	0.12	5.64	198.80
Poor fat dried and salted	3.74	2.74	-	0.21	-	12.85
Dried and salted meat fat	0.35	-	-	0.35	-	3.15
Sweet potato	12.76	0.30	9.99	0.03	0.48	41.43
TOTAL	100.00	7.87	69.24	0.95	7.21	316.99

Table 2: Centesimal composition of the Control Diet (Casein).

INGREDIENTS	g %	Proteins	Carbohydrates	Fats	Calories
Comercial casein*	19.6	18.00	-	-	72.00
Vegetable fat	7.00	-	-	7.00	63.00
Biscomil	63.35	0.18	53.37	-	214.20
Salt Mixture	3.50	-	-	-	-
Vitamin mixture	1.00	-	-	-	-
Fibers	5.00	-	-	-	-
L-Cistina	0.30	-	-	-	-
Bitartarato de colina	0.25	-	-	-	-
TOTAL	100.00	18.18	53.37	7.00	349.20

\*92% of protein.

Table 3: relationship serum concentration T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub>. The serum concentrations of T<sub>4</sub> and T<sub>3</sub> were shown in mean ± Standard deviation.

	T <sub>4</sub> (nmol/L)	T <sub>4</sub> (nmol/L)	T <sub>4</sub> :T <sub>3</sub>
Group A	14.89 ± 2.17 <sup>abc</sup>	1.47 ± 0.05 <sup>e</sup>	10:1
Group B	9.25 ± 1.92 <sup>ad</sup>	0.42 ± 0.09 <sup>e</sup>	22:1
Group C	3.87 ± 1.10 <sup>bd</sup>	0.13 ± 0.03 <sup>e</sup>	30:1
Group D	7.24 ± 3.47 <sup>c</sup>	0.04 ± 0.01 <sup>e</sup>	181:1

Letters indicate significant differences between the groups (p<0.05).

## 8 Legends for Figures

**Figure 1 – Determination of glucose serum concentration in mg/dL of the four Groups: Group A, rats that consumed casein; Group B, rats subjected to casein and EMF; Group C, rats that consumed the RBD; and Group D, rats subjected to RBD and EMF. Figures are mean(s) ± standard deviation (\*p=0.012).**

**Figure 2 – Determination of insulin serum concentration in  $\mu$ U/mL of the four Groups: Group A, rats that consumed casein; Group B, rats subjected to casein and EMF; Group C, rats that consumed the RBD; and Group D, rats subjected to RBD and EMF. Figures are mean(s) ± standard deviation (\*p=0.03).**

Figure 3 – Determination of cortisol serum concentration in  $\mu$ g/dL of the four Groups: Group A, rats that consumed casein; Group B, rats subjected to casein and EMF; Group C, rats that consumed the RBD; and Group D, rats subjected to RBD and EMF. Figures are mean(s) ± standard deviation (\*p=0.045).

**Figure 4 – Determination of T3 serum concentration in nmol/L of the four Groups: Group A, rats that consumed casein; Group B, rats subjected to casein and EMF; Group C, rats that consumed the RBD; and Group D, rats subjected to RBD and EMF. Figures are mean(s) ± standard deviation (\*p=0.001).**

**Figure 5 – Determination of T4 serum concentration in nmol/L of the four Groups: Group A, rats that consumed casein; Group B, rats subjected to casein and EMF; Group C, rats that consumed the RBD; and Group D, rats subjected to RBD and EMF. Figures are mean(s) ± standard deviation (p<0.001).**

## 6.2. AÇÃO DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DE 60 HZ, 3 $\mu$ T, NA MATURAÇÃO REFLEXA DA PROLE DE RATAS SUBMETIDAS À DIETA BÁSICA REGIONAL DURANTE A PREENHEZ.

Este trabalho foi enviado para a revista *Nutritional Neuroscience* e teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição de ratas prenhas alimentadas por uma dieta multicarenal, DBR, ao CEM de 60 Hz, 3 $\mu$ T, durante duas horas por dia, na maturação reflexa da prole durante o período de lactação. Os reflexos estudados foram sete: preensão palmar, recuperação de decúbito, colocação pelas vibrissas, aversão ao precipício, geotaxia negativa e resposta ao susto. Todos estes reflexos apresentaram retardo no tempo de aparecimento ou desaparecimento no caso da preensão palmar, nas proles provenientes de ratas desnutridas e expostas ao CEM. Estes resultados nos levam a crer que as alterações hormonais e metabólicas apresentadas pelas ratas prenhas submetidas ao CEM, no artigo anterior, principalmente em relação as concentrações séricas de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> foram decisivas para este retardo generalizado na maturação reflexa da prole.

**INFLUENCE OF A 60HZ, 3 $\mu$ T, ELECTROMAGNETIC FIELD ON THE  
REFLEX MATURATION OF WISTAR RATS OFFSPRING FROM MOTHERS  
FED A REGIONAL BASIC DIET DURING PREGNANCY.**

EFFECTS OF EMF AND UNDERNOURISHMENT IN RATS

**Caroline W.S.F. Anselmo<sup>a\*</sup>, Ana a A. A. Santos<sup>a</sup>, Conciana M.A. Freire<sup>a</sup>, Lúcia  
M.P. Ferreira<sup>a</sup>, José E.Cabral Filho<sup>a</sup>, Maria Teresa J.A. Catanho<sup>b</sup>, Maria do  
Carmo Medeiros<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego,  
Departamento de Nutrição, CDU, Recife-PE, CEP: 50670-901, Brazil*

<sup>b</sup>*Department of Biophysics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego,  
Departamento de Biofísica, CDU, Recife-PE, CEP: 50670-901, Brazil*

\*Corresponding author, Tel.: +55 81 32273861; fax: +55 81 32282873.

*E-mail address:* cwsfa@hotmail.com or caroline.wanderley@gmail.com (Caroline W.S.F. Anselmo).

*Address:* Rua Monsenhor Silva, 166, Madalena, Recife-PE, Brazil, CEP:50610-360.

Number of Pages: 18

Number of Tables: 3

Number of Words: 4619

## **ABSTRACT**

The aim of the present study was to observe how the exposition of the pregnant rats to the electromagnetic field (EMF), 60Hz for 3 $\mu$ T 2 hours per day and/or using the Regional Basic Diet (RBD) influenced the reflex maturation in their offspring. Four groups were formed: Group A (casein), B (casein and EMF), C (RBD) and D (RBD and EMF). The diet manipulation occurred during the pregnancy. The reflexes were assessed daily, between 12:00 and 14:00 h: Palm Grasp (PG), Righting Reflex (RR), Cliff Avoidance (CA), Vibrissae Placing (VP), Negative Geotaxis (NG), Auditory Startle (AS) and Free-Fall Righting (FFR). The association between EMF and deficient diet caused a delay in all reflexes when compared with Group A. When the diets were compared with both groups exposed to EMF, the delay occurred in the RR, VP, NG and CA. And in the Groups C and A the effect was observed in RR, CA, VP, NG, AS and PG. In relation to the EMF Group B differed from Group A in CA, AS, FFR and PG and Group D differed from C in the PG. In conclusion, the entire reflexes studied in this research were delayed by the association of the EMF with undernutrition during pregnancy.

**Keywords:** Casein; Electromagnetic Field; Neurodevelopment; Reflex Maturation; Regional Basic diet.

## **INTRODUCTION**

Epidemiological studies have implicated maternal protein-calorie deficiency as an important public health problem in developing countries (Pissaia *et al.*, 1980; Olubodun, 1992). In North-Eastern Brazil, the diet that is consumed by the population living in the area of sugar-cane cultivation in coastal Pernambuco is known as 'Regional Basic Diet' or RBD (Coutinho, 1976). The RBD was prepared by Teodósio *et al.* (1981) according to data from food consumption surveys in the Pernambuco coastal forest

strip. The RBD is made with the most common foods and in the same proportion as that consumed by the population, as detected by surveys. Pioneer studies have indicated that this experimental diet, RBD, produces in rats a type of undernutrition similar to that prevalent among children from this region of Brazil, which is associated with nutritional dwarfism, and some clinical signs of marasmus (Teodósio *et al.*, 1983). When this diet is compared with the standard one, it is seen to be deficient in proteins (content and quality), calories, fat, vitamins and minerals (Pessoa, 1997). From the results obtained, the RBD has been consolidated as an experimental model of malnourishment experimental model (Guedes *et al.*, 1986, Teodósio, *et al.*, 1990; Pessoa, 1997; Rocha de Melo *et al.*, 1997).

The development of the nervous system (NS) involves epigenetic processes that activate the genes in a sequential manner at different times (Jessel, 1995). These processes have many environmental and non-cellular factors that can change, modulate and direct the next stage of development (Nishi, 1994). Hence only the genetic information in a living being may be insufficient to specify the whole neuronal interconnections (Jessel, 1995). Dobbing (1968) showed that the NS development in mammals happens according to ‘time planning’ in which the different phases follow a predetermined chronology. This fast growth period of the NS is named the ‘critical or vulnerable’ period, being considered as the unique opportunity for its development. In the meanwhile its beginning and duration are different for different species. In men this ‘critical period’ begins in the womb (the last three months of the pregnancy) and lasts until the beginning of the post-natal phase (two to four years old). In rats this happens after the birth (suckling period). The series of events presented by the NS during the ante-natal

and post-natal development determines the neurochemical composition and the definite morphofunctional structure present in adults (Morgane *et al.*, 1993).

Much experimental and clinical evidence has shown that aggression during those critical periods can change the ontogenesis sequence of events with diverse and persistent effects on the NS (Dobbing, 1970; Lynch *et al.*, 1975; Morgane *et al.*, 1993; Manhães de Castro *et al.*, 2001). In trying to understand these effects and the living beings' capability to adapt to different forms of aggression, many researchers have been investigating the effects of different kinds of nutritional injury to the nervous system in the early phases of its development. These studies have shown morphologic, neurochemical, endocrine and functional alterations (Morgane *et al.*, 1993; Del-Prado, 1997).

Over recent decades a remarkable diffusion of electricity and an increased level in the electromagnetic field (EMF) in the environment have characterized our society. Recent epidemiological studies of occupational and residential exposure to EMF are concerned with the biological effects of the 50-60 Hz fields (extremely low frequencies or ELF), particularly in relation to determining an increase in cancer incidence in individuals exposed to these types of radiation (Galloni and Marino, 2000). In accordance with Marino (2005), in order to understand the relationship between environmental factors and disease in terms of an internal state variable called stress, (for instance, death of a loved one, loss of job, an unhappy marital situation, poor diet, etc.), it is helpful to understand the influences of environmental EMFs.

Experiments investigating the possible effects of EMF associated with under nutrition during pregnancy on development period, pregnancy and the ontogenesis of the

congenital reflexes of the offspring are scarce. The aim of the present study was to observe how the exposition of pregnant rats to a 60 Hz, 3  $\mu$ T, EMF, for two hours per day, and/or using RBD, influenced the neurosomatic development of their offspring.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Animals**

In this experiment 66 male, newborn rats, from the Wistar strain were used. The female rats were 90 days old when they mated. Fertilization was detected by the presence of sperm in the vaginal washing of the mated females. Fertilized females were then immediately transferred to cages, two per cage, which were 60cm long, 50cm wide and 22cm high and put on supports made from polystyrene 35cm wide, 50cm long and 35cm high (Lucena *et al.*, 2002). The pregnant rats were divided in four Groups: Group A, composed of rats that consumed casein without being exposed to EMF; Group B, composed of rats that consumed casein and were exposed to EMF; Group C, composed of rats that consumed the RBD and were not exposed to EMF; and Group D, composed of rats that consumed RBD and were exposed to EMF. They were kept in conditions of constant temperature ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ), and a light/dark cycle (12-h/12-h) with a background magnetic field of 0.28  $\mu$ T.

When the rats gave birth, the newborn individuals were put together with the other ones who had been born on the same day, to rats in the same conditions and after that they were selected at random to form new groups. In this way the genetic factor did not interfere with the experimental results. Every group from each female was reduced to six individuals on the second day after birth. Only male rats were used. Animal use was approved by the Federal University of Pernambuco Committee on Animal Research.

## **Diets**

The ingredients of the multideficient diet used in this experiment were beans (*Phaseolus vulgaris*), manioc flour (*Manihot esculenta*), dried and salted meat, and sweet potato (*Ipomoea batatas*) [17]. The diet was prepared in our laboratory as follows: all ingredients (except manioc flour) were cooked, dehydrated for 24-60 h (according the type of ingredient) at 60°C and pulverized. Each component was mixed with manioc flour by humidifying. Meat fat was then added, and the mixture was shaped into squares which were dehydrated for 24 h at 60°C. The centesimal composition of the RBD, which was determined by the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, is given in Table 1. The caloric adequacy of the RBD was calculated to be about 316 Kcal per 100g. The control diet provided 18% of protein (commercial casein) and was balanced according to recommendations for pregnant rats (AIN – 93), as shown in Table 2. The diet during the mating period was maintenance pellet food, with 23% of protein (Purina do Brasil Ltd., São Paulo, SP, Brazil).

## **Feeding Protocol**

During the mating period all female and male rats were fed a standard balanced diet provided by Purina. In this investigation the diets (RDB and casein) were only used when the rats presented a positive test for pregnancy. The animals had food and water *ad libitum*. Two Groups were fed RBD (Groups C and D) and two Groups were fed casein (Groups A and B).

## **Exposure to EMF**

The groups of pregnant rats fed casein and RBD, Groups B and D respectively, were exposed to a 60 Hz senoidal, of 3 $\mu$ T EMF, measured by a gaussmeter, on the scale of 0-10  $\mu$ T, for two hours per day for twenty-one consecutive days, one hour in the morning from 8:00h to 9:00h and one hour in the afternoon from 14:00h to 15:00h. They were

exposed when the pregnancy was detected and removed from exposure when they gave birth. As the radiation source, transformers of 220/110 volts of 500 VA, working with opened secondary, and controlled by an electronic timer were used and placed under the polystyrene supports. Control groups of animals, Groups A and C, fed with casein and RBD, respectively, were obtained by simply not placing the transformers under the polystyrene supports. The transformers were previously examined and tested to confirm their working parameters at the Biomedical Engineering Department of the Biophysics and Radiobiology Department of the Federal University of Pernambuco. The EMF was measured inside the cage and it remained constant irrespective of its position. It should be noted that, except for the weekly cage cleaning and the weekly measuring of their weight, the rats were not moved or handled during this experiment. Exposed animals should be compared with control animals that have been derived from the same source and simultaneously handled and assayed in the same way, except for their exposure to the fields.

### **Reflex Development**

The reflexes were investigated on a daily basis from the second day following birth to the twenty-first day, until they become consolidated, appeared or disappeared, when the reflex response to a specific stimulus happened and was repeated for 3 days in a row, between 12:00 and 14:00 h. The investigated reflexes followed the experimental model for rats suggested by Smart and Dobbing (1971): Palm Grasp (PG), Righting Reflex (RR), Negative Geotaxis (NG), Cliff Avoidance (CA), Vibrissae Placing (VP), Free-fall Righting (FFR), and Auditory Startle (AS). In the procedure a maximum observation time of ten seconds was maintained.

## **Statistical Analysis**

The results of the reflex development were analysed by the Kruskal-Wallis one-way analysis of variance followed by Dunn's test for multiple comparison among groups, with the significant level considered to be  $p < 0.05$ .

## **RESULTS**

The offspring from mothers exposed to the EMF and RBD during pregnancy (Group D), taken together showed a delay in the consolidation of all reflexes in this research study, when compared to Group A, composed of offspring from mothers fed casein, ( $p < 0.05$ ), (Table 3). Therefore the Group C, formed from offspring whose mothers were fed RBD without being exposed to the EMF during their pregnancy, shown a delay in the terms of days in appearance of the NG and VP, when compared to Group B, composed of offspring from mothers fed casein and exposed to the EMF during pregnancy.

In relation to the diet, it was observed that the sucklings from malnourished mothers (Group C) showed a delay in six out of seven reflexes only the appearance of the Free-Fall Righting was not delayed, when compared to Group A, Both groups were not subject to the EMF ( $P < 0.05$ ), (Table 3). Group D, formed from offspring whose mothers were fed RBD and exposed to the EMF showed a delay in the appearance of the reflexes RR, NG and VP, ( $P, 0.05$ ) and in the disappearance of the PG ( $p < 0.05$ ) when compared to Group B, composed of offspring from rats fed casein and exposed to the EMF during pregnancy; both were exposed to the EMF, (Table 3).

In this study can be seen that the EMF caused a delay in the disappearance of the PG reflex of the offspring in the Group D, when compared with these in Group C; both

groups of offspring were from mothers malnourished during the pregnancy. However, a delay in four out of seven reflexes was caused by the EMF when the Group B and A were compared, both from mothers fed casein during pregnancy. The delayed reflexes were the disappearance of the PG, ( $P < 0.05$ ) and the appearance of the CA, FFR and AS ( $P < 0.05$ ) (Table 3).

## **DISCUSSION**

The choice of intensity of  $3\mu\text{T}$  was due to the necessity of using a higher intensity of EMF than in residences and most work places. In those places the average 50/60 Hz magnetic fields, as determined by the National Academy of Science (1996), are between 0.1 and  $0.3\mu\text{T}$ . In this study a value ten times higher than the maximum value expected was used. Depending on the distance between the conductors and the ground and the magnetic flux densities can average  $22\mu\text{T}$  in function of the current load in the line (Simon, 1992) and this value could also depend on the geographic location and the nature of the magnetic material near the subject area (Repacholi and Greenebaum, 1999).

The RBD was chosen as the experimental diet in this study, because it is not only deficient in protein, but also in lipids, vitamins, sodium and other minerals (Teodósio *et al.*, 1981; Monteiro *et al.*, 2001). The pregnant rats were fed casein or RBD when they presented a positive test for pregnancy. According to Frazer and Huggett (1970), the fetus competes with the mother for the nutrients, but only for those that are ingested and stored throughout the pregnancy. They do not compete for those already absorbed by the mother's tissues at the moment of the conception.

In this study, the reflexes were investigated, from the second day following the birth to the twenty-first day, because this period corresponds to the breast-feeding period and is considered as the critical period for development. The observation of the normal sequence of the stages of development in the ontogenesis of the reflexes and acquisition of the mature standard of the locomotive activities can be valuable indexes of the maturation and development of the neurological system (Smart and Dobbing, 1971; Walton *et al.*, 1992; Barros, 1999). In rats, these patterns are established in the first three weeks after birth (Gramsbergen, 1998).

The offspring from rats exposed to EMF and RDB, taken together, presented a delay in all parameters of the reflex maturation. In accordance with Anselmo, 2005 [31], pregnant rats fed RBD and exposed to a 60Hz, 3 $\mu$ T EMF for two hours per day showed a low dosage of serum T<sub>3</sub>. The results showed by Anselmo, 2005 [31] could explain the results obtained in this study. According to Porterfield and Hendrich [32], Reyns *et al.* [33], thyroid hormones are very important for the embryonic development in all vertebrates. In humans, this is more evident in the central neurological system where the thyroid hormone deficit during the fetal and the neo-natal periods results in the syndrome of cretinism, which is characterized by hearing impairment, ataxia, mental disability, and abnormal growth. According to Vara *et al.* (2002), the hypothyroidism which appears during the development of rats, results in learning difficulties, delay in the locomotion and cerebral skills and shortened interneuron connectivity.

In this study the RBD caused a delay in six out of seven reflexes, only the Free-Fall Righting was normal. This result agrees in part with Smart e Dobbing (1971), they showed that the offspring of rats undernourished had a delay in all reflex appearance.

In this study it was found that the EMF caused delay in the Palm Grasp, Cliff Avoidance, Free-Fall Righting and in the Auditory Startle in the rat offspring, whose mothers were fed casein during the pregnancy. Zusman *et al.* (1990) did not observe any change in the Righting reflex of offspring from rats exposed to EMF of 20, 50, and 100 Hz, with a tension of 0.6 V/m, during pregnancy. This finding matches our results because we found no difference of the RR time when comparing the offspring from rats exposed to EMF and those not exposed to EMF, both fed with the control diet (casein).

Our results match in part with the data obtained by Matos *et al* (2001). They divided newborn rats from mothers fed maintenance pellet food, with 23% of protein with 23% of protein (Purina do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brazil), during pregnancy, into two groups: one exposed to the 60 Hz and the other not. After that, they concluded that exposition of newborn rats to non-ionizing radiations does not incur modification in ontogenesis of the reflexes. However, it is difficult to compare the data because Matos *et al* (2001) did not work with the same experimental conditions as ours. In accordance with Sienkiewicz *et al.* (1994), offspring from rats exposed to 50 Hz, 20 mT, EMF during pregnancy did not show any morphological or functional impairment in the postnatal development. Nishikawa *et al.* (1986) reported no effects on negative geotaxis in suckling mice exposed to pulsed fields of 1.6 mT during pregnancy, but did not an increase in the time of appearance of the Righting Reflex. The data found by Nishikawa *et al.* (1986) match in part with our results because in this study no delay was observed in the time of appearance of the Righting Reflex in offspring whose mothers were fed casein during pregnancy and who were exposed to EMF.

What was done in this study is called programming because according to Lucas (1994), the nutrition and metabolic changes that act in the early stages of survival of individuals will permanently affect changes in the animal's physiology. Experimental studies have shown that nutrition manipulation pre- and post-natal can programme the size of the adult individuals, their metabolism, blood lipid levels, diabetes, obesity, blood pressure, glomerular hypertrophy, arteriosclerosis, behaviour and learning skills (Lucas, 1998; Waterland and Garza, 1999).

It can be observed that former research studies employed an EMF that did not match the frequency or intensity of our study, making the comparison of results difficult. This is one of the things that characterises the study of EMF action. According to Savitz *et al.* (1994), one of the challenges that distinguish the studies of the effect of EMF on human health from other agents is the uncertainty about the field aspects which are used to characterise the exposition. The environment has electric and magnetic fields of varied frequencies, including frequency harmonics (50 or 60 Hz), varying in time intervals from the order of milliseconds to years. These field sources also vary according to their sites, i.e. offices, houses and other communal environment.

## **5 CONCLUSIONS**

The total reflexes studied in this research were delayed by the association of the EMF and under nutrition during pregnancy. Six out of seven reflexes were delayed by the undernourished diet. The EMF caused a delay in the PG, CA and FFR between the groups fed casein and it caused a delay in the PG between the groups fed RBD.

## 6 REFERENCES

- Anselmo, C.W.S.F. (2005) Efeitos do Campo Eletromagnético de 60 Hz, 3 $\mu$ T, na regulação hormonal e metabólica de ratas prenhas Recife, 2005. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco. CCS Nutrição.
- Barros, K.M.F.T. (1999) Efeitos da desnutrição neonatal e/ou do tratamento com agonista 5-HT<sub>1A</sub> sobre o desenvolvimento sensório-motor e atividade exploratória em ratos. Recife, 107p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco. CCS Nutrição, 1999.
- Coutinho, E.M. (1976) Relações Hospedeiro-Parasito na Esquistossomose Mansônica em Função da Dieta Básica Regional: Estudo Epidemiológico e Anatomo-Patológico. Recife, 100p. Tese de Livre-Docência.
- Del-Prado, M., Delgado, G., Villalpando, S. (1997) Maternal Lipid Intake during Pregnancy and Production and Litter Growth in Rats. *Journal of Nutrition* 127, 458-462.
- Dobbing, J. (1968) vulnerable periods in developing brain. In: Davson, A.N., Dobbing, J. (Eds), *Applied Neurochemistry* (Oxford: Blackwells), pp. 287-316.
- Dobbing, J. (1970) Undernutrition and the developing brain. *American Journal of Diseases of Children* 120, 411-415.
- Frazer, J.F.D., Huggett, A.A.G. (1970) The partition of nutrients between mother and conceptus in the pregnant rat. *Journal of Physiology* 207, 783-788.
- Galloni, P. and Marino, C. (2000) Effects of 50 Hz Magnetic Field Exposure on Tumour Experimental Models. *Bioelectromagnetics* 21, 608-614.
- Gramsbergen, A. (1998) Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 22, 547-553.

Jessell, T.M. (1995) Development of the Nervous System. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jess ell, T.M. Essencials of Neural Science and Behavior (Stamford: Appleton & Lange).

Lucas, A. (1994) Role of nutritional programming in determining adult morbidity. *Archives of Disease in Childhood* 71, 288-290.

Lucas, A. (1998) Programming by early nutrition: an experimental approach. *Journal of Nutrition* 128, 401S-406S.

Lucena, A.C.T., Anselmo, C.W.S.F., Oliveira, I.M., Bernardo Filho, M., Catanho, M.T.J.A. (2002) Effects of 60 Hz Electric Magnetic Field on the Immune System in the Wistar Rats. In: Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop, 2002, Rhodes, Greece. Anais Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop. Rhodes, Greece, v.II, p.837 - 845.

Lynch, G., Smart, J.L., Dobbing, J. (1975) Motor coordination and cerebellar size in adults undernourished in early life. *Brain Research* 83, 249-259.

Manhães de Castro, R., Medeiros, J.M.B., Mendes da Silva, C. Ferreira, L.M.P., Guedes, R.C.A., Cabral Filho, J.E., Costa, J.A. (2001) Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34, 121-124.

Marino, A.A. Environmental Electromagnetic Energy and public Health. Department of Orthopaedic Surgery, Louisiana State University School of Medicine in Shreveport. Shreveport, Louisiana. Available in:

<<http://www.ortho.lsuhsu.edu/Faculty/Marino/Papers/79MBch27.pdf>>. Access in: 09/03/2005.

Matos, R.J.B., Montenegro, E.J.N., Barros, K.M.F.T., Castro, C.M.M.B., Manhães de Castro, R. (2001) Campos eletromagnéticos não-ionizantes não alteram o

desenvolvimento sensório-motor em ratos. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco* 46, 132-136.

Monteiro, F.M.F., Lahlou, S., Albuquerque, J.A., Cabral, A.M.S. (2001) Influence of a multideficient diet from north-eastern Brazil on resting blood pressure and baroreflex sensitivity in conscious, freely moving rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34, 271-280.

Morgane, P.J., Austin-Lafrance, R.J.; Bronzino, J., Tonkiss, J., Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Galler, J.R. (1993) Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 17, 91-128.

National Academy of Science; National Research Council. (1996) Possible health effects of exposure to residential electric and magnetic fields. Washington: National Academy Press.

Nishi, R. (1994) Neurotrophic factors: two are better than one. *Science* 265, 1052-1053.

Nishikawa, U., Hirotsu, H., Tanaka, O. (1986) Study on postnatal development in mice exposed to electromagnetic fields (PEMFs) during their prenatal period. *Teratology* 34, 442-443.

Olubodun, J.O.B. (1992) Nutritional factors and heart failure in Nigerians with hypertensive heart disease. *International Journal of Cardiology* 35, 71-76.

Pessoa, D.C.N.P. Efeitos da desnutrição pela dieta básica regional (DBR), em três gerações de ratos, sobre a reprodução, crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos. Tese Doutorado Universidade Federal de Pernambuco. 1997.

Pissaia, O., Rossi, M.A., Oliveira, J.S.M. (1980) The heart in protein-calorie malnutrition in rats: morphological, electrophysiological and biochemical changes. *Journal of Nutrition* 110, 2035-2044.

- Portefield, S.P., Hendrich, C.E. (1993) The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development – current perspectives. *Endocrinology Review* 14, 94-106.
- Repacholi, M.H., Greenebaum, B. (1999) Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 20, 133-160.
- Reyns, G.E. Verhoelst, C.H.J., Kühn, E.R., Darras, V.M., Van Der Geyten, S. (2005) Regulation of thyroid hormone availability in liver and brain by glucocorticoids. *General and Comparative Endocrinology* 140, 101-108.
- Rocha de Melo, A.P., Guedes, R.C.A. (1997) Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 30, 663-669.
- Savitz, D.A., Ohya, T., Loomis, D.P., Senior, R.S., Bracken, T.D., Howard, R.L. (1994) Correlations among indices of electric and magnetic field exposure in electric utility workers. *Bioelectromagnetics* 15, 193-204.
- Sienkiewicz, A.J., Robbins, L., Haylock, R.G.E., Saunders, R.D. (1994) Effects of Prenatal Exposure to 50 Hz Magnetic Fields on Development in Mice: II Postnatal Development and Behavior. *Bioelectromagnetics* 15, 363-375.
- Simon, N.J. (1992) Biological effects of static magnetic fields: a review. International Cryogenic Materials Commission, Boulder, Colorado, p.284.
- Smart, J.L., Dobbing, J. (1971) Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain Research* 28, 85-95.
- Teodósio, N.R., Varela, R.M., Bion, F.M., Siqueira Campos, F.A.C., Lira, R.A.B., Flores, H. (1981) Protein deficiency and calorie deficiency in etiology of early

malnutrition in rats. In: International Congress of Nutrition, XII, San Diego, Proceedings, Abstract n. 1013.

Teodósio, N.R., Flores, H., Mayer, H., Martins, F., Campos, F., Ramalho, R.A. (1983) Efecto diferencial de las desnutrición sobre el sistema nervioso central. In: Seminário Internacional “Desnutrición y funciones cerebrales superiores”. Resúmenes de conferencias y comunicaciones libres. Santiago, Universidad de las Naciones Unidas, p. 105.

Teodósio, N.R., Lago, E.S., Romani, S.A.M., Guedes, R.C.A. (1990) A regional basic diet from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* XL, 533-547.

Vara, H., Martínez, B., Santos, A., COLINO, A. (2002) Thyroid hormone regulates neurotransmitter release in neonatal rat hippocampus. *Neuroscience* 110, 19-28.

Walton, K.D., Lieberman, D; Llinás, A.; Begin, M.; Llinás, R.R. (1992) Identification of a critical period for motor development in neonatal rats. *Neuroscience* 51, 763-767.

Waterland, R.A., Garza, C. (1999) Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 69, 179-197.

Zusman, I., Yaffe, P., Pinus, H., Ornoy, A. (1990) Effects of pulsing electromagnetic fields on the prenatal and postnatal development in mice and rats: in vivo and in vitro studies. *Teratology* 42, 157-170.

## 7 TABLES

Table1: Centesimal composition of the Regional Basic Diet (RBD)(TEODÓSIO, 1990).

INGREDIENTS	g%	Proteins	Carbohydrates	Fats	Fibers	Kcal%
	( g )	(%)	(%)	(%)	(%)	
Beans	18.34	3.99	10.66	0.24	1.09	60.76
Manioc flour	64.81	0.84	48.59	0.12	5.64	198.80
Poor fat dried and salted meat fat	3.74	2.74	-	0.21	-	12.85
Dried and salted meat fat	0.35	-	-	0.35	-	3.15
Sweet potato	12.76	0.30	9.99	0.03	0.48	41.43
TOTAL	100.00	7.87	69.24	0.95	7.21	316.99

Table 2: Centesimal composition of the Control Diet (Casein).

INGREDIENTS	g %	Proteins	Carbohydrates	Fats	Calories
Comercial casein*	19.6	18.00	-	-	72.00
Vegetable fat	7.00	-	-	7.00	63.00
Biscomil	63.35	0.18	53.37	-	214.20
Salt Mixture	3.50	-	-	-	-
Vitamin mixture	1.00	-	-	-	-
Fibers	5.00	-	-	-	-
L-Cistina	0.30	-	-	-	-
Bitartarato de colina	0.25	-	-	-	-
TOTAL	100.00	18.18	53.37	7.00	349.20

\*92% of protein.

Table 3 – Reflex maturation of offspring. The groups are: Group A (n=12), formed by offspring from rats fed casein and not subjected to EMF, Group B (n=24), formed by offspring from rats fed casein and subjected to EMF, group C (n=18), formed by offspring from rats fed RBD and not subjected to EMF and the group D (n=12), formed by offspring from rats fed RBD and subjected to EMF. The data show the age in median, in days, with quartile (Q25-Q75) of the day when the reflex answer expected occurred. Reflex: Palm Grasp (PG), Righting Reflex (RR), Negative Geotaxis (NG), Cliff Avoidance (CA), Vibrissae Placing (VP), Free-Fall Righting (FFR) and Auditory Startle (AS). The results were evaluated through the ANOVA one-way (Kruskal-Wallis) and through the Dunn's test for effect of comparison of among the groups, considering the significant level  $p < 0.05$ . Letters indicate significant differences between the groups.

GROUPS	A (12)	B (24)	C (18)	D (12)
PG	6 (5.5-6.5) <sup>ade</sup>	7 (7-10) <sup>bd</sup>	8 (7-10) <sup>ce</sup>	13 (12.5-14) <sup>abc</sup>
RR	3 (2-4.5) <sup>fg</sup>	4 (4-5) <sup>h</sup>	6 (4-7) <sup>g</sup>	6 (5.5-6.5) <sup>fh</sup>
NG	7 (6-9) <sup>ij</sup>	8 (6.5-9.5) <sup>kl</sup>	11 (9-13) <sup>ik</sup>	10.5 (9-12) <sup>jl</sup>
CA	3 (2-3.5) <sup>mno</sup>	4 (4-5) <sup>m</sup>	6 (4-12) <sup>n</sup>	5 (4-6) <sup>o</sup>
VP	6 (5-6) <sup>pq</sup>	8 (7-9) <sup>rs</sup>	12 (10.25-13) <sup>pf</sup>	11 (10-12) <sup>qs</sup>
FFR	14 (13-14) <sup>tu</sup>	17 (17-17) <sup>t</sup>	15 (14-15.75)	16.5 (15-17) <sup>u</sup>
AS	10.5 (10-11) <sup>vxy</sup>	12 (12-13) <sup>v</sup>	12 (12-13) <sup>x</sup>	13 (13-13) <sup>y</sup>

### 6.3. AÇÃO DO CAMPO ELETROMAGNÉTICO DE 60 HZ, 3 $\mu$ T, NA MATURAÇÃO SOMÁTICA DA PROLE DE RATAS SUBMETIDAS À DIETA BÁSICA REGIONAL DURANTE A PREENHEZ.

Este trabalho foi enviado para a revista *Nutrition Research* e teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição de ratas prenhas alimentadas por uma dieta multicarenal, DBR, ao CEM de 60 Hz, 3 $\mu$ T, durante duas horas por dia, na maturação somática e evolução ponderal da prole durante o período de lactação. Os índices de maturação somática estudados foram cinco: abertura do pavilhão auditivo, abertura do conduto auditivo, resposta ao susto e recuperação do decúbito em queda livre. Todos estes índices apresentaram retardo no tempo de aparecimento, nas proles provenientes de ratas desnutridas e expostas ao CEM. Estes resultados nos levam a crer que as alterações hormonais e metabólicas apresentadas pelas ratas prenhas submetidas ao CEM, primeiro artigo, principalmente em relação as concentrações séricas de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> foram decisivas para este retardo generalizado na maturação reflexa da prole.

Quanto a evolução ponderal, as proles apresentaram maiores alterações, entre os grupos, do primeiro ao sexto dia de vida, onde as proles de ratas desnutridas sempre apresentaram pesos menores.

INFLUENCE OF A 60 HZ, 3 $\mu$ T, ELECTROMAGNETIC FIELD ON THE SOMATIC  
MATURATION OF WISTAR RATS OFFSPRINGS FED A REGIONAL BASIC  
DIET DURING PREGNANCY.

**Caroline W.S.F. Anselmo<sup>a,\*</sup>, Tatiana L. da Silva<sup>a</sup>, Talita de G. Holanda<sup>a</sup>, Leila V.  
da S. Prado<sup>a</sup>, José E.Cabral Filho<sup>a</sup>, Maria Teresa J.A. Catanho<sup>b</sup>, Maria do Carmo  
Medeiros<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego,  
Departamento de Nutrição, CDU, Recife-PE, CEP: 50670-901, Brazil*

<sup>b</sup>*Department of Biophysics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego,  
Departamento de Biofísica, CDU, Recife-PE, CEP: 50670-901, Brazil*

\*Corresponding author, Tel.: +55 81 32273861; fax: +55 81 32282873 (Brazil).

*E-mail address:* cwsfa@hotmail.com or caroline.wanderley@gmail.com (Caroline  
W.S.F. Anselmo).

*Address:* Rua Monsenhor Silva, 166, Madalena, Recife-PE, Brazil, CEP:50610-360

## **Abstract**

The aim of the present study was to observe how the exposition of the pregnant rats to the electromagnetic field (EMF), 60Hz, 3 $\mu$ T for 2 hours per day and/or using the Regional Basic Diet (RBD) influenced the somatic maturation in their offspring. Four groups were formed: Group A (casein), B (casein and EMF), C (RBD) and D (RBD and EMF). The diet manipulation occurred during pregnancy. The somatic maturation indexes were assessed daily, between 12:00 and 14:00 h: Eye Opening (EO), Auricle Opening (AO), Auditory Canal Opening (ACO), Lower Incisor Eruption (LIE), and Upper Incisor Eruption (UIE). The EMF associated with undernutrition caused delay in all Somatic Maturation Indexes (SMI) and the RBD caused delay only in the AO. Therefore the EMF caused delay in AO, ACO, LIE. In relation to the body weight, the EMF caused change at the sixth day of life. The RBD, during pregnancy, caused lower body weight in the offspring in the first and third day of life. The body weight of the offspring whose mothers were fed casein and exposed to the EMF during pregnancy was lower in the third and sixth day of life. In conclusion, the EMF associated with under nutrition caused delay in all SMI. In relation to the body weight, the EMF associated with undernutrition caused a decrease in the body weight at the sixth day of life.

**Keywords:** Casein; Electromagnetic Field; Neurodevelopment; Somatic Maturation; Regional Basic Diet.

## 1. Introduction

Epidemiological studies have implicated maternal protein-calorie deficiency as an important public health problem in developing countries [1,2]. In North-Eastern Brazil the diet that is consumed by the population living in the area of sugar-cane cultivation in coastal Pernambuco is known as the Regional Basic Diet or RBD [3].

The RBD was prepared by Teodósio *et al.* [4] according to data from food consumption surveys in the Pernambuco coastal forest strip. The RBD is made from the most common foods and in the same proportion as that consumed by the population, as detected by surveys. Pioneer studies have indicated that this experimental diet, RBD, produces in rats a type of undernutrition similar to that prevalent among children from this region of Brazil, which is associated with nutritional dwarfism and some clinical signs of marasmus [5]. When this diet is compared with the standard one, it is seen to be deficient in proteins (content and quality), calories, fat, vitamins and minerals [6]. From the results obtained, the RBD has been consolidated as an experimental model of malnourishment [6,7,8].

The development of the nervous system (NS) involves epigenetic processes that activate the genes in a sequential manner at different times [9]. These processes have many environmental and non cellular factors that can change, modulate and direct the next stage of development [10]. Hence only the genetic information in a living being may be insufficient to specify the whole neuronal interconnections [9]. Dobbing [11] showed that the NS development in mammals happens according to ‘time planning’ in which the different phases follow a predetermined chronology. This fast growth period of the NS is named the ‘critical or vulnerable’ period, being considered as the unique opportunity for its development. Therefore its beginning and duration are different for different species. In men this ‘critical period’ begins in the womb (the last three months

of pregnancy) and lasts until the beginning of the postnatal phase (two to four years old). In rats this happens after the birth (suckling period). The series of events presented by the NS during the antenatal and postnatal development determines the neurochemical composition and the definite morphofunctional structure, present in adults [12].

Much experimental and clinical evidence has shown that aggression during those critical periods can change the ontogenesis sequence of events with diverse and persistent effects on the NS [12,13,14,15]. Experimental studies have shown that pre- or postnatal nutritional manipulation may programme adult size, metabolism, blood lipids, diabetes, obesity, blood pressure, glomerular hypertrophy, arteriosclerosis, behaviour, and learning [16]. In trying to understand these effects and living beings' capability to adapt to different forms of aggression, many researchers have been investigating the effects of different kinds of nutritional injury to the nervous system in the early phases of its development. These studies have shown morphologic, neurochemical, endocrine and functional alterations [12,17].

Over recent decades a remarkable diffusion of electricity and an increased level in the electromagnetic field (EMF) in the environment have characterized our society. Recent epidemiological studies of occupational and residential exposure to EMF are concerned with the biological effects of the 50-60 Hz fields (extremely low frequencies or ELF), particularly in relation to determining an increase in cancer incidence in individuals exposed to these types of radiation [18]. In accordance with Marino [19], in order to understand the relationship between environmental factors and disease in terms of an internal state variable called stress, (for instance, death of a loved one, loss of job, an unhappy marital situation, poor diet, etc.), it is helpful to understand the influence of environmental EMFs.

Experiments investigating the possible effects of EMF associated with under nutrition during pregnancy on development and somatic maturation of the offspring are scarce. The aim of the present study was to observe how the exposition of pregnant rats to a 60 Hz, 3  $\mu$ T, EMF for two hours per day and/or using a RBD influenced the somatic maturation indexes in their offspring.

## **2. Materials and Methods**

### *2.1 Animals*

In this experiment 66 male, newborn rats from the Wistar strain, whose mothers were submitted to four different conditions, were used. The female rats were 90 days old when they mated. Fertilization was detected by the presence of sperm in the vaginal washing of the mated females. Fertilized females were then immediately transferred to cages, two per cage, which were 60cm long, 50cm wide and 22cm high and put on supports made from polystyrene 35cm wide, 50cm long and 35cm high [20]. The pregnant rats were divided in four Groups: Group A, composed of rats that consumed casein without being exposed to EMF; Group B, composed of rats that consumed casein and were exposed to EMF; Group C, composed of rats that consumed the RBD and were not exposed to EMF; and Group D, composed of rats that consumed RBD and were exposed to EMF. They were kept in conditions of constant temperature ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) and a light/dark cycle (12-h/12-h) with a background magnetic field of 0.28  $\mu$ T.

When the rats gave birth, the newborn individuals were put together with the other ones who had been born on the same day from mothers in the same conditions, and after that they were selected at random to form new groups. In this way, the genetic factor did not interfere with the experimental results. Every group from each female was reduced to six individuals on the second day after birth. Only male rats were used.

Animal use was approved by the Federal University of Pernambuco Committee on Animal Research.

## 2.2. Diets

The ingredients of the multideficient diet used in this experiment were beans (*Phaseolus vulgaris*), manioc flour (*Manihot esculenta*), dried and salted meat and sweet potato (*Ipomoea batatas*) [4]. The diet was prepared in our laboratory as follows: all ingredients (except manioc flour) were cooked, dehydrated for 24-60 h (according the type of ingredient) at 60°C and pulverized. Each component was mixed with manioc flour by humidifying. Meat fat was then added, and the mixture was shaped into balls which were dehydrated for 24 h at 60°C. The centesimal composition of the RBD, which was determined by the Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, is given in Table 1. The caloric adequacy of the RBD was calculated to be about 316 Kcal.per 100g. The control diet provided 18% of protein (commercial casein) and was balanced according to recommendations for pregnant rats (AIN – 93), as shown in Table 2. The diet during the mating period was maintenance pellet food (Purina do Brasil Ltd., São Paulo, SP, Brazil).

## 2.3. Feeding Protocol

During the mating period all female and male rats were fed a standard balanced diet provided by Purina. In this investigation the diets (RDB and casein) were only used when the rats presented a positive test for pregnancy. The animals had food and water *ad libitum*. Two Groups were fed RBD (Groups C and D) and two Groups were fed casein (Groups A and B).

## 2.4. Exposure to EMF

The groups of pregnant rats fed casein and RBD, Groups B and D respectively, were exposed to a 60 Hz senoidal, of 3 $\mu$ T EMF, measured by a gaussmeter, on the scale

of 0-10  $\mu\text{T}$ , for two hours per day for twenty-one consecutive days, one hour in the morning from 8:00h to 9:00h and one hour in the afternoon from 14:00h to 15:00h.

They were exposed when the pregnancy was detected and removed from exposure when they gave birth. As the radiation source, transformers of 220/110 volts of 500 VA working with opened secondary and controlled by an electronic timer were used and placed under the polystyrene supports. Control groups of animals, Groups A and C, fed with casein and RBD respectively, were obtained by simply not placing the transformers under the polystyrene supports. The transformers were previously examined and tested to confirm their working parameters at the Biomedical Engineering Department of the Biophysics and Radiobiology Department of the Federal University of Pernambuco. The EMF was measured inside the cage and it remained constant independent of its position. It should be noted that, except for the weekly cage cleaning and the weekly measuring of their weight, the rats were not moved or handled during this experiment. Exposed animals should be compared with control groups that have been derived from the same source and simultaneously handled and assayed in the same way, except for their exposure to the fields.

### *2.5. Somatic Maturation Indexes*

The following somatic maturation indexes were investigated on a daily basis, between 12:00 and 14:00 hours from the second day after the birth until when somatic maturation had occurred, namely Eye Opening (EO), Auricle Opening (AO), Auditory Canal Opening (ACO), Low Incisor Eruption (LIE) and Upper Incisor Eruption (UIE) [21]. They were considered positive when the two eyes, the two auricles and the two auditory canals were opened and the two lower and upper incisors had appeared.

### *2.6. Somatic Growth*

#### *2.6.1. Pups' body weight*

The animals were weighed at 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day of life. The scale used was a digital model, Quimis, with 0.1 g sensitivity.

### 2.7. *Statistical Analysis*

The results of the somatic maturation development were evaluated by Kruskal-Wallis analysis of variance, followed by Dunn's test for multiple comparisons among groups, with considering the significant level considered to be  $p < 0.05$ .

The Variance Analysis for Repeated Measures followed by the Tukey test was employed for comparisons of the body weight. When the normality test had been passed, the One Way Analysis of Variance (ANOVA) was used followed by the Tukey Test for multiple comparisons among groups. When the normality test had been failed, the Kruskal-Wallis analysis of variance was used followed by Dunn's test for multiple comparisons among groups, considering the significant level considered to be  $p < 0.05$ .

## **3. Results**

### 3.1. *Somatic Maturation Indexes*

Comparing the suckling group from mothers exposed to EMF and malnourished, during pregnancy (Group D) to the suckling group from mothers fed casein (Group A), a delay was observed in the day (in median) that the following somatic maturation indexes appeared: AO, ACO, EO, UIE and LIE, ( $p < 0.05$ ), (Table 3).

When the different diets were considered, the offspring whose mothers were fed with a deficient diet and exposed to the EMF during pregnancy (Group D) showed a delay in the AO and EO indexes when compared to Group B whose mothers were fed casein and exposed to the EMF during pregnancy ( $p < 0.05$ ) (Table 3).

When comparison was made between the offspring whose mothers were fed RBD, one group of which was exposed and the other group not exposed to EMF (Groups D and C), during pregnancy, only a delay in the AO somatic index was noticed

in Group D ( $p < 0.05$ ) (Table 3). When comparing the groups whose mothers were fed casein diet, one group of which was exposed to EMF and the other group not during pregnancy (Groups B and A), the Group B presented a delay in the following somatic maturation indexes: AO, ACO and LIE ( $p < 0.05$ ) (Table 3).

### 3.2. *Body Weight*

After performing the statistical analysis of the body weight of the suckling over the first twenty-one days of live, there was no statistical difference observed between the weights measured from the first to the third day. However, from the fourth day a statistical weight gain was observed in all the groups.

Table 4 shows the suckling average weight  $\pm$  standard error for the Groups A, B, C and D during the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup>, 15<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> days after birth. At the twenty first day of life it was observed that the diet associated with the EMF, taken together, changed the body weight of offspring, where as Group C (formed from offspring of rats fed RBD but not subjected to EMF) showed lower body weight than Group B (formed from offspring of rats fed casein and subjected to EMF during pregnancy).

When the diet were considered, the offspring whose mothers were fed RBD during pregnancy (Groups C and D) had lower weight at the first and third day of life than the offspring whose mothers were fed casein (Groups A and B).

The EMF caused a decrease in the weight mean of offspring from rats fed casein and exposed to the EMF, during pregnancy (Group B), at the third and sixth day of life when compared with offspring of rats fed casein during pregnancy (Group A).

## 4. Discussion

The choice of intensity of  $3\mu\text{T}$  was due to the necessity of using a higher intensity of EMF than in residences and most work places. In those places the average 50/60 Hz magnetic fields, as determined by the National Academy of Science [22], are

between 0.1 and 0.3 $\mu$ T. In this study, a value ten times higher than the maximum value expected was used. Depending on the distance between the conductors and the ground and the magnetic flux densities can average 22 $\mu$ T in function of the current load in the line [23] and this value could also depend on the geographic location and the nature of the magnetic material near the subject area [24].

The RBD was chosen as the experimental diet in this study because it is not only deficient in protein, but also in lipids, vitamins, sodium and other minerals [4,25]. The pregnant rats were fed casein or RBD when they presented a positive test for pregnancy. According to Frazer and Huggett [26], the foetus competes with the mother for the nutrients, but only for those that are ingested and stored throughout the pregnancy. They do not compete for those already absorbed by the mother's tissues at the moment of conception.

In this study, the somatic maturation indexes were investigated from the second day after the birth until when somatic maturation had happened, because this period corresponds to the breast-feeding period and is considered by Dobbing [13] as the critical period for development. The observation of the normal sequence of the stages of development in the ontogenesis of the reflexes and acquisition of the mature standard of the locomotive activities can be valuable indexes of the maturation and development of the neurological system [21,27,28]. In rats, these patterns are established in the first three weeks after birth [29].

The offspring from rats exposed to EMF and RDB, taken together, presented a delay in all somatic maturation indexes. In accordance with Anselmo [30], pregnant rats fed RBD and exposed to a 60Hz, 3 $\mu$ T, EMF for two hours per day showed a low dosage of serum T<sub>3</sub>, which agree with the results found this study. According to Porterfield and Hendrich [31], Reysn *et al.* [23], thyroid hormones are very important for the

embryonic development in all vertebrates. In humans, this is more evident in the central neurological system where the thyroid hormone deficit during the fetal and the neo-natal periods results in the syndrome of cretinism, which is characterized by hearing impairment, ataxia, mental disability, and abnormal growth. According to Vara *et al.* [33], the hypothyroidism which appears during the development of rats, results in learning difficulties, delay in the locomotion and cerebral skills and shortened interneuron connectivity.

In this study offspring from rats fed casein showed delay in the auricle opening, auditory canal opening and lower incisor eruption when exposed to EMF. These results do not match with the results of Zusman *et al.* [34], in which they observed a delay in the eye opening of offspring whose mothers were exposed to EMF of 20, 50, and 100 Hz, with a tension of 0.6 V/m, during pregnancy. On the other hand, the results obtained in this study agree with the results of Sokolova [35] and Sienkiewicz *et al.* [36]. Sokolova [35] reported that exposure to 2 or 20 mT fields did not exert any effect on eye opening in mice, and identical results were presented by Sienkiewicz *et al.* [36] for CD1 mice exposed to 20 mT fields. However, Sienkiewicz *et al.* [36] suggest that prenatal exposure to a 50 Hz, 20 mT magnetic field does not engender any gross impairment in postnatal development.

In our experiments we observed that the EMF caused a decrease in the mean weight in Group B (formed from offspring of rats fed casein and subjected to EMF) when compared to Group A (formed from offspring of rats fed casein) at the third and sixth day of life. This result agrees in part with Nishikawa; Hirotsu and Tanaka [37], They observed that suckling mice exposed to pulsed fields of 1.6 mT during pregnancy suffered a decrease in their body weight between the second and the fifth days of life and an increase between the eighth and the twenty-first days of life. Zusman *et al.* [34],

showed that the body weight of rats, exposed to the EMF, 20 or 100 Hz, with a tension of 0.6 V/m, during pregnancy was lower on the first day of life, while animals exposed to EMF of 50 HZ suffered a decrease in their body weight between the twenty-first and twenty-sixth days of life.

Our findings did not match the results obtained by Matos *et al* [38], Sokolova [35] and Sienkwicz *et al* [39]. Matos *et al* [38] observed that rats exposed to an EMF of 60 Hz during the breast-feeding period did not present changes in the weight evolution when compared to the control group, but our rats were exposed during pregnancy. This difference makes the comparison difficult. Sokolova [35] and Sienkwicz *et al* [40], observed that after the exposition to the EMF (50 Hz; 2 and 20 mT) during the pregnancy and the postnatal (6 to 90 days) period, did not find changes in the body weight in mice. Rivas *et al.* [40] exposed Swiss mice to a 50 Hz pulsed field at either 2.3 mT or 83  $\mu$ T from conception until 120 days of age. Male and female mice exposed at the higher field strength were significantly lower in weight at 120 days, but only males were reduced after exposure to the weaker field. The changes in weight were reported to increase throughout the duration of the experiment.

Groups that were fed RBD had a body weight mean lower than the groups fed casein at the first and third days of life. This can be explained by the fact that the suckling depends on its mother for a broad range of physiological functions, i.e. body temperature maintenance, urine excretion and feeding [41]. In approximate terms sucklings have their mother as the only source of food until the fourteenth day of life. The milk availability varies according to the presence of the mother in the nest and her emotional and nutritional states [41]. According to Teosósio *et al.* [7], the RBD presents low vegetal protein content. These proteins are considered to be low in quality when compared with animal proteins, because they do not provide essential amino acid levels

necessary for the normal body development [7]. Another important factor is that when the eye opening occurs (around the fourteenth day of life), the offspring are stimulated to eat solid food when the mother brings it to the nest [42].

What was done in this experiment can be called programming, because according to Lucas [43], the nutrition and metabolic changes that act in the early stages of survival of individuals will permanently affect changes in the animal's physiology. Experimental studies have shown that nutritional manipulation pre- and post-birth can program the size of the adult individuals, their metabolism, blood lipid levels, diabetes, obesity, blood pressure, glomerular hypertrophy, arteriosclerosis, behaviour and learning skills [16,44].

It can be observed that former research studies employed an EMF that did not match the frequency or intensity of our study, making the comparison of results difficult. This is one of the things that characterises the study of EMF action. According to Savitz *et al.* [45], one of the challenges that distinguishes the studies of the effect of EMF on human health from other agents is the uncertainty about the field aspects which are used to characterise the exposition. The environment has electric and magnetic fields of varied frequencies, including frequency harmonics (50 or 60 Hz), varying in time intervals from the order of milliseconds to years. These field sources also vary according to their sites, i.e. offices, houses and other communal environments.

## **5. Conclusion**

The EMF associated with undernutrition, taken together, caused a delay in all Somatic Maturation Indexes. In relation to the body weight, the EMF associated with undernutrition caused a decrease in the body weight at the sixth day of life.

## 6. References

- [1] Pissaia O, Rossi MA, Oliveira JSM. The heart in protein-calorie malnutrition in rats: morphological, electrophysiological and biochemical changes. *J Nutr* 1980; 110: 2035-2044.
- [2] Olubodun JOB. Nutritional factors and heart failure in Nigerians with hypertensive heart disease. *Int J of Cardiol* 1992; 35: 71-76.
- [3] Coutinho EM. Relações Hospedeiro-Parasito na Esquistossomose Mansônica em Função da Dieta Básica Regional: Estudo Epidemiológico e Anatomo-Patológico. Recife, 1976, 100p. Tese de Livre-Docência.
- [4] Teodósio NR, Varela RM, Bion FM, Campos FACS, Lira RAB, Flores H. Protein deficiency and calorie deficiency in etiology of early malnutrition in rats. In: International Congress of Nutrition, XII, San Diego, Proceedings, Abstract n. 1013, 1981.
- [5] Teodósio, N.R., Flores, H., Mayer, H., Martins, F., Campos, F., Ramalho, R.A. Efecto diferencial de las desnutrition sobre el sistema nervioso central. In: Seminário Internacional “Desnutrition y funciones cerebrales superiores”. Resúmenes de conferencias y comunicaciones libres. Santiago, Universidad de las Naciones Unidas, p. 105, 1983.
- [6] Pessoa DCNP. Efeitos da desnutrição pela dieta básica regional (DBR), em três gerações de ratos, sobre a reprodução, crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos. Tese Doutorado Universidade Federal de Pernambuco. 1997.
- [7] Teodósio NR, Lago ES, Romani SAM, Guedes RCA. A regional basic diet from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. *Arch Latinoam Nutr* 1990; XL: 533-547.

- [8] Rocha de Melo AP, Guedes RCA. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30: 663-669.
- [9] Jessell TM. Development of the Nervous System. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Essentials of Neural Science and Behavior*. Stamford: Appleton & Lange, 1995.
- [10] Nishi R. Neurotrophic factors: two are better than one. *Science* 1994; 265: 1052-1053.
- [11] Dobbing J. Vulnerable periods in developing brain. In: Davson AN, Dobbing J. (Eds), *Applied Neurochemistry*. Oxford: Blackwells, 1968, pp. 287-316.
- [12] Morgane PJ, Austin-Lafrance RJ, Bronzino J, Tonkiss J, Diaz-Cintra S, Cintra L, Kemper T, Galler JR. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 1993; 17: 91-128.
- [13] Dobbing J. Undernutrition and the developing brain. *Am J Dis Child* 1970; 120: 411-415.
- [14] Lynch G, Smart JL, Dobbing J. Motor coordination and cerebellar size in adults undernourished in early life. *Brain Res* 1975; 83: 249-259.
- [15] Manhães de Castro R, Medeiros JMB, Mendes da Silva C, Ferreira LMP, Guedes RCA, Cabral Filho JE, Costa JA. Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 121-124.
- [16] Lucas A. Programming by early nutrition: an experimental approach. *J Nutr* 1998; 128: 401S-406S.
- [17] Del-Prado, M., Delgado, G., Villalpando, S. Maternal Lipid Intake during Pregnancy and Production and Litter Growth in Rats. *American Society for Nutritional J Nutr* 1997; 127: 458-462.

- [18] Galloni P, Marino C. Effects of 50 Hz Magnetic Field Exposure on Tumour Experimental Models. *Bioelectromagnetics* 2000; 21: 608-614.
- [19] Marino AA. Environmental Electromagnetic Energy and public Health. Department of Orthopaedic Surgery, Louisiana State University School of Medicine in Shreveport. Shreveport, Louisiana. Available in:  
<<http://www.ortho.lsuhsu.edu/Faculty/Marino/Papers/79MBch27.pdf>>. Access in: 09/03/2005.
- [20] Lucena ACT, Anselmo CWSF, Oliveira IM, Bernardo Filho M, Catanho MTJA. Effects of 60 Hz Electric Magnetic Field on the Immune System in the Wistar Rats. In: *Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop, 2002, Rhodes, Greece*. *Anais Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop*. Rhodes, Greece, v.II, p.837 - 845, 2002.
- [21] Smart JL, Dobbing J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain Res* 1971; 28: 85-95.
- [22] National Academy of Science; National Research Council. Possible health effects of exposure to residential electric and magnetic fields. Washington: National Academy Press, 1996.
- [23] Simon NJ. Biological effects of static magnetic fields: a review. *International Cryogenic Materials Commission*, Boulder, Colorado, p.284, 1992.
- [24] Repacholi MH, Greenebaum B. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 1999; 20:133-160.

- [25] Monteiro FMF, Lahlou S, Albuquerque JA, Cabral A.M.S. Influence of a multideficient diet from north-eastern Brazil on resting blood pressure and baroreflex sensitivity in conscious, freely moving rats. *Braz Med Biol Res* 2001; 34: 271-280.
- [26] Frazer JFD, Huggett AAG. The partition of nutrients between mother and conceptus in the pregnant rat. *J Physiol* 1970; 207: 783-788.
- [27] Walton KD, Lieberman D, Llinás A, Begin M, Llinás RR. Identification of a critical period for motor development in neonatal rats. *Neuroscience* 1992; 51: 763-767.
- [28] Barros KMFT. Efeitos da desnutrição neonatal e/ou do tratamento com agonista 5-HT<sub>1A</sub> sobre o desenvolvimento sensório-motor e atividade exploratória em ratos. Recife, 107p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco. CCS Nutrição, 1999.
- [29] Gramsbergen A. Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? *Neurosci Biobehav Rev* 1998; 22: 547-553.
- [30] Anselmo, CWSF. Efeitos do Campo Eletromagnético de 60 Hz, 3 $\mu$ T, na regulação hormonal e metabólica de ratas prenhas Recife, 2005. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco. CCS Nutrição.
- [31] Portefield SP, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development – current perspectives. *Endocr Rev* 1993; 14: 94-106.
- [32] Reyns GE, Verhoelst CHJ, Kühn ER, Darras VM, Van Der Geyten S. Regulation of thyroid hormone availability in liver and brain by glucocorticoids. *Gen Comp Endocrinol* 2005; 140: 101-108.
- [33] Vara H, Martinez B, Santos A, COLINO A. Thyroid hormone regulates neurotransmitter release in neonatal rat hippocampus. *Neuroscience* 2002; 110: 19-28.

- [34] Zusman I, Yaffe P, Pinus H, Ornoy A. Effects of pulsing electromagnetic fields on the prenatal and postnatal development in mice and rats: in vivo and in vitro studies. *Teratology* 1990; 42: 157-170.
- [35] Sokolova IP. The state of reproductive function in female mice exposed to a 50 Hz magnetic field. Abstracts of Reports, Mechanisms of Biological Effects of Non ionizing Electromagnetic Radiation 1998; 12:92.
- [36] Sienkiewicz AJ, Robbins L, Haylock RGE, Saunders RD. Effects of Prenatal Exposure to 50 Hz Magnetic Fields on Development in Mice: II Postnatal Development and Behavior. *Bioelectromagnetics* 1994; 15: 363-375.
- [37] Nishikawa U, Hirotsu H, Tanaka O. Study on postnatal development in mice exposed to electromagnetic fields (PEMFs) during their prenatal period. *Teratology* 1986; 34: 442-443.
- [38] Matos RJB, Montenegro EJM, Barros KMFT, Castro CM.B, Manhães de Castro R. Campos eletromagnéticos não-ionizantes não alteram o desenvolvimento sensório-motor em ratos. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco* 2001; 46: 132-136.
- [39] Sienkiewicz AJ, Bartram R, Haylock RG, Saunders RD. Single, brief exposure to a 50 Hz magnetic field does not affect the performance of an object recognition task in adult mice. *Bioelectromagnetics* 2001; 22: 19-26.
- [40] Rivas L, Rius C, Tello I, Oroza MA. Effects of chronic exposure to weak electromagnetic fields in mice. *ICRS Med Sci* 1985;13: 661-662.
- [41] Friedman MI. Some Determinants of Milk Ingestion in Suckling Rats. *Journal of Comparative Physiological Psychology* 1975; 89.
- [42] Galef BG, Clark MM. Parent-offspring interactions determine time and place of first ingestion of solid food by wild rat pups. *Psychon Sci* 1971; 25: 15-16.

[43] Lucas, A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. Arch Dis Child 1994; 71: 288-290.

[44] Waterland RA, Garza C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. Am J Clin Nutr 1999; 69: 179-197.

[45] Savitz DA, Ohya T, Loomis DP, Senior RS, Bracken TD, Howard RL. Correlations among indices of electric and magnetic field exposure in electric utility workers.

Bioelectromagnetics 1994; 15: 193-204.

## 7. Tables

Table 1: Centesimal composition of the Regional Basic Diet (RBD) (Teodósio, 1990).

INGREDIENTS	g%	Proteins	Carbohydrates	Fats	Fibers	Kcal%
	(g)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Beans	18.34	3.99	10.66	0.24	1.09	60.76
Manioc flour	64.81	0.84	48.59	0.12	5.64	198.80
Poor fat dried and salted meat fat	3.74	2.74	-	0.21	-	12.85
Dried and salted meat fat	0.35	-	-	0.35	-	3.15
Sweet potato	12.76	0.30	9.99	0.03	0.48	41.43
TOTAL	100.00	7.87	69.24	0.95	7.21	316.99

Table 2: Centesimal composition of the Control Diet (Casein).

INGREDIENTS	g %	Proteins	Carbohydrates	Fats	Calories
Comercial casein*	19.6	18.00	-	-	72.00
Vegetable fat	7.00	-	-	7.00	63.00
Biscomil	63.35	0.18	53.37	-	214.20
Salt Mixture	3.50	-	-	-	-
Vitamin mixture	1.00	-	-	-	-
Fibers	5.00	-	-	-	-
L-Cistina	0.30	-	-	-	-
Bitartarato de colina	0.25	-	-	-	-
TOTAL	100.00	18.18	53.37	7.00	349.20

\*92% of protein.

Table 3 – Somatic maturation indexes of offspring born from rats subjected to four different situations during their pregnancy. The groups are: Group A (n=12), formed by offspring from rats fed casein and not subjected to EMF, group B (n=24), formed by offspring from rats fed casein and subjected to EMF, group C (n=18), formed by offspring from rats fed RBD and not subjected to EMF and the group D (n=12), formed by offspring from rats fed RBD and subjected to EMF. The data show the number of offspring that was studied and the age median, in days, with quartile (Q25-Q75) of the day when the somatic maturation happened. Eye Opening (EO), Auricle Opening (AO), Auditory Canal Opening (ACO), Low Incisor Eruption (LIE), Upper Incisor Eruption (UIE).

GROUPS	A (12)	B (24)	C (18)	D (12)
EO	12.5 (10-13) <sup>a</sup>	13 (11-14) <sup>b</sup>	13 (13-14)	14 (14-14) <sup>ab</sup>
AO	1.5 (1-2) <sup>cde</sup>	3 (3-3) <sup>cf</sup>	3 (3-4) <sup>dg</sup>	4 (4-4) <sup>efg</sup>
ACO	10.5 (10-11) <sup>hi</sup>	13 (12-13) <sup>h</sup>	12 (12-13)	13 (13-13.5) <sup>i</sup>
LIE	10 (9-10) <sup>jk</sup>	12 (12-13) <sup>j</sup>	10.5 (10-14)	12 (12-12) <sup>k</sup>
UIE	8 (8-8.5) <sup>l</sup>	9 (8-13)	9 (7-11)	11 (10-11) <sup>l</sup>

The results were evaluated through the ANOVA one-way (Kruskal-Wallis) and through the Dunn's test for effect of comparison of among the groups, considering the significant level  $p < 0.05$ . Letters indicate significant differences between the groups.

Table 4 – The data show the offspring weight, in grams, mean  $\pm$  standard error, on the 1°, 3°, 6°, 9°, 12°, 15°, 21° days of life, of offspring born from rats subjected to four

different situations during their pregnancy. Group A (n=12), formed by offspring of rats fed by casein and not subjected to EMF, group B (n=24), formed by offspring of rats fed by casein and subjected to EMF, group C (n=18), formed by offspring of rats fed by RBD and not subjected to EMF and the group D (n=12), formed by offspring of rats fed by RBD and subjected to EMF.

GROUPS	1 <sup>st</sup> day	3 <sup>rd</sup> day	6 <sup>th</sup> day	9 <sup>th</sup> day	12 <sup>th</sup> day	15 <sup>th</sup> day	21 <sup>st</sup> day
A (12)	7.6±0.19 <sup>ab</sup>	11.6±0.28 <sup>efg</sup>	17.1±0.57 <sup>jkl</sup>	20.6±0.86	25.7±1.5	32.5±1.76	49.1±1.01
B (18)	7.0±0.13 <sup>cd</sup>	8.6±0.22 <sup>ehi</sup>	14.6±0.53 <sup>j</sup>	21±0.51	27.6±0.71	34.7±0.62	52.6±0.76 <sup>m</sup>
C (15)	5.8±0.24 <sup>ac</sup>	7.6±0.4 <sup>th</sup>	12.3±0.98 <sup>k</sup>	18±1.6	24.6±2.38	30.7±3.07	41.4±4.18 <sup>m</sup>
D (12)	5.6±0.06 <sup>bd</sup>	7.4±0.15 <sup>gi</sup>	12.5±0.29 <sup>l</sup>	19.1±0.38	26.4±0.46	34.6±0.72	50±1.24

The results were evaluated through the ANOVA one-way (Kruskal-Wallis) and through the Dunn's test for effect of comparison of among the groups when the normality test failed and through ANOVA One Way followed by Tukey Test when the normality test passed, considering the significant level  $p < 0.05$ . Letters indicate significant differences between the groups.

## 7. DISCUSSÃO GERAL

Os resultados destes experimentos demonstram que ratas prenhas expostas ao CEM de 60 Hz, 3 $\mu$ T, durante o período gestacional e alimentadas pela DBR (Grupo D) sofreram um aumento na liberação de glicose sanguínea quando comparadas ao grupo submetido apenas à DBR (Grupo C). Ratas alimentadas pela DBR, apresentaram uma diminuição no nível de insulina e cortisol sérico quando comparadas ao grupo alimentado pela dieta caseína (Grupo A). Pode ser observado neste experimento que a concentração da glicose, insulina e cortisol apresentam comportamentos semelhantes com uma mesma tendência entre os grupos, apesar das diferenças estatísticas não coincidirem.

Esta diferença obtida, na concentração de glicose, entre o grupo D, formado por ratas submetidas a DBR e ao CEM, e o Grupo C, formado por ratas submetidas apenas à DBR, não era esperada pois ambos os grupos foram alimentados pela mesma dieta, no entanto, isto pode ser explicado devido a exposição do grupo D ao CEM. De acordo com Armario; Martí; Gil (1990); De Boer *et al* (1990); Martí; Armario (1997), estresse repetido é associado com a sensibilidade da glicose, induzindo a hiperglicemia. Segundo Harakawa *et al* (2004), o CEM de 50 Hz aumenta os níveis de ACTH, glicose, lactato e piruvato em ratos estressados, demonstrando que o CEM de 50 Hz altera tanto a resposta ao estresse quanto o metabolismo em ratos estressados.

Lucena *et al*, (2002) ao expôr ratos machos, alimentados pela dieta labina, por 30 dias, 2 horas por dia, ao CEM de 60 Hz, 3 $\mu$ T, obtiveram um aumento nas dosagens séricas de glicose e cortisol e ao expôr ratos do mesmo sexo, mesma dieta, por 30 dias, 24 horas por dia, ao CEM de 60 Hz, 10 $\mu$ T, obtiveram o mesmo resultado (Lucena *et al*, 2004). Esses resultados diferem dos resultados obtidos neste experimento, mas isto

pode ser explicado, pelo fato de ratas prenhas terem sido utilizadas nesta pesquisa e a prenhez se caracteriza por ser um período onde ocorrem mudanças no metabolismo da mãe, tendo como finalidade suprir as necessidades do feto. Segundo Resnick *et al.* (1982) o feto depende não somente dos nutrientes fornecidos através da placenta, mas também de quantidades extras de proteína e gordura armazenadas pela mãe no início da gestação. Desde que o estado nutricional materno determina a quantidade dessas reservas, as fêmeas malnutridas e com baixo ganho em peso durante a gestação terão menores reservas e, se a desnutrição for severa, o crescimento e o desenvolvimento normal do concepto serão prejudicados.

A tendência da concentração de insulina entre os grupos foi semelhante a da glicose, no entanto, no caso da insulina o grupos que não foram expostos ao CEM, grupo A, composto por ratas alimentadas pela caseína e o grupo C, composto por ratas alimentadas pela DBR, apresentaram diferença estatisticamente significativa. Esta diferença já era esperada devido a diferença de dieta entre eles. Embora, o grupo C, submetido a DBR e o grupo D, submetido a DBR e ao CEM, tenham apresentado o mesmo comportamento das concentrações de glicose, onde o grupo D apresentou valores maiores, eles não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação a insulina. Esta tendência apresentada pela insulina pode ser explicada pelo mesmo mecanismo que aumenta a liberação de glicose, pois quando o nível de glicose aumenta o nível de insulina tem que subir também. De acordo com Champe; Harvey (2002) o nível de glicose sanguínea controla o nível de insulina. Os resultados obtidos neste experimento mostram que o CEM altera o metabolismo corporal, porque esperava-se que o grupo B, composto por ratas submetidas a caseína e ao CEM apresenta-se diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo C, grupo

submetido a DBR e não exposto ao CEM, para concordar com o comportamento do grupo A, composto por ratas alimentadas pela caseína sem sofrerem exposição ao CEM.

O mesmo comportamento da insulina foi verificado na concentração sérica de cortisol neste experimento. Isto mostra mais uma vez que a exposição ao CEM afeta o metabolismo corpóreo. De acordo com a hipótese de Stevens (STEVENS, 1987; STEVENS; DAVIS, 1996) a exposição ao CEM tem efeito não só na melatonina, mas também nos hormônios da reprodução e do sistema imune. A razão pela qual o cortisol foi dosado neste experimento, deve-se ao fato dele ser conhecido como um indicador de estresse no organismo (CLOW; HUCKLEBRIDGE, 2001).

Neste estudo, as concentrações de  $T_3$  e  $T_4$  apresentaram uma maior variação entre os grupos. Na concentração de  $T_3$  foram verificados valores decrescentes onde o grupo alimentado pela dieta caseína apresentou a maior concentração (Grupo A), o grupo alimentado pela dieta caseína e submetido ao CEM (Grupo B) obteve a segunda maior concentração, o grupo alimentado pela DBR (Grupo C) apresentou o terceiro maior valor e o grupo submetido à DBR e exposto ao CEM (Grupo D) teve a menor concentração sérica de  $T_3$  na seguinte ordem: (A>B>C>D). A concentração sérica de  $T_4$  do grupo submetido à dieta caseína foi maior do que a concentração dos outros grupos e a concentração de  $T_4$  do grupo submetido à DBR foi menor que a concentração do grupo submetido à dieta caseína. A relação entre  $T_4:T_3$  foi muito exagerada no grupo submetido à DBR e ao CEM.

Este resultados concordam com os dados obtidos por Zagorskaya; Rodina (1990) *Apud* RAJKOVIC *et al*, 2003. Estes autores obtiveram menores concentrações dos hormônios tireoideanos durante dois meses depois de uma única exposição dos ratos ao CEM de 20 mT. Os resultados obtidos neste experimento se assemelham em parte aos resultados de Rajkovic *et al* (2003), onde eles expuseram ratos ao CEM de 50

Hz, 50-500 $\mu$ T durante 3 meses, depois deste período uma parte dos ratos (grupo I) foram sacrificados, enquanto os outros animais foram submetidos a uma avaliação da recuperação da glândula e foram sacrificados depois de 1 semana (grupo II), 2 semanas (grupo III) e 3 semanas (grupo IV). Eles observaram que as concentrações séricas de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> eram significativamente menores em todos os animais expostos, exceto no grupo I. No entanto, nossos dados não concordam com os dados obtidos por Lafreniere; Persinger (1979), Selmaoui *et al* (1997). Lafreniere; Persinger (1979), não encontraram alterações nas concentrações séricas de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> em ratos expostos ao CEM de 0.5 Hz, com diferentes intensidades, no período pré-natal ou em ratos adultos. O estudo de Selmaoui *et al* (1997), mostrou uma diferença insignificante nos níveis séricos de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> entre homens expostos ao CEM contínuo e intermitente de 50 Hz, 10  $\mu$ T, por uma noite, quando comparados com o grupo controle. Em oposição a este achado, Udintsev *et al* (1978) *Apud* RAJKOVIC *et al* (2003) relataram um aumento nos níveis séricos de T<sub>4</sub> e TSH circulantes em ratos expostos ao CEM de 50 Hz, 20 mT, por 18h. Entretanto, diferenças nos protocolos experimentais e nas características do CEM utilizadas nos experimentos dos autores citados, dificultam uma comparação adequada dos resultados.

A concentração sérica de T<sub>3</sub> foi bem mais baixa que a concentração de T<sub>4</sub> em todos os grupos. Isto pode ser explicado por Pazos-Moura; Ortiga-Carvalho, Moura (2003); Moura; Pazos-Moura (2004). Eles dizem que a tireóide secreta predominantemente T<sub>4</sub> e pequena quantidade de T<sub>3</sub>, em seres humanos essa taxa é de 14:1, enquanto no rato adulto é de 5:1. Neste experimento, a diferença entre T<sub>4</sub> e T<sub>3</sub> foi maior do que o esperado em todos os grupos. A diferença no grupo A, composto por ratas alimentadas pela caseína e não expostas ao CEM, foi a menor, enquanto a diferença no grupo D, que foi submetido a DBR e ao CEM, foi a maior. De acordo com Moura; Pazos-Moura (2004), indivíduos em situações de estresse agudo, assim como em certas

doenças, podem apresentar diminuição do TSH sérico, apesar de concomitante redução das concentrações séricas de T<sub>3</sub> livre, no entanto o T<sub>4</sub> livre geralmente está normal.

Esta relação (T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub>) pode ter sido exagerada neste estudo devido ao fato de que as ratas estarem no período de prenhez. Em seres humanos Burrow; Fisher; Larsen (1994) afirmaram que a gestação aumenta a necessidade de T<sub>4</sub> do organismo, aumentando a produção de T<sub>4</sub> em 25-50%. Entretanto, neste experimento, as dosagens foram feitas no final da gestação, quando as ratas tinham os filhotes. Segundo Calvo *et al* (1990), neste período as dosagens são normalmente mais baixas. Eles observaram que T<sub>4</sub> e T<sub>3</sub> diminuem nos tecidos extra-tireoideanos como no plasma, fígado, rins, pulmões, coração e músculo esquelético entre o 17º e o 22º dia de gestação em ratas normais. Neste experimento uma grande diferença na relação T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub> foi obtida quando o Grupo D, submetido à DBR e ao CEM, foi comparado ao Grupo A, controle. Onde o Grupo D apresentou uma relação T<sub>4</sub>:T<sub>3</sub> quase 18 vezes maior do que o Grupo A. Isto pode ser explicado por uma diminuição na quantidade da enzima desidase ou mesmo sua inatividade devido a ação conjunta da desnutrição e da indução do CEM. De acordo com Bianco *et al* (2002) e Bianco (2004), o hormônio tireoideano ativo é o T<sub>3</sub>. O T<sub>3</sub> é produzido por dois processos diferentes e relativamente independentes, um é a liberação direta pela tireóide e o outro é a desidase do T<sub>4</sub> pela 5' desidase. A desidase ocorre pela ação de três isoenzimas, classificadas pelo critério bioquímico e funcional, e pela distribuição tecidual: desidase tipo I (5'D-I), desidase tipo II (5'D-II) e desidase tipo III (5'D-III). De acordo com Bianco *et al* (2002) tanto em animais experimentais como em humanos as mudanças coordenadas na expressão e atividade destas enzimas asseguram a homeostasia hormonal da tireóide e a manutenção da produção de T<sub>3</sub>, constituindo o principal mecanismo de adaptação quando ocorrem alterações na ingestão de iodo, fome e mudanças na temperatura ambiente.

As funções tireoideanas podem ser alteradas por muitos fatores durante diferentes fases da vida de um indivíduo em função da idade, nutrição, sexo e gravidez. A desnutrição afeta a função tireoideana (MOURA *et al*, 1987; ORTIGA-CARVALHO *et al*, 1997; PASSSOS *et al*, 2001a e b; PASSSOS *et al*, 2002a e b). Possíveis alterações nas ações enzimáticas envolvidas em processos citotóxicos em células da tireóide e liberação hormonal devem ser levados em consideração. Resultados de investigações experimentais demonstraram que o CEM afeta as enzimas (BLANK *et al*, 1995; HOLIAN *et al*, 1996; LOSCHINGER *et al*, 1998; DING *et al*, 2001) e causa alterações na estrutura e função das membranas celulares (LISI *et al*, 2000; BORDIUSHKOV *et al*, 2000) sendo estas apontadas como sendo o alvo primário da ação do CEM em sistemas biológicos (TENFORDE; KAUNE, 1987; GOODMAN *et al*, 1995), envolvendo o aspecto possível da ação direta do CEM na glândula tireóide (MATAVULJ *et al*, 1998 *Apud* RAJKOVIC *et al*, 2003). Segundo Tonini *et al* (2001) o CEM de 50/60-Hz poderia interferir na divisão, diferenciação e nas alterações de tensão da membrana celular, possivelmente pela alteração intracelular da concentração de cálcio. Tonini *et al*, (2001) demonstraram, através de experimento, que o CEM de 50/60 Hz interage na diferenciação celular através de dois mecanismos opostos. O CEM de baixa frequência é capaz de prevenir mudanças na diferença de potencial celular por diferentes agentes. O CEM estimula o aumento de  $Ca^{++}$  intracelular de maneira dose dependente e simultaneamente, o aumento intracelular de íons divalentes atua como um agente de resgate, pela abertura dos canais de potássio cálcio dependente, reestabelecendo a diferenciação celular. A partir do exposto os autores concluíram que as células são normalmente protegidas contra o CEM. No entanto, na presença de qualquer alteração nos mecanismos de ação dos canais de cálcio ou de potássio cálcio dependente, a exposição crônica aos CEMs pode induzir condições patológicas.

Essas alterações nas dosagens dos hormônios tireoideanos nas ratas prenhas devem ter forte relação com os resultados obtidos no desenvolvimento somático e reflexo da prole proveniente destas. Ratos provenientes de mães submetidas a DBR e ao CEM de 60 Hz, 3 $\mu$ T, durante o período gestacional, apresentaram retardo em todos os parâmetros avaliados na maturação reflexa e somática no período de aleitamento. A DBR isolada causou retardo em seis dos sete reflexos estudados e na abertura do pavilhão auricular. O CEM, quanto aos reflexos, causou retardo na preensão palmar, na aversão ao precipício e na recuperação de decúbito em queda livre nos animais alimentados pela caseína e retardo na preensão palmar na prole alimentada pela DBR durante a gestação. Quanto à maturação somática, o CEM, causou atraso na abertura do pavilhão auricular, na abertura do canal auditivo e na erupção dos dentes incisivos inferiores nos animais alimentados pela caseína e causou retardo na abertura do pavilhão auditivo nos animais alimentados pela DBR.

De acordo com Porterfield; Hendrich (1993); Reyns *et al* (2005), hormônios tireoideanos são essenciais para um desenvolvimento embrionário normal em todos os vertebrados. Em humanos, isto é mais evidente no sistema nervoso central onde a deficiência de hormônio tireoideano durante o período fetal e neo-natal resulta na síndrome de cretinismo, que é caracterizada por sudez irreversível, ataxia, retardo mental e crescimento anormal. Segundo Vara *et al* (2002), o hipotireoidismo durante o desenvolvimento de ratos resulta em aprendizado prejudicado, retardo na habilidade locomotora e cerebral com diminuída conectividade interneuronal.

Neste estudo as dietas, DBR e caseína, só foram utilizadas quando as ratas apresentavam diagnóstico positivo de prenhez. Segundo Frazer; Huggett (1970), o feto compete com a mãe pelos nutrientes, mas unicamente por aqueles que são ingeridos e armazenados durante a gestação e nunca pelos que existiam nos tecidos maternos no

momento da concepção. Este fenômeno é chamado de programação, pois de acordo com Lucas (1994), alterações nutricionais e metabólicas, atuando numa etapa precoce da vida, produziriam mudanças permanentes na fisiologia do animal. Estudos experimentais tem mostrado que manipulação nutricional pré ou pós-natal podem programar o tamanho do indivíduo quando adulto, metabolismo, nível de lipídio sanguíneo, diabetes, obesidade, pressão arterial, hipertrofia glomerular, arteriosclerose, comportamento e a capacidade de aprender (LUCAS, 1998, WATERLAND; GARZA, 1999).

A prole proveniente de ratas expostas ao CEM e a DBR, apresentaram em geral, um retardo na maturação reflexa e somática. Isto pode ser explicado pelo fato de que ratas submetidas a DBR e ao CEM, nas mesmas condições utilizadas neste experimento, durante a prenhez apresentaram uma baixa dosagem de T<sub>3</sub> sérico (PORTERFIELD; HENDRICH, 1993; Vara *et al*, 2002; REYNS *et al*, 2005). A prole de ratas submetidas a DBR durante a gestação apresentou retardo no aparecimento de todos os reflexos, exceto na recuperação de decúbito em queda livre quando comparada com a prole de ratas nutridas adequadamente e sem sofrerem exposição ao CEM. Este resultado concorda em parte com os resultados obtidos por Smart e Dobbing (1971), onde observaram que a prole de ratas desnutridas apresentaram retardo no aparecimento de todos os reflexos. Quando a prole é avaliada nos primeiros 21 dias pós-natais, correspondendo a fase de aleitamento e considerado por Dobbing (1968) como sendo um período crítico de desenvolvimento, a sequência normal de desenvolvimento na ontogênese de reflexos e a aquisição do padrão maduro da atividade locomotora podem servir como indicadores de maturação e desenvolvimento do sistema nervoso (SMART; DOBBING, 1971; WALTON *et al*, 1992; BARROS, 1999). No rato, esses padrões são alcançados nas três primeiras semanas pós-natais (GRAMSBERGEN, 1998).

Os dados obtidos neste experimento concordam em parte com os dados obtidos por Matos *et al* (2001). Estes pesquisadores dividiram a prole de ratas alimentadas pela dieta labina, durante a prenhez, em dois grupos. Um grupo controle e outro grupo exposto ao CEM de 60 Hz, desde o primeiro dia de vida, durante o período de aleitamento. Os autores concluíram que a exposição neonatal às radiações não-ionizantes não acarretou modificações na ontogênese dos reflexos, no entanto esses dados não apresentaram a mesma condição experimental do nosso estudo, sendo difícil utilizá-lo para comparação.

Zusman *et al* (1990), não obtiveram alteração no tempo de surgimento do reflexo de recuperação de decúbito da prole de ratas expostas ao CEM, de 20, 50 e 100 Hz, com uma tensão de 0,6 V/m, no entanto observou um retardo na abertura dos olhos. Estes achados não concordam com os nossos, pois quando comparamos a prole de ratas submetidas ao CEM e os não submetidos ao CEM, ambos alimentados com a dieta controle (caseína), não observamos diferença estatisticamente significativa no tempo de abertura dos olhos nos animais. Sokolova (1987), reportou que a exposição da fêmea ao CEM de 2 ou 20 mT, durante a gestação, não causou nenhuma alteração no tempo da abertura do olho dos camundongos. Segundo Sienkiewicz *et al* (1994), a prole de ratas submetidas ao CEM de 50 Hz, 20 mT, durante a gestação, não apresentou alteração morfológica ou funcional no desenvolvimento pós-natal. Nishikawa; Hirotsu; Tanaka (1986), reportaram que a exposição de camundongos, durante a prenhez, ao CEM não afetou o tempo de surgimento da geotaxia negativa, mas causou um aumento no tempo de surgimento do reflexo de recuperação de decúbito.

Em relação ao peso corporal, o CEM associado à desnutrição causou mudanças no vigésimo primeiro dia de vida. A prole submetida a DBR durante a prenhez, apresentou baixo peso no primeiro e terceiro dia de vida quando comparados com a

prole submetida à caseína no mesmo período. O peso da prole submetida à caseína e ao CEM, no terceiro e sexto dia de vida, foi mais baixo quando comparado com o da prole submetida apenas à caseína durante a prenhez.

Pode-se verificar que o CEM causou uma diminuição na média de peso do Grupo B (composto pela prole de ratas alimentadas pela caseína e expostas ao CEM) quando comparado ao Grupo A (composto pela prole de ratas alimentadas pela caseína) no terceiro e sexto dias de vida. Concordando em parte com Nishikawa; Hirotsu; Tanaka (1986), que ao exporem camundongos a campos pulsados de 1.6 mT durante a gestação, observaram uma diminuição no peso da prole entre o segundo e o quinto dia de vida e um aumento entre o oitavo e o vigésimo primeiro dia de vida durante o aleitamento. Zusman *et al* (1990), observaram que o peso de ratos expostos ao CEM, 20 ou 100 Hz, com tensão de 0,6 V/m, durante a gestação foi menor no primeiro dia de vida, enquanto animais expostos ao CEM de 50 Hz apresentaram redução do peso somente entre o vigésimo primeiro e o vigésimo sexto dia de vida. Todavia, os resultados deste estudo não concordam com os resultados obtidos por Matos *et al* (2001); Sokolova (1987) e Sienkiewicz *et al* (2001). Matos *et al* (2001), observaram que ratos submetidos ao CEM de 60 Hz durante o aleitamento, não apresentaram mudanças na evolução ponderal quando comparados com o controle, porém no corrente estudo os ratos foram expostos no período gestacional, sendo difícil fazer comparação. Sokolova (1987); e Sienkiewicz *et al* (2001), observaram que após a exposição aos campos magnéticos (50 Hz; 2 e 20 mT) durante o período de gestação e dias pós-natais (6 a 90 dias) não encontraram mudanças no peso corporal em camundongos.

Rivas *et al* (1985), expôs ratos Swiss ao CEM de 50 Hz, 2.3 mT ou 83  $\mu$ T, desde a concepção até 120 dias pós-natais. Machos e fêmeas expostos ao campo mais alto

apresentaram uma diminuição no peso corporal nos 120 dias, mas somente os machos apresentaram redução do peso após a exposição ao CEM mais baixo.

Os grupos alimentados pela DBR apresentaram uma média de peso corporal menor do que os grupos alimentados pela caseína no primeiro e terceiro dias de vida. Isto pode ser explicado pelo fato de o neonato depender de sua mãe para uma variedade de ações fisiológicas, como manutenção da temperatura corporal, excreção urinária e alimentação (FRIEDMAN, 1975). Aproximadamente até o décimo quarto dia de idade, eles têm sua mãe como fonte única de alimento, e a disponibilidade de leite varia assim com a presença ou ausência materna no ninho, com o seu estado emocional e nutricional (FRIEDMAN, 1975). Segundo Teodósio *et al* (1990), a DBR apresenta proteína em quantidade muito pequena e de origem vegetal. Essas proteínas, quando comparadas às de origem animal, são consideradas de qualidade inferior, uma vez que não fornecem teores de aminoácidos essenciais adequados ao desenvolvimento normal do organismo (TEODÓSIO *et al*, 1990). Outro fator importante é que a partir da abertura dos olhos (décimo segundo ao décimo quarto dia de idade) a prole é estimulada a comer alimento sólido quando a mãe também o fizer (GALEF; CLARK, 1971).

Os resultados obtidos neste trabalho podem ter sido decorrentes de uma programação da função tireoideana, pois na vida fetal, os tecidos e órgãos do corpo passam por fases críticas de desenvolvimento. Estas fases podem coincidir com períodos de rápida divisão celular. Mudanças no ambiente uterino ou que atuem numa etapa precoce da vida podem ativar adaptações fisiológicas, chamadas de programação metabólica ou impressão metabólica que podem influenciar permanentemente a fisiologia do animal (CSABA; NAGBY, 1985; BARKER, 2000).

O maior risco para doenças crônicas, tais como a síndrome metabólica, no indivíduo adulto pode ter origem mesmo antes do nascimento e em períodos precoces

da vida (BARKER, 2000; HARDING, 2001). Segundo Barker *et al* (1993), um exemplo de programação metabólica acontece em situações de desnutrição materna na gestação, que produz mudanças no metabolismo fetal e nas concentrações de hormônios fetais e placentários.

Além da programação que pode atuar durante o processo de embriogênese e nas etapas pós-natais do desenvolvimento, um outro tipo de influência ambiental sobre o desenvolvimento e que ocorre mais precocemente é o imprinting genômico. Este se caracteriza pelo fato de que alguns genes (pelo menos 50 já conhecidos) se agrupam e podem se expressar de forma diferenciada dependendo se o alelo for materno ou paterno (VILLAR *et al.*, 1995, FERGUSON-SMITH; SURANI, 2001). Assim o imprinting genômico é uma forma de herança epigenética não-mendeliana que se caracteriza pela expressão de apenas um alelo parental, e que pode ser um dos mecanismos pelos quais atuam os desreguladores endócrinos (McLACHLAN, 2001).

## 8. CONCLUSÕES

O CEM associado a desnutrição causou uma diminuição na dosagem sérica de  $T_4$  e  $T_3$  em ratas prenhas, bem como uma relação  $T_4:T_3$  quase dezoito vezes maior do que a relação do grupo alimentado pela dieta caseína.

A prole das mães que foram expostas ao CEM e à desnutrição, durante a prenhez, apresentaram retardo em todos os parâmetros avaliados na maturação reflexa no período de aleitamento.

A prole das mães que foram expostas ao CEM e à desnutrição, durante a prenhez, apresentaram retardo em todos os parâmetros avaliados na maturação somática no período de aleitamento.

Em relação ao peso corporal, o CEM associado à desnutrição causou diminuição no peso corporal no sexto dia de vida.

## 9. PERSPECTIVAS

Nós podemos dar continuidade a este estudo:

- Avaliando os efeitos da associação do CEM à desnutrição no processo que gera a programação.
- Investigar os mecanismos que promovem as disfunções endócrinas e neuronais, de ratas prenhas e prole até a vida adulta.
- Avaliar os mecanismos do imprinting genômico e sua correlação com os fatores envolvidos.
- Analisar a composição do leite materno das ratas submetidas ao CEM e a desnutrição.

Com esta finalidade outros tipos de carências nutricionais e campos eletromagnéticos com outros parâmetros poderão ser utilizados.

## 10. REFERÊNCIAS

- AL-AYADHI, L.Y Neurohormonal changes in medical students during academic stress. **Annals of Saudi Medicine**, v. 25, p. 36-40, 2005.
- AHLBOM, A. Neurodegenerative Diseases, Suicide and Depressive Syntoms in Relation to EMF. **Bioelectromagnetics**, v. 5, p. S132-S143, 2001.
- ALBRECHT, J.; HELDERMAN, J.H; SCHLESSER, M.A. A controlled study of cellular immune function in affective disorders before and during somatic therapy. **Psychiatry Research**, v. 15, p. 185-93, 1985.
- ALMONTE, R.A.; HEATH, D.L.; WHITEHALL, J.; RUSSELL, M.J.; PATOLE, S.; VINK, R. Gestational magnesium deficiency is deleterious to fetal outcome. **Biology of the Neonate**, v. 76, p. 26-32, 1999.
- ANDRADE, F.D.; GUEDES, R.C.A.; TEODÓSIO, N.R. Enhanced rate of cortical spreading depression due to malnutrition: prevention by dietary protein supplementation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 23, p. 889-893, 1990.
- ARMARIO, A.; MARTI, J.; GIL, M. The Serum glucose response to acute estresse is sensitive to the intensity of the stressor and to habituation. **Psychoneuroendocrinology**, v. 15, p.341-347, 1990.
- ARNETZ, B.B; WASSERMAN, J.; PETRINI, B. Immune function in unemployed women. **Psychosomatic Medicine**, v. 19, p. 3-12, 1987.
- AXELROD, J.; REISINE, T.D. Stress Hormones: Their Interaction and Regulation. **Science**, v.224, p.452-459, 1984.
- AZZOLIN, I.R.; BERNARD, E.A.; TRINDADE, V.M.; GAMALLO, J.L.; PERRY, M.L.S. Effect of protein malnutrition on glycoprotein, protein and lipid synthesis in rat cerebellum during the period of brain growth spurt. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 35, p.82-88, 1991.
- BALLABRIGA, A. Some aspects of clinical and biochemical changes related to nutrition during brain development in humans. In: EVRARD, P.; MINKOWSKI, A. **Developmental Neurobiology**. New York: Raven Press, 1989. p. 271-286.
- BALCER, K.; ELIZABETH, K. Gene Expression Flowing 60-Hz Magnetic Field Exposure. **Enviromental Health Perspectives**, Boston, MA, p. 18-22, June, 1995.
- BARBOSA, E.M.S. **Diabetes mellitus tipo II**: uma avaliação preliminar dos efeitos do extrato aquoso da entrecasca do cajueiro e da refeição popular de feijão mulatinho e farinha de mandioca. 1987. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Curso de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1987.

BARKER, D.J.P.; GODFREY, K.M.; GLUKMAN, P.D.; HARDING, J.E.; OWENS, J.A.; ROBINSON, J.S. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. **The Lancet**, v. 341, p. 938-941, 1993.

BARKER, D.J.P. In utero programming of cardiovascular disease. **Theriogenology**, v. 53, p. 555-574, 2000.

BARROS, K.M.F.T. (1999) **Efeitos da desnutrição neonatal e/ou do tratamento com agonista 5-HT<sub>1A</sub> sobre o desenvolvimento sensório-motor e atividade exploratória em ratos**. 1999. 107f. Dissertação (Mestrado e Nutrição) – Curso de Pós graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 1999.

BATES, J.M.; ST GERMAIN, D.L.; GALTON, V.A. Expression profiles of the three iodothyronine desiodinases, D1, D2, and D3, in the development rat. **Endocrinology**, v. 140, p. 844-851, 1999.

BATISTA FILHO, M. **Pesquisa nutricional na zona da mata**. Recife, Universidade Federal de Pernambuco, 1968.

BAUER, E.M.; VEDHARA, K.; PERKS, P.; WILCOCK, G.K.; LIGHTMAN, S.L.; SHANKS, N. Chronic stress in caregivers of dementia is associated with reduced lymphocyte sensitivity to glucocorticoids. **Journal of Neuroimmunology**, v. 103, p. 84-92, 2000.

BAUER, E.M. Estresse: Como ele abala as defesas do corpo? **Ciência Hoje**, v. 30, p. 21-25, 2002.

BECKER, R.O. Electromagnetic Forces and Life Processes. **Technology Review (MIT)**, v.75. p.32-38, 1972.

BERTALANFFY, V.L. **Perspectivas de la teoria general de los sistemas**. Madrid, Alianza Editorial, 1986.

BIANCO A.C., SALVATORE D., GEREKEN B., BERRY M.J., LARSEN P.R. Biochemistry, cellular and molecular biology and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. **Endocrinology Review**. v. 23, p.38-89, 2002.

BIANCO, A.C. Triplets! Unexpected structural similarity among the three enzymes that catalyze initiation and termination of thyroid hormone effects. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. V.48, p.16-24, 2004.

BLANK, M.; SOO, L.; PAPSTEIN, V. Efeito dos campos magnéticos de baixa frequência na atividade do Na, K-ATPase. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 38, p. 267-273, 1995.

BLOCK, N.E.; KOMORI, K.; RPBINSON, K.A.; DUTTON S.L.; LAM, C.F.; BUSE, M. G. Diabetes-associated impairment of hepatic insulin receptor tyrosine kinase activity: a study of mechanisms. **Endocrinology**, v.128, p.132-322. 1991

BOGGS,K.P.; FARESE,R.V.; BUSE, M.G.Insulin administration in vivo increases 1,2 diacylglycerol in rat skeletal muscle. **Endocrinology**, v128, p.636-638.1991.

BORDIUSHKOV, I.N.; GOROSHINSKAYA, I.A.; FRANTSIYANTS, E.M.; TKACHEVA, G.N.; GORLO, E.I.; NESKUBINA, I.V. Structural-functional changes in lymphocyte and erythrocyte membranes after exposure to alternating magnetic field. **Voprosy Meditsinskoi Khimii**, v. 46, p. 72-80, 2000.

BRENT, R.L.; BECKMAN, D.A.; LANDEL, C.P. Clinical teratology. **Current Opinion in Pediatrics**, v. 5, p. 201-211, 1993.

BURROW, G.N.; FISHER, D.A.; LARSEN, P.R. Maternal end fetal thyroid function. **The New England Journal of Medicine**, v. 331, p.1072-8, 1994.

CAETANO, D.; CAETANO, S.C.; KRÄMER, M.H. Psiconeuroimunoendocrinologia. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 48, p. 307-314, 1999.

CALVO, R.; OBREGÓN, M.J.; RUIZ-DE-OÑA, C.; FERREIRO, B.; ESCOBAR DEL REY, F.; MORREALE DE ESCOBAR, G. Thyroid hormone economic in pregnant rats near term: A “physiological” animal model of nonthyroidal illness? **Endocrinology**. v. 127, p.10-16, 1990.

CARVALHO, D.P. Modulation of uterine iodothyronine deiodinases – A critical even for fetal development? **Endocrinology**, v. 144, p.4250-52, 2003.

CASTELLANO, C.; OLIVEIRO, A. Early malnutrition and postnatal changes in brain and behaviour in the mouse. **Brain Research**, v. 101, p. 317-325, 1976.

CASTRO, C.A.; TRACY, M.; RUDY, J.W. Early-life undernutrition impairs the development of learning and short-term memory processes mediating performance in a conditional spatial discrimination task. **Behavioral Brain Research**, v. 32, p. 255-264, 1989.

CAULFIELD, L.E.; ZAVALETA, N.; SHANKER, A.H.; MERIALDI, M. Potential contribution of maternal zinc supplementation during pregnancy to maternal and child survival. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 499S - 508S, 1998.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. **Bioquímica ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

CHAN, L.Y.; CHIU, P.Y.; LAU, T.K. Cord blood thyroid-stimulating hormone level in high-risk pregnancies. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 4461, p. 1-4, 2002.

CHERNOFF, N.; ROGERS, J.M.; KAVET, R. A review of the literature on potential reproductive and developmental toxicity of electric and magnetic fields. **Toxicology**, v. 74, p. 91-126, 1992.

CLOW, A.; HUCKLEBRIDGE, F. The impact of psychological stress on immune function in the athletic population. **Exercise Immunology Review**, v. 7, p. 5-17, 2001.

COLOMBO, J.P.; CERVANTES, H.; KOKOROVIC, M.; PFISTER, V.; PERRITAZ, R. Effects of different protein diets on the distribution of amino acids in plasma, liver and brain in the rat. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v.36, p.23-33, 1992.

COLOMBO, M.; LOPEZ, I.; De ANDRACA, I. Desnutrição grave precoce y desarrollo psicomotor. Effects de um programa de reabilitación. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition**, v. 43, p. 146-150, 1993.

COUTINHO, E.M. **Relações hospedeiro-parasita na esquistossomose mansônica, em função da dieta básica regional**. Recife, 1976. 109f. Tese (Livre-Docência), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1976.

CREASEY, W. A. Podem a potência e a frequência dos campos eletromagnéticos ser mutagênicas? **EMF Health Report**, v. 8, 2000.

CSABA, G.; NAGY, S.U. Influence of the neonatal suppression of TSH production (neonatal hyperthyroidism) on response to TSH in adulthood. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 8, p. 557-559, 1985.

DASTUR, D.K.; DEWAN, A.; MANGHANI, D.K.; UDANI, P.M. Quantitative histology of nerve in protein-calorie malnutrition and well-nourished children. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 23, p.405-422, 1977.

DE BOER, S.F.; KOOPMANS, S.J.; SLANGEN, J.L.; GUGTEN, V.J. Plasma catecholamine, corticosterone and glucose responses to repeated estresse in rats: effect of interstressor interval length. **Physiology & Behavior**, v. 47, p. 1117-1124, 1990.

DING, G.R.; WAKE, K.; TAKI, M.; MIYAKOSHI, J. Increase in hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase gene mutations by exposure to electric field. **Life Science**, v. 68, p.1041-1046, 2001.

DIXON, S.D.; LEVINE, R.A.; BRAZELTON, T.B. Malnutrition: a closer look at the problem in an east African village. **Developmental Medicine Child Neurology**, v. 2, p.670-685, 1982.

DOBBING, J. Vulnerable periods in developing brain. In: DAVISON, A.N.; DOBBING, J. **Applied Neurochemistry**. Oxford: Blackwell, 1968. p. 287-316.

DUNN, A.J. Psychoneuroimmunology for the psychoneuroimmunologist: A Review of Animal Studies of Nervous System-Immune System Interaction. **Psychoneuroimmunology**, v.14, p.251-274, 1989.

EKHERT, C.; BARNES, R.H.; LEVITSKY, D.A. the effect of protein-energy undernutrition induced during the period of suckling on cholinergic enzyme activity in the rat brain system. **Brain Research**, v. 101, p. 372-377, 1976.

ERREN, T. C. Epidemiologic studies of EMG and breast cancer risk: a biologically based overview. In: **The melatonin hypothesis: breast cancer and the use of electric power**. Columbus: Battelle Press, 1997.

FAWCETT, W.J.; HAXBY, E.J.; MALE, D.A. Magnesium: physiology and pharmacology. **British Journal of Anaesthesia**, v. 83, p. 302-320, 1999.

FERGUSON-SMITH, A.C.; SURANI, M.A. Imprinting and the epigenetic asymmetry between parental genomes. **Science**, v. 293, p. 1086-1089, 2001.

FERNANDEZ, V.; ADARO, L.A.; KAUFMANN, W.; BERLECE, E.; MUÑOZ, V. Geometry and territorial expansion of basilar dendrites. **Nutrition Reports International**, v. 39, p. 1015-1026, 1989.

FERNSTROM, J.D. Can nutrient supplements modify brain function? **American Journal of clinical Nutrition**, v. 71, p. 1669S-1735S, 2000.

FLEMING, I.; BAUM, A.; DAVIDSON, L.M. Chronic stress as a factor in psychologic reactivity to challenge. **Health Psychology**, v. 6, p. 221-237, 1987.

FRAZER, J.F.D.; HUGGETT, A.A.G. The partition of nutrients between mother and conceptus in the pregnant rat. **Journal of Physiology**, v. 207, p. 783-788, 1970.

FRIEDMAN, M.I. Some Determinants of Milk Ingestion in Suckling Rats. **Journal of Comparative Physiological Psychology**, v. 89, 1975.

FULLER, G.N.; WIGGINS, R.C. Differential growth recovery within the brains of postnatally undernourished rats. **Developmental Brain Research**, v. 15, p.280-284, 1984.

GALEF, B.G.; CLARK, M.M. Parent-offspring interactions determine time and place of first ingestion of solid food by wild rat pups. **Psychonomic Science**, v. 25, p. 1971; 15-16, 1971.

GARCIA, A.; MARTÍ, O.; VALLÈS, A.; DAL-ZOTTO, S.; ARMARIO, A. Recovery of the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress. Effect of stress intensity, stress duration and previous stress exposure. **Neuroendocrinology**, v. 72, p.114-125, 2000.

GARRIGA, J.; CUSSÓ, R. Effect of starvation on glycogen and glucose metabolism in different areas of the rat brain. **Brain Research**, v. 591, p. 277-282, 1992.

GOLDBERG, R. B. Breast Cancer Risk and EMF Exposure. **EMF Health Report**, v. 8, n. 1, 2000.

GOODMAN, E.M.; GREENEBAUM, B.; MARRON, M.T. Effects of electromagnetic fields on molecules and cells. **International Review of Cytology**, v. 158, p. 279-338, 1995.

GOTO, I.; NAGARA, H.; TATEISHI, J.; KUROIWA, Y. Thiamine-deficient encephalopathy in rats: effects of deficiencies of thiamine and magnesium. **Brain Research**, v.372, p.31-36, 1986.

GRAMSBERGEN, A. Posture and locomotion in the rat: independent or interdependent development? **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 22, p. 547-553, 1998.

GRANTHAN-McGREGOR, S.M.; POWELL, C.A.; WALKER, S.P.; HIMES, J.H. Nutritional supplementation, psychosocial stimulation, and mental development of stunted children: the Jamaican study. **The Lancet**, v. 338, p. 1-5, 1991.

GRANPENGIESSER, E.; GYLFE, E.; HELLMAN, B. Disappearance of glucose-induced oscillations of cytoplasmic Ca<sup>++</sup> in pancreatic-cells exposed to streptozotocin or alloxan. *Toxicology*, v.63, p.263-271.1990

GREENSPAN, F.S.; STREWLER, E.J. **Endocrinologia: Básica & Clínica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

GUEDES, R.C.A.; ANDRADE, A.F.D.; CABRAL-FILHO, J.E. Propagation of cortical spreading depression in malnourished rats: facilitatory effect of dietary protein deficiency. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 20, p. 639-642, 1987.

HARAKAWA, S.; TAKAHASHI, I.; DOGE, F.; MARTIN, D.E. Effect of a 50 Hz electric field on plasma ACTH, glucose, lactate, and pyruvate levels in stressed rats. **Bioelectromagnetics**, v. 25, p. 346-51, 2004.

HARDING, J. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. **International Journal of Epidemiology**, v. 30, p. 15-23, 2001.

HEATH, C.W. Jr. Electromagnetic field exposure and cancer: a review of epidemiological evidence. **Cancer Journal for Clinicians**, v. 46, p. 29-44, 1996.

HOLIAN, O.; ASTUMIAN, R.D.; LEE, R.C.; REYES, H.M.; ATTAR, B.M.; WALTER, R.J. Protein-Kinase-C activity is altered in HL60 cells exposed to 60 Hz AC electric fields. **Bioelectromagnetics**, v. 17, p.504-509, 1996.

INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION. Guidelines for Limiting Exposure to Time-Varying Electric, Magnetic and Electromagnetic fields (up to 300GHz). **Health Physics**, v. 74, p. 494-522, 1998.

JESSELL, T.M. Development of the Nervous System. In: Kandel, E.R.; Schwartz, J.H.; Jess ell, T.M. **Essentials of Neural Science and Behavior**, 1995

JOHN, J.; PATEL, M.S.; TELANG, S.D. Effects of maternal dietary protein content on cerebral ketone body-metabolizing enzymes in the progeny of rats. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 2; p.604-608, 1991.

JORGENSEN, H.; KNIGGE, U.; KJOER, A.; WARBERG, J. Interactions of Histaminergic and Serotonergic Neurons in the Hypotalamic regulation of Prolactin and ACTH Secretion. **Neuroendocrinology**, v. 64, p. 329-336, 1996.

JUNCO, M.; DIAZ-GUERRA, M.J.M.; BOSCA, L. Differential calcium mobilization by vasopressin angiotensin II, grasti-releasing peptide, and adenosine triphosphate, in adult and fetal hepatocytes. Relevances for the activation of calcium-dependent enzymes. **Endocrinology**, v.132, p.309-318.1993

JUUTILIANEM, J.; MATILAINEN, P.; SAARIKOSKI, S.; LAARA, E.; SUONIIIO, S. Early pregnancy loss and exposure to 50-Hz magnetic fields. **Bioelectromagnetics**, v. 14, p. 229-236, 1993.

KATO, M.; HOMNA, K.I.; SHIGEMITSU, T.; SHIGA, Y. Effects of exposure to a circularly polarized, 50 Hz magnetic fields on melatonin levels in rats. **Bioelectromagnetics**, v. 14, p. 97-106, 1991.

KELLER, S.E.; WEISS, J.M.; SCHLEIFER, S.J. Stress-induced suppression of immunity in adrenalectomized rats. **Science**, v. 221, p. 1301-4, 1983.

KEMPERS, M.J.E.; VAN TIJN, D.A.; VAN TROTSENBURG, A.P.S.; VIJLDER, J.J.M.; WIEDIJK, B.; VULSMA, T. Central congenital hypothyroidism due to gestacional hyperthyroidism: detection where prevention failed. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 88, p. 5851-5857, 2003.

KIECOLT, G.J.K.; GLASER, R. Psychoneuroimmunology and health consequences: data shared mechanisms. **Psychosomatic Medicine**, v. 57, p. 269-274, 1995.

KING, JC. Determination of maternal zinc status during pregnancy. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 71, p. 1334S - 1343S, 2000.

KJAR, A.; KIGGE, U.; PLOTSKY, P.M.; BACH, F.; WABERG, J. Histamine H1 and H2 receptor activation stimulates ACTH and  $\beta$ -endorphin secretion by increasing corticotropin-releasing hormone in the hypophyseal portal blood. **Neuroendocrinology**, v. 56, p. 851-855, 1992.

KOK, P.; KOK, S.W.; BUIJS, M.M., WESTENBERG, J.J.; ROELFSEMA, F.; FROLICH, M.; STOKKEL, M.P.; MEINDERS, A.E.; PIJL, H. Enhanced circadian ACTH release in obese premenopausal women: reversal by short-term acipimox treatment. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 287, p. 848-56, 2004.

KNIGGE, U.; MATZEN, S.; BACH, F.; BANG, P.; WARBERG, J. Involvement of histaminergic neurons in the stress-induced release of proopiomelanocortin-derived peptides in rats. **Acta Endocrinology**, v. 120, p. 533-539, 1989.

KUMAR, SP. Zinc deficiency in neonates. **Indian Journal of Pediatrics** v. 54, p. 465-466, 1987.

LAVADO-AUTRIC, R.; AUSÓ, E.; GARCIA-VELASCO, J.V.; ARUFE, M.C.; ESCOBAR DEL REY, F.; BEBEL, P.; MORREALE DE ESCOBAR, G. Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. **The journal of Clinical Investigation**, v. 111, p. 1073-1082, 2003.

LAFRENIERE, G.F.; PERSINGER, M.A. Thyroid morphology and activity does not respond to ELF electromagnetic field exposures. **Experientia**, v.35, p. 561-562, 1979.

LAI, H.; SINGH, N. P. Melatonin and a spin-trap compound blocked radiofrequency, radiation induced DNA strand breaks in rat brain cells. **Bioelectromagnetics**, v. 18, p. 446-454, 1997.

LARNER, J. Insulina e drogas hipoglicemiantes orais, glucagons, IN: GILMAN, A.; GOLDMAN, L.S.; RALL, T.W.; MURAD, F. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1987, p.1995.

LAYCOCK, J.F.; WISE, P.H. **Essencial endocrinology**. In the pancreas. 2. ed. Oxford. Medical Publication, 1983, p.266-306.

LERCHL, A.; NONAKA, K.O.; STOKKAN, K.A.; REITER, R.J. Marked rapid alterations in nocturnal pineal serotonin metabolism in mice and rats exposed to weak intermittent magnetic fields. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.169, p. 102-108, 1990 .

LEVITSKY, D.A.; BARNES, R.H. Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat: long-term effects. **Science**, v. 76, p. 68-71, 1972.

LEVITSKY, D.A.; STRUPP, B.J. Malnutrition and the brain: changing concepts, changing concerns. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 2212S-2220S, 1995.

LIMA, J.G. **Estudo morfológico e morfométrico do corpo caloso de ratos submetidos a diferentes tipos de dieta e à estimulação sensorial e ambiental**. **Ribeirão Preto**. 1992, 104f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1992.

LISI, A.; POZZI, D.; PASQUALI, E.; RIETI, S.; GIRASOLE, M.; CRICENTI, A.; GENEROSI, R.; SERAFINO, A.L.; CONGIU-CASTELLANO, A.; RAVAGNAN, G.;

GIULLIANI, L.; GRIMALDI, S. Three dimensional (3D) analysis of the morphological changes induced by 50 Hz magnetic field exposure on human lymphoblastoid cells (Raji). **Bioelectromagnetics**, v. 21, p. 46-51, 2000.

LOESCHER, W.; MEVISSSEN, M.; LECHMACHER, W.; STAMM, A. Tumor promotion in a breast cancer model by exposure to a weak alternating magnetic field. **Cancer Letters**, v.71, p.75-81, 1993.

LOOMIS, D. P.; SAVITZ, D.A.; ANANTH, C.V. Breast cancer mortality among female electrical workers in the United States. **Journal of National Cancer Institute**, v. 86, p. 885-886, 1994.

LOSCHINGER, M.; THUMM, S.; HAMMERLE, H.; RODEMANN, H.P. Stimulation of protein kinase A activity and induced terminal differentiation of human skin fibroblasts in culture by low frequency electromagnetic fields. **Toxicology Letters**, v. 96-97, p. 369-376, 1998.

LUCAS, A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. **Archives of Disease in Childhood**, v. 71, p. 288-290, 1994.

LUCAS, A. Programming by early nutrition: an experimental approach. **Journal of Nutrition**. v.128, p.401S-406S, 1998.

LUCENA, A.C.T.; ANSELMO, C.W.S.F.; OLIVEIRA, I.M.; FILHO, M.B.; CATANHO, M.T.J.A. Effects of 60 Hz Electric Magnetic Field on the Immune System in the Wistar Rats. In: Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop, 2002, Rhodes, Greece. **Anais Biological Effects of EMFs 2<sup>nd</sup> International Workshop**. Rhodes, Greece, v.II, p.837 - 845, 2002.

LUCENA, A. C. T. ; CATANHO, M. T. J. A. ; MOTTA, M. A. ; BERNARDO FILHO, M. ; MONTENEGRO, E. J. N. Alterações hormonais e glicêmicas em ratos Wistar decorrentes da exposição ao campo eletromagnético variável de 60 Hz. **Anais da Faculdade de Medicina do Centro de Ciências da Saúde da UFPE**, v. 49, p. 09-13, 2004.

McCANN, S.M. **Nitric Oxide**. In: Fink G. Encyclopedia of stress, v. 3. San Diego: Academic Press, 2000. p. 53-61.

McLACHLAN, J.A. Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals. **Endocrine Reviews**, v. 22, p. 319-341, 2001.

MARINO, A.A.; MORRIS, D.M. Chronic Electromagnetic Stressors in the Environment: A Risk Factor in Human Cancer. Shreveport, 1999. Disponível em <<http://www.ortho.lsume.edu/Faculty?Marino/Papers/Cite67>>. Acesso em: 2001.

MARINO, A.A. Environmental Electromagnetic Energy and public Health. Department of Orthopaedic Surgery, Louisiana State University School of Medicine in Shreveport. Shreveport, Louisiana. Disponível em:

<<http://www.ortho.lsuhsu.edu/Faculty/Marino/Papers/79MBch27.pdf>>. Acessado em: 09/03/2005.

MARTI, O.; ARMARIO, A. Influence of exposure to chronic estresse on the pattern of habituation of pituitary-adrenal hormones, prolactin and glucose. **Stress**, v. 1, p. 179-189, 1997.

MARTINEZ, H. Aspectos clínicos e tratamento da má nutrição energético-protéica. **Anais Nestlé**, v. 61, p. 11-18, 2001.

MARTORELL, R. Consequências de longo prazo da subnutrição no desenvolvimento físico e mental. **Anais Nestlé**, v. 61, p. 19-30, 2001.

MATOS, R.J.B.; MONTENEGRO, E.J.N.; BARROS, K.M.F.T.; CASTRO, C.M.M.B.; MANHÃES DE CASTRO, R. Campos eletromagnéticos não-ionizantes não alteram o desenvolvimento sensorio-motor em ratos. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 46, p. 132-136, 2001.

MELO, A.P.R. **Restrição nutricional em distintas fases do aleitamento materno e desenvolvimento cerebral da prole, avaliação no rato adulto**. 1994. 67 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Curso de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1994.

MIRANDA, C.C.C. **Estresse e Sistema Imunológico**. 2001. 37f. Monografia (Doutorado em Nutrição) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.

MONTEIRO, F.M.F.; LAHLOU, S.; ALBUQUERQUE, J.A.; CABRAL, A.M.S. Influence of a multideficient diet from northeastern Brazil on resting blood pressure and baroreflex sensitivity in conscious, freely moving rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 271-280, 2001.

MORGANE, P.J.; MILLER, M.; KEMPER, T.; STERN, W.; FORBES, W.; HALL, R.; BRONZINO, J.; KISSANE, J.; HAWRYLEWICZ, E.; RESNICK, O. The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.2, p. 137-230, 1978.

MORGANE, P.J.; AUSTIN-LAFRANCE, R.J.; BRONZINO, J.; TONKISS, J.; DIAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J.R. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.17, p. 91-128, 1993.

MOURA, E.G.; RAMOS, C.F.; NASCIMENTO, C.C.A.; ROSENTHAL, D., BREINTENBACH, M.M.D. Thyroid function in fasting rats: variations in <sup>131</sup>I uptake

and transient in peroxidase activity. **Brazilian Journal Medicine and Biology Research**, v. 20, p. 407-410, 1987.

MOURA, E.G.; PAZOS-MOURA, C.C. Regulação da síntese e secreção de tireotrofina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v. 48, p. 40-52, 2004.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE; NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Possible health effects of exposure to residential electric and magnetic fields**. Washington: National Academy Press, 1996.

NISHI, R. Neurotrophic factors: two are better than one. **Science**. v. 265, p. 1052-1053, 1994.

NISHIKAWA, U.; HIROTANI, H.; TANAKA, O. Study on postnatal development in mice exposed to electromagnetic fields (PEMFs) during their prenatal period. **Teratology**, v. 34, p. 442-443, 1986.

NORDBORG, C. The influence of protein-calorie malnutrition on the development of internodal segments. A study on peripheral nerve and spinal roots in rats. **Acta Neuropathologica**, v.41, p. 103-108, 1978.

NWUGA, V.C.B. Effect of severe kwashiorkor on intellectual development among Nigerian children. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 30, p. 1423-1430, 1977.

OGAWA, K.; HIRAI, M.; KATSUBE, T.; MURAYAMA, M.; HAMAGUCHI, K.; SHIMAKAWA, T.; NARITAKE, Y.; HOSOKAWA, K.T. Suppression of cellular immunity by surgical stress. **Surgery**, v.127, p.613, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição. **Termologia sobre alimentos e nutrição**: definição de alguns termos e expressões de uso corrente trad. Brasília, 1984.

ORTIGA-CARVALHO, T.M.; CURTY, F.H.; NASCIMENTO-SABA, C.C.; MOURA, E.G.; POLAK, J.; PAZOS-MOURA, C.C. Pituitary neuromedin B content in experimental fasting and diabetes mellitus: correlation with thyrotropin secretion. **Metabolism**, v. 46, p. 149-153, 1997.

OYA, H.; KAWAMURA, T.; SHIMIZU, T.; BANNAI, M.; KAWAMURA, H.; MINAGAWA, M.; WATANABE, H.; HTAKEYAMA, K.; ABO, T. The differential effect of stress on natural killer T (NKT) and NK cell function. **Clinical and Experimental Immunology**, v.121, p.384-390, 2000.

PASSOS, M.C.F.; RAMOS, C.F.; MOURA, E.G. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. **Nutrition Research**, v. 20, p. 1605-1614, 2000.

PASSOS, M.C.F.; RAMOS, C.F.; MOUÇO, T.; MOURA, E.G. Increase of T<sub>3</sub> secreted through the milk in protein restricted lacting rats. **Nutrition Research**, v. 21, p.917-24, 2001a.

PASSOS, M.C.F.; RAMOS, C.F.; DUTRA, S.C.P.; MOURA, E.G. Transfer of iodine through the milk in protein-restricted lacting rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12, p. 300-303, 2001b.

PASSOS, M.C.F.; RAMOS, C.F.; DUTRA, S.C.P.; MOUÇO, T.; MOURA, E.G. Long-term effects of malnutrition during lactation on the thyroid function of offspring. **Hormone Metabolic Research**, v. 34, p. 40-43, 2002a.

PASSOS, M.C.F.; RAMOS, C.F.; DUTRA, S.C.P.; MOUÇO, T.; BERNARDO-FILHO, M.; MOURA, E.G. Biodistribution of <sup>99</sup>TcMO<sub>4</sub>Na changes in adult rats whose mother were malnourished during lactation. **The journal of Nuclear Medicine**, v. 43, p. 89-91, 2002b.

PAZOS-MOURA, C.C.; ORTIGA-CARVALHO, T.M.; MOURA, E.G. The autocrine/paracrine regulation of thyrotropin secretion. **Thyroid**. v. 13, p. 167-175, 2003.

PESSOA, D.C.N.P. **Efeitos da desnutrição pela dieta básica regional (DBR), em três gerações de ratos, sobre a reprodução, crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos**. 1996. 112 f. Tese (Doutorado em Nutrição) – Curso de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1997.

PESSOA, D.C.N.P.; LAGO, E.S.; TEODÓSIO, N.R.; BION, F.M. Dietary proteins on reproductive performance in three consecutive generations of rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 50, p. 55-61, 2000.

PICANÇO-DINIZ, C.W.; ARAÚJO, M.S.; BORBA, J.M.C.; GUEDES, R.C.A. NADPH-diaforase containing neurons and biocytin-labelled axon terminal in the visual cortex of adult rats malnourished during development. **Nutritional Neuroscience**, v. 1, p. 35-48, 1998.

PORTEFIELD, S.P.; HENDRICH, C.E. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development – current perspectives. **Endocrinology Review**, v. 14, p. 94-106, 1993.

PRASAD, L.S.N.; GANGULY, S.; VASUKI, K. Role of zinc in fetal nutrition. **Indian Pediatrics**, v. 11, p. 799-802, 1974.

PRASAD, V.V.T.S. Maternal protein deficiency in rat: effects on central nervous system gangliosides and their catabolizing enzymes in the offspring. **Lipids**, v. 26, p. 553-556, 1991.

PRASAD, C. Food, mood and health: a neurobiologic outlook. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, p. 1517-1527, 1998.

PRIYALI, P.; UMESH, K.; KUMAR, K.S.; RENU, S.; ANAND, K.; NANDITA, G.; NAND, D.S.; RAJVIR, S.; PREETI, S. Prevalence of multiple micronutrient deficiencies amongst pregnant women in a rural area of Haryana. **The Indian Journal of Pediatrics**. v. 71, p. 1007-1014, 2004.

REPACHOLI, M.H.; GREENEBAUM, B. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. **Bioelectromagnetics**, v.20, p.133-160, 1999.

RAJKOVIC, V.; MATAVULJ, M.; GLEDIC, D.; LAZETIC, B. Evaluation of rat thyroid gland morphophysiological status after three months exposure to 50 Hz electromagnetic field. **Tissue & Cell**, v. 35, p. 223-231, 2003.

RESNICK, O.; MILLER, M.; FORBES, W.; HALL, R.; KEMPER, T.; BRONZINO, J.; MORGANE, J. Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 3, p.233-246, 1979.

RESNICK, O.; MORGANE, P.J.; HASSON, R.; MILLER, M. Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v.6, p. 55-75, 1982.

RESNICK, O.; MORGANE, P.J. Ontogeny of the levels of serotonin various parts of the brain in severely protein malnourished rats. **Brain Research**, v. 303, p.163-170, 1984.

REYNS, G.E.; VERHOELST, C.H.J.; KÜHN, E.R.; DARRAS, V.M.; VAN DER GEYTEN, S. Regulation of thyroid hormone availability in liver and brain by glucocorticoids. **General and Comparative Endocrinology**, v. 140, p. 101-108, 2005.

RIVAS, L.; RIUS, C.; TELLO, I.; OROZA, M.A. Effects of chronic exposure to weak electromagnetic fields in mice. **ICRS Med Sci**, v. 13, p. 661-662, 1985.

ROCHA-DE-MELO, A.P.; GUEDES, R.C.A. Spreading depression is facilitated in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** v. 30, p. 663-669, 1997.

ROOT, E.J.; KIRTEPATRICK, J.; RUTTER, M.A.; WIGAL, M.T.; LONGEHECKER, J.B. Dendritic and Behavioral changes following subclinical nutrient deficiencies in the cat. **Nutrition Reports International**, v. 37, p. 959-972, 1988.

RUIZ, S.; PEREZ, H.; HERNANDEZ, H.; SOTO-MOYANO, R. Effect of early malnutrition on latencies of direct cortical responses evoked in the rat prefrontal cortex. **Nutrition Reports International**, v. 32, p. 533-538, 1985.

SANTINI, F.; CORTELAZZI, D.; BAGGIANI, A.M.; MARCONI, A.M.; BECK-PECCOZ, P.; CHOPRA, I.J. A study of the serum 3,5,3'-Triiodothyronine sulphate

concentration in normal and hypothyroid fetuses at various gestational stages. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 76, p. 1583-1587, 1993.

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

SAVITZ, D.A.; OHYA, T.; LOOMIS, D.P.; SENIOR, R.S.; BRACKEN, T.D.; HOWARD, R.L. Correlations among indices of electric and magnetic field exposure in electric utility workers. **Bioelectromagnetics**, v. 15, p. 193-204, 1994.

SCRIMSHAW, N.S.; GORDON, J.E. (ed). **Malnutrition, learning and Behaviour**. M.I.T. Press, Cambridge/MA, 1968. 556P.

SCHRÖDER-VAN DER ELST, J.P.; VAN DER HEIDE, D.; MORREALE DE ESCOBAR, G.; OBREGÓN, M.J. Iodothyronine desiodinase activities in fetal rat tissues at several levels of iodine deficiency: a role for the skin in 3,5,3'-triiodothyronine economy? **Endocrinology**, v. 139, p. 2229-34, 1998.

SELMAOUI, B.; LAMBROZO, J.; TOUITOU, Y. Endocrine functions in young men exposed for one night to a 50 Hz magnetic field. A circadian study of pituitary, thyroid and adrenocortical hormones. **Life Science**, v. 61, p. 473-486, 1997.

SHAW, G.W.; CROEN, L.A. Human adverse reproductive outcomes and electromagnetic fields exposures: review of epidemiologic studies. **Environmental Health Perspectives**, v. 101, p. 107-119, 1993.

SMART, J.L.; DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Research**, v. 28, p.85-95, 1971.

SELYE, H.A. **Stress in Health and Disease**. Boston: Butterworths, 1976.

SIENKWICZ, A.J.; ROBBINS, L.; HAYLOCK, R.G.E.; SAUNDERS, R.D. Effects of Prenatal Exposure to 50 Hz Magnetic Fields on Development in Mice: II Postnatal Development and Behavior. **Bioelectromagnetics**, v. 15, 363-375, 1994.

SILVA, M.E.; MATTHEWS, P. Thyroid hormone metabolism and the source of plasma triiodothyronine in 2-week-old rats: Effects of thyroid status. **Endocrinology**, v. 114, p. 2394-2404, 1984.

SIMON, N.J. Biological effects of static magnetic fields: a review. **International Cryogenic Materials Commission**, Boulder, Colorado, p.284, 1992.

SOBEL, E.; DAVANIPOUR. Electromagnetic field exposure may cause increased production of amyloid beta and eventually lead to Alzheimer's disease (hypothesis). **Neurology**, v. 47, p. 1594-1600, 1996.

SOKOLOVA, I.P. The state of reproductive function in female mice exposed to a 50 Hz magnetic field. Abstracts of Reports, Mechanisms of Biological Action Electromagnetic Fields. Pushchino, USSR, October, 1987. Cited from Biological Effects of Nonionizing Electromagnetic Radiation. v. 12, p. 92, 1988.

SONG, C.; KENIS, G.; GASTEL, V.A.; BOSMANS, E.; LIN, A.; DE JONG, R.; NEELS, H.; SCHARPE, S.; JANCA, A.; YASUKAWA, K.; MAES, M. Influence of psychological stress on immune-inflammatory variables in normal humans. Part. II. Altered serum concentrations of natural anti-inflammatory agents and soluble membrane antigens of monocytes and T lymphocytes. **Psychiatry Reseearch**, v.85, p.293-303, 1999.

SOTO-MOYANO, R.; HERNANDEZ, A.; PEREZ, H.; RUIZ, S. Early malnutrition and changes in the induced release of noradrenaline in the prefrontal cortex of adult rats. *Internat. Journal of Neuroscience*, v. 37, p.93-102, 1987.

STEVENS, R.G. Electric power use and breast cancer: a hypothesis. **American Journal of Epidemiology**, v.125, p. 556-561, 1987.

STENVENS, R.G.; DAVIS, S. The melatonin hypotheses: electric power and breast cancer Environment. **Health Perspectives**, v. 104, p. 135-140, 1996.

STOCH, M.B.; SMYTHE, P.M.; MOODIE, A.D.; BRADSHAW, D. Psychosocial outcome and CT findings after gross undernourishment during infancy: a 20-year developmental study. **Developmental Medicine and Child Neurology**, v. 24, p. 419-436, 1982.

TENFORDE, T.S.; KAUNE, W.T. Interaction of extremely low frequency electric and magnetic fields with humans. **Health Physics**, v. 53, p. 585-606, 1987.

TENFORDE, T.S. **Interaction of ELF magnetic fields with living system**. In: Polk, C.; Postow, E., eds. Biological effects of electromagnetic fields. Boca Raton, FL: CRC Press; 1996: 185-230

TEODÓSIO, N.R.; VARELA, R.M.; BION, F.M.; SIQUEIRA CAMPOS, F.A.C.; LIRA, R.A.B.; FLORES, H. Protein deficiency and calorie deficiency in etiology of early malnutrition in rats. In: International Congress of Nutrition, XII, San Diego, **Proceedings**, Abstract n. 1013, 1981.

TEODÓSIO, N.R.; FLORES, H.; MAYER, H.; MARTINS, F.; CAMPOS F.; RAMALHO, R.A. Efecto diferencial de las desnutricion sobre el sistema nervioso central. In: Seminário Internacional "Desnutricion y funciones cerebrales superiores". **Resúmenes de Conferências y Comunicaciones Libres**. Santiago, Universidade de las Naciones Unidas, 1983. p.105.

TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E.S.; ROMANI, S.A.M.; GUEDES, R.C.A. A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 40, p. 533-547, 1990.

- TONINI, R.; BARONI, M.D.; MASALA, E.; MICHELETTI, M.; FERRONI, A.; MAZZANTI, M. Calcium Protects Differentiating Neuroblastoma Cells during 50 Hz Electromagnetic Radiation. **Biophysical Journal**, v. 81, p. 2580-2589, 2001.
- TRAUSTADOTTIR, T.; BOSCH, P.R.; MATT, K.S. The HPA axis response to stress in women: effects of aging and fitness. **Psychoneuroendocrinology**, v. 30, p. 392-402, 2005.
- VAHL, T.P.; ULRICH-LAI, Y.M., OSTRANDER, M.M.; DOLGAS, C.M.; ELFERS, E.E.; SEELEY, R.J.; D'ALESSIO, D.A.; HERMAN, J.P. Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 14, 2005.
- VAN DEN HOVE, M.F.; BECKERS, C.; DEVLIEGER, H.; ZEGHER, F.; DE NAYER, P. Hormone synthesis and storage in the thyroid of human preterm and newborns: effect of thyroxine treatment. **Biochimie**, v. 81, p. 563-70, 1999.
- VARA, H.; MARTINEZ, B.; SANTOS, A.; COLINO, A. Thyroid hormone regulates neurotransmitter release in neonatal rat hippocampus. **Neuroscience**, v. 110, p. 19-28, 2002.
- VICENNATI, V.; CERONI, L.; GAGLIARDI, L.; PAGOTTO, U.; GAMBINERY, A.; GENGHINI, S.; PASQUALI, R. **Journal of Endocrinological Investigation**, v. 27, p. 541-7, 2004.
- VILLAR, A.J.; EDDY, E.M.; PEDERSEN, R.A. Developmental regulation of genomic imprinting during gametogenesis. **Developmental Biology**, v. 172, p. 264-271, 1995.
- WALTON, K.D.; LIEBERMAN, D; LLINÁS, A.; BEGIN, M.; LLINÁS, R.R. Identification of a critical period for motor development in neonatal rats. **Neuroscience**, v. 51, p. 763-767, 1992.
- WATERLAND, R.A.; GARZA, C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69, p. 179-197, 1999.
- WELKER, H.A.; SEMM, P.; WILLING, R.P.; COMMENTZ, J.C.; WILTSCHKO, W.; VOLLRATH, L. Effects of an artificial magnetic field on serotonin N-acetyl transferase activity and melatonin content of the rat pineal gland. **Experimental Brain Research** v.50, p.426-432, 1983.
- WIDMER, I.E.; PUDER, J.J.; KONING, C.; PARGGER, H.; ZERKOWSKI, H.R.; GIRARD, J.; MULLER, B. Cortisol response in relation to the severity of stress and illness – The “CORESSI”- Study. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 10, 2005.
- WIGGINS, R.C.; FULLER, G.; ENNA, S.J. Undernutrition and development of brain neurotransmitter systems. **Life Sciences**, v. 35, p. 2085-2094, 1984.

WILKIN, T.J. The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between Type I and Type II diabetes. **Diabetologia**, v.44, p.914-922, 2001.

WILSON, B.W.; ANDERSON, L.E.; HILTON, D.I.; PHILLIPS, R.D. Chronic exposure to 60-Hz electric fields: Effects on pineal function in the rat. **Bioelectromagnetics**, v.2, p.371-380, 1981.

WILSON, B.W.; MATT, K.S.; MORRIS, J.E.; SASSER, L.B.; MILLER, D.L.; LARRY, E.A. Effects of 60 Hz Magnetic Field Exposure on the Pineal and Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in the Siberian Hamster (*Phodopus Sungorus*). **Bioelectromagnetics**, v. 20, p.224-232, 1999.

WOLF, C.; ALMLI, C.R.; FINGER, S.; RYAN, S.; MORGANE, P.J. Biobehavioral effects of severe and moderate early malnutrition. **Physiology & Behavior**, v. 38, p. 725-730, 1986.

WYNN, A.; WYNN, M. Magnesium and other nutrient deficiencies as possible causes of hypertension and low birth weight. **Nutrition and Health**. v. 6, p. 69-88, 1988.

XIE, X.; SMART, T.G. A physiological role for endogenous zinc in rat hippocampal synaptic neurotransmission. **Reprinted from Nature**, v. 349, p. 521-524, 1991.

YASODHARA P, RAMARAJU LA, RAMAN L: Trace minerals in pregnancy 1. Copper and Zinc. **Nutrition Research**, v. 11, p. 15-21, 1996.

YELLON, S. M. Acute 60 Hz magnetic field exposure effects on the melatonin rhythm in the pineal gland and circulation of the adult Djungarian hamster. **Journal of Pineal Research**, v.16, p.136-144, 1994.

ZAMENHOF, S. Depletion of individuals with “outstandingly high” cerebral development in rats subjected to prenatal undernutrition. **Nutrition Research**, v. 11, p. 687-690, 1991.

ZUSMAN, I.; YAFFE, P.; PINUS, H.; ORNOY, A. Effects of pulsing electromagnetic fields on the prenatal and postnatal development in mice and rats: in vivo and in vitro studies. **Teratology**, v. 42, p. 157-170, 1990.

ANEXO I



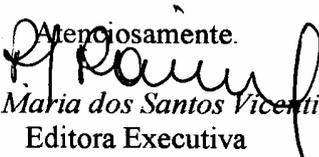
Rio de Janeiro, 18 de abril de 2004.

À

Caroline Wanderley S. F. Anselmo, Francisca Martins Bion, Maria Teresa J. A. Catanho,  
Maria do Carmo Medeiros

Prezadas Colaboradoras

Informamos que o seu artigo “possíveis efeitos adversos dos Campos Eletromagnéticos(50/60HZ) em humanos e em animais: uma revisão da literatura” foi aprovado para publicação, após reapresentação acatando as sugestões dos pareceristas.

Atenciosamente.  
  
*Lilia Maria dos Santos Vicentin*  
Editora Executiva

## ANEXO II

### 1. MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS

#### 1.1. DIETAS

Os ingredientes da dieta multideficiência usada neste experimento foram: feijão (*Phaseolus vulgaris*), farinha de mandioca (*Manihot esculenta*), carne seca e batata doce (*Ipomoea batatas*) (TEODÓSIO *et al.*, 1981). A dieta era preparada em nosso laboratório como indicado: todos os ingredientes, exceto a farinha de mandioca, eram cozinhados, desidratados por 24-60 h (de acordo com o tipo de ingrediente) a 60°C. Cada componente foi misturado com a farinha de mandioca com um pouco de água para umidificar. Depois a gordura da carne foi adicionada e a mistura era cortada em quadrados, sendo em seguida desidratados por 24 h 60°C. A composição centesimal da DBR, foi determinada pelo Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, Tabela 1. A quantidade de calorias da DBR foi calculada para ser aproximadamente 316 Kcal por 100g. A dieta controle utilizada foi uma dieta balanceada de acordo com as recomendações necessárias para ratas prenhas (AIN – 93), com proteína a 18% (caseína), tabela 2. A dieta oferecida as ratas durante o período de acasalamento e aleitamento foi uma dieta comercial padrão (Purina do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

Tabela 1: Composição centesimal da Dieta Básica regional (DBR).

<i>Ingredientes</i>	<i>g%</i>	<i>Proteína</i>	<i>Carboidrato</i>	<i>Gordur</i>	<i>Fibra</i>	<i>Kcal</i>
	( g )	(%)	(%)	(%)	(%)	
Feijão	18,34	3,99	10,66	0,24	1,09	60,76
Farinha de mandioca	64,81	0,84	48,59	0,12	5,64	198,80
Carne seca	3,74	2,74	-	0,21	-	12,85
Gordura da carne seca	0,35	-	-	0,35	-	3,15
Batata doce	12,76	0,30	9,99	0,03	0,48	41,43
TOTAL	100,00	7,87	69,24	0,95	7,21	316,99

Tabela 2: Composição centesimal da dieta controle (Caseína).

<i>Ingredientes</i>	<i>g %</i>	<i>Proteína</i>	<i>Carboidrato</i>	<i>Gordur</i>	<i>Caloria</i>
Caseína comercial*	19,6	18,00	-	-	72,00
Gordura vegetal	7,00	-	-	7,00	63,00
Biscomil	63,35	0,18	53,37	-	214,20
Sais	3,50	-	-	-	-
Vitaminas	1,00	-	-	-	-
Fibras	5,00	-	-	-	-
L-Cistina	0,30	-	-	-	-
Bitartarato de colina	0,25	-	-	-	-
TOTAL	100,00	18,18	53,37	7,00	349,20

\*92% de proteína.

## 1.2. PROTOCOLO NUTRICIONAL

Durante o período de acasalamento, todas as fêmeas foram alimentadas por uma dieta padrão fornecida pela Purina. Durante este período, o exame do lavado vaginal era feito diariamente até que a prenhez fosse diagnosticada. Após a confirmação da

prenhez, as ratas eram imediatamente transferidas para gaiolas, duas ratas por gaiola e então eram divididas em quatro grupos distintos. Dois grupos (A e B) eram alimentados pela caseína e os outros dois (C e D) eram alimentados pela DBR.

### 1.3. EXPOSIÇÃO AO CEM

As ratas foram mantidas num ambiente tranqüilo, com um *background* de  $0.28\mu\text{T}$ , e em gaiolas padronizadas, 2 ratas por gaiola, com dimensões de 60 cm de comprimento, 50 cm de largura e 22 cm de altura, colocadas sobre suportes confeccionados em polipropileno (ISOPOR) com dimensões de 35cm de largura, 50cm de comprimento e 35cm de altura (LUCENA *et al*, 2002), figura 1. Foram utilizados como fontes de radiação, transformadores de 220/110 Volts de 500 VA, trabalhando com secundário aberto, controlados por um *timer* eletrônico, TECTRAFO – BRASIL, figura 2. Os transformadores, colocados sob os suportes de polipropileno, foram previamente examinados e testados no Departamento de Engenharia Biomédica do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da Universidade Federal de Pernambuco, para a comprovação de seus parâmetros de funcionamento, sendo observado um sinal limpo com a fundamental de 60 Hz e apenas uma harmônica de 120 Hz, figura 3.

Os grupos B e D, foram expostos ao CEM de 60 Hz, , senoidal, de  $3\mu\text{T}$ , mensurado através de um Gaussímetro TRIEFIELD<sup>®</sup> BROADBAND METER-EUA, figura 4, na escala de 0-10  $\mu\text{T}$ , durante duas horas por dia, sendo uma de 8:00h às 9:00h da manhã e a outra durante a tarde, de 14:00h às 15:00h, por vinte e um dias consecutivos. A intensidade do CEM no interior da gaiola se mantia constante independente da posição do medidor, figura 5. As ratas eram expostas ao CEM a partir do momento em que a prenhez era detectada e retiradas quando os filhotes nasciam.

Deve ser dito que as gaiolas só eram manipuladas três vezes por semana para a limpeza das mesmas, mas todas as gaiolas recebiam o mesmo tipo de cuidado.



Figura 1 – Demonstração do suporte utilizado para a colocação das gaiolas, com o transformador embaixo e com o Gaussímetro registrando a intensidade adequada para a exposição dos ratos.



Figura 2 – Demonstração do *timer* eletrônico utilizado.

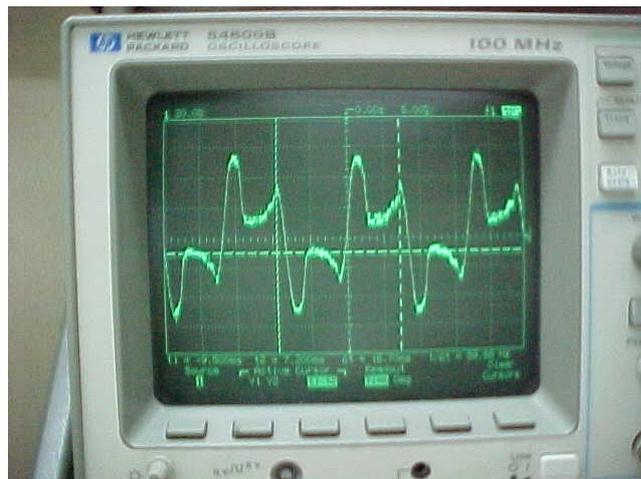


Figura 3 - Demonstração do sinal do transformador no osciloscópio digital, mostrando um sinal limpo, com a fundamental de 60 Hz e apenas uma harmônica de 120 Hz.



Figura 4 - Gaussímetro registrando 30 mG ( $3\mu\text{T}$ ), sobre o suporte onde a gaiola foi colocada.



Figura 5 – Demonstração do gaussímetro marcando  $3\mu\text{T}$  na região central da gaiola.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS PARA ESTUDO DA REGULAÇÃO HORMONAL E METABÓLICA EM RATAS PRENHAS.**

### **2.1. ANIMAIS**

Vinte ratas fêmeas, *Wistar* foram utilizadas neste experimento, elas tinham noventa dias de idade quando foram colocadas para acasalar. Após detectada a prenhez, através de um lavado vaginal, elas eram divididas em quatro grupos e cada grupo recebia um tratamento específico. Elas eram mantidas sob condições de temperatura constante ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ), ciclo claro/escuro (12-h/12-h) com um intensidade ambiente de CEM  $0,28 \mu\text{T}$ . Os animais tinham acesso a água e comida *ad libitum*.

### **2.2. FORMAÇÃO DOS GRUPOS**

As ratas prenhas foram divididas em quatro grupos: Grupo A (n=6), composto por ratas não submetidas ao CEM e alimentadas pela caseína; Grupo B (n=4), composto

por ratas submetidas ao CEM e alimentadas pela caseína; Grupo C (n=6), composto por ratas não submetidas ao CEM e alimentadas pela DBR; Grupo D (n=4), composto por ratas submetidas ao CEM e alimentadas pela DBR, Figura 6.

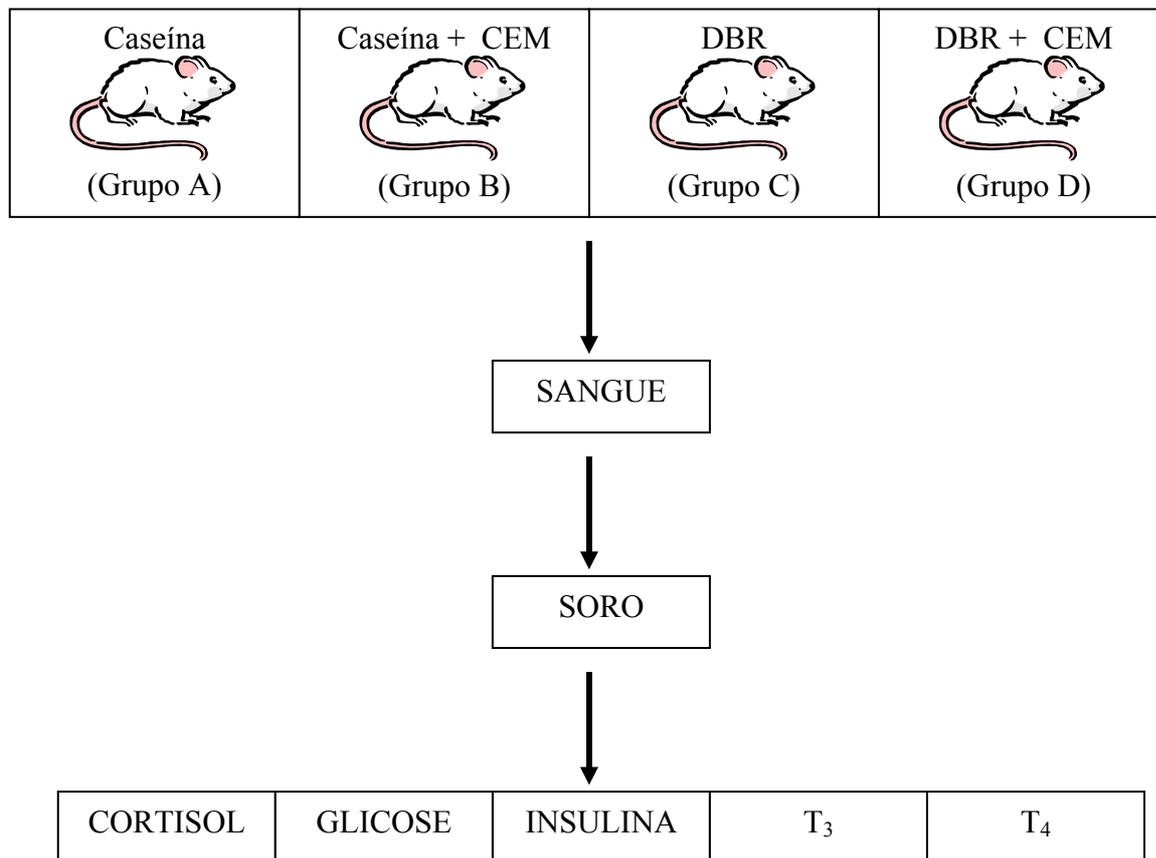


Figura 6 - Esquema métodos

## 2.2.PUNÇÃO CARDÍACA

No último dia do experimento, no 21º dia, quando os filhotes nasciam, as ratas eram anestesiadas com éter etílico. Depois de anestesiadas, eram submetidas a uma punção cardíaca para a retirada do sangue, figura 7, isto sempre acontecia no mesmo horário durante a tarde, de 12:30 as 14:00h, devido a ação do ritmo circadiano (GREENSPAN; STREWLER, 2000). O soro conseguido depois da centrifugação era

guardado a  $-5^{\circ}$  C para futura dosagem da concentração sérica do cortisol, insulina, glicose, triiodotironina ( $T_3$ ) e tiroxina ( $T_4$ ).



Figura 7 – Punção cardíaca.

## 2.3. DOSAGEM METABÓLICA E HORMONAL

### 2.3.1. Dosagem Sérica de Cortisol

#### 2.3.1.1. Bases do método

A determinação dos níveis séricos de cortisol, foi feita utilizando-se o método de radioimunoensaio (GARCIA *et al*, 2000) a partir da utilização de *Kit Coat-A-Count*<sup>®</sup> Cortisol, DPC (EUA). A atividade específica do Kit foi de 204 Kilobecquerels (kBq).

O radioimunoensaio (RIE) é um método competitivo de fase sólida, que se baseia na reação imunológica de ligação antígeno-anticorpo, onde o hormônio não marcado a ser dosado e o padrão compete com o traçador ( $^{125}\text{I}$ -Cortisol) para um

número limitado de sítios de ligação do anticorpo fixados covalentemente na parede interna de tubos de polipropileno. Na fase final do método, os antígenos livres foram decantados, permanecendo no tubo apenas os ligados aos anticorpos citados. A contagem do número de pulsos por minuto no tubo de polipropileno, ou seja, a emissão de radiação gama do  $^{125}\text{I}$ -Cortisol, foi realizada em contador de cintilação gama, DPC gambyt CR, do Departamento de Biofísica da UFPE.

Nesta reação de competição, quanto maior a concentração de hormônio livre da amostra, menor a ligação do  $^{125}\text{I}$ -Cortisol ao anticorpo específico com conseqüente redução na formação do complexo radioativo. Com base nesta proporção inversa, foi calculado o  $^{125}\text{I}$ -Cortisol-anticorpo e assim, dosado o hormônio não marcado através da construção de uma curva-padrão, empregando-se quantidades crescentes do hormônio padrão de cortisol.

### 2.3.1.2. Procedimento metodológico

Todas as dosagens foram feitas em duplicatas. Primeiramente, foram colocados com pipeta automática, 25 $\mu\text{l}$  das soluções padrão e 25 $\mu\text{l}$  de soro a ser dosado, nos tubos previamente identificados. Após esta etapa, foi colocado 1ml do  $^{125}\text{I}$ -Cortisol em cada tubo os quais foram agitados por aproximadamente 5 segundos. Em seguida os soros foram colocados em banho-maria a 37°C por 45 minutos. Após o tempo determinado, o líquido dos tubos foi desprezado e a contagem foi feita.

### 2.3.2. Dosagem Sérica de Insulina

#### 2.3.2.1. Bases do método

A determinação dos níveis séricos de insulina, foi feita utilizando-se o método de radioimunoensaio a partir da utilização de *Kit Coat-A-Count*<sup>®</sup> Insulin, DPC (EUA). A atividade específica do Kit foi de 111 Kilobecquerels (kBq).

O radioimunoensaio (RIE) é um método competitivo de fase sólida, que se baseia na reação imunológica de ligação antígeno-anticorpo, onde o hormônio não marcado a ser dosado e o padrão compete com o traçador (<sup>125</sup>I-Insulin) para um número limitado de sítios de ligação do anticorpo fixados covalentemente na parede interna de tubos de polipropileno. Na fase final do método, os antígenos livres foram decantados, permanecendo no tubo apenas os ligados aos anticorpos citados. A contagem do número de pulsos por minuto no tubo de polipropileno, ou seja, a emissão de radiação gama do <sup>125</sup>I-Cortisol, foi realizada em contador de cintilação gama, DPC gambyt CR, do Departamento de Biofísica da UFPE.

Nesta reação de competição, quanto maior a concentração de hormônio livre da amostra, menor a ligação do <sup>125</sup>I-Insulin ao anticorpo específico com conseqüente redução na formação do complexo radioativo. Com base nesta proporção inversa, foi calculado o <sup>125</sup>I-Insulin-anticorpo e assim, dosado o hormônio não marcado através da construção de uma curva-padrão, empregando-se quantidades crescentes do hormônio padrão de cortisol.

#### 2.3.2.2. Procedimento metodológico

Todas as dosagens foram feitas em duplicatas. Primeiramente, foram colocados com pipeta automática, 200µl das soluções padrão e 200µl de soro a ser dosado, nos tubos previamente identificados. Após esta etapa, foi colocado 1ml do <sup>125</sup>I-Insulin em

cada tubo os quais foram agitados por aproximadamente 5 segundos. Em seguida os tubos foram incubados por três horas a temperatura ambiente. Após o tempo determinado, o líquido dos tubos foi desprezado e a contagem foi feita.

### 2.3.3. Dosagem Sérica de T<sub>3</sub>

#### 2.3.3.1. Bases do método

A determinação dos níveis séricos de T<sub>3</sub>, foi feita utilizando-se o método de radioimunoensaio a partir da utilização de *Kit Coat-A-Count*<sup>®</sup> T<sub>3</sub>, DPC (EUA). A atividade específica do Kit foi de 130 Kilobecquerels (kBq).

O radioimunoensaio (RIE) é um método competitivo de fase sólida, que se baseia na reação imunológica de ligação antígeno-anticorpo, onde o hormônio não marcado a ser dosado e o padrão compete com o traçador (<sup>125</sup>I- T<sub>3</sub>) para um número limitado de sítios de ligação do anticorpo fixados covalentemente na parede interna de tubos de polipropileno. Na fase final do método, os antígenos livres foram decantados, permanecendo no tubo apenas os ligados aos anticorpos citados. A contagem do número de pulsos por minuto no tubo de polipropileno, ou seja, a emissão de radiação gama do <sup>125</sup>I- T<sub>3</sub>, foi realizada em contador de cintilação gama, DPC gambyt CR, do Departamento de Biofísica da UFPE.

Nesta reação de competição, quanto maior a concentração de hormônio livre da amostra, menor a ligação do <sup>125</sup>I- T<sub>3</sub> ao anticorpo específico com conseqüente redução na formação do complexo radioativo. Com base nesta proporção inversa, foi calculado o <sup>125</sup>I- T<sub>3</sub>-anticorpo e assim, dosado o hormônio não marcado através da construção de

uma curva-padrão, empregando-se quantidades crescentes do hormônio padrão de cortisol.

#### 2.3.3.2. Procedimento metodológico

Todas as dosagens foram feitas em duplicatas. Primeiramente, foram colocados com pipeta automática, 100µl das soluções padrão e 100µl de soro a ser dosado, nos tubos previamente identificados. Após esta etapa, foi colocado 1ml do  $^{125}\text{I}-\text{T}_3$  em cada tubo os quais foram agitados por aproximadamente 5 segundos. Em seguida os soros foram colocados em banho-maria a 37°C por 2 horas. Após o tempo determinado, o líquido dos tubos foi desprezado e a contagem foi feita.

#### 2.3.4. Dosagem Sérica de $\text{T}_4$

##### 2.3.4.1. Bases do método

A determinação dos níveis séricos de  $\text{T}_4$ , foi feita utilizando-se o método de radioimunoensaio a partir da utilização de *Kit Coat-A-Count*<sup>®</sup>  $\text{T}_4$ , DPC (EUA). A atividade específica do Kit foi de 185 Kilobecquerels (kBq).

O radioimunoensaio (RIE) é um método competitivo de fase sólida, que se baseia na reação imunológica de ligação antígeno-anticorpo, onde o hormônio não marcado a ser dosado e o padrão compete com o traçador ( $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ ) para um número limitado de sítios de ligação do anticorpo fixados covalentemente na parede interna de tubos de polipropileno. Na fase final do método, os antígenos livres foram decantados, permanecendo no tubo apenas os ligados aos anticorpos citados. A contagem do número

de pulsos por minuto no tubo de polipropileno, ou seja, a emissão de radiação gama do  $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ , foi realizada em contador de cintilação gama, DPC gambyt CR, do Departamento de Biofísica da UFPE.

Nesta reação de competição, quanto maior a concentração de hormônio livre da amostra, menor a ligação do  $^{125}\text{I}-\text{T}_4$  ao anticorpo específico com conseqüente redução na formação do complexo radioativo. Com base nesta proporção inversa, foi calculado o  $^{125}\text{I}-\text{T}_4$ -anticorpo e assim, dosado o hormônio não marcado através da construção de uma curva-padrão, empregando-se quantidades crescentes do hormônio padrão de cortisol.

#### 2.3.4.2. Procedimento metodológico

Todas as dosagens foram feitas em duplicatas. Primeiramente, foram colocados com pipeta automática, 25 $\mu\text{l}$  das soluções padrão e 25 $\mu\text{l}$  de soro a ser dosado, nos tubos previamente identificados. Após esta etapa, foi colocado 1ml do  $^{125}\text{I}-\text{T}_4$  em cada tubo os quais foram agitados por aproximadamente 5 segundos. Em seguida os soros foram colocados em banho-maria a 37°C por 60 minutos. Após o tempo determinado, o líquido dos tubos foi desprezado e a contagem foi feita.

#### 2.3.5. Análise Quantitativa da Glicose Sérica

##### 2.3.5.1. Bases do método

A glicose foi dosada através da utilização do Kit Glicose PAP - LABTEST DIAGNÓSTICA - BRASIL. O Kit tem como princípio a oxidação da glicose pela glicose oxidase (GOD), segundo a reação abaixo:

GOD



O peróxido de hidrogênio formado reage com 4-Aminoantipirina e fenol sob ação catalisadora da peroxidase (POD), através de uma reação oxidativa de acoplamento que forma uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade de cor é proporcional à concentração da glicose na amostra.

POD



#### 2.3.5.2. Procedimento metodológico

Primeiramente foram preparados dois tubos, o branco e o padrão. No tubo branco foi colocado apenas 1,0 ml do reagente e no padrão foram colocados 10µl da substância padrão e 1,0 ml do reagente. Depois desta etapa foram preparados os tubos para dosar o nível de glicose dos soros dos ratos, onde foram colocados 10µl de soro e 1,0 ml do reagente, após esta etapa foi misturada vigorosamente a solução e colocada em banho-maria a 37° C, por 15 minutos, depois foi efetuada a leitura das amostras no Espectrofotômetro, Varian, UV-VIS, 634-S usando o comprimento de onda de 520nm.

## 2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados através da média e do desvio padrão. A significância dos resultados foi avaliada através do teste ANOVA e Tukey para a comparação entre os grupos, considerando o nível de significância  $p < 0.05$ .

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS DA AVALIAÇÃO DA MATURAÇÃO REFLEXA E SOMÁTICA DA PROLE

### 3.1. ANIMAIS

Sessenta e seis filhotes machos, *Wistar* foram utilizadas neste experimento, eles foram provenientes das ratas prenhas que foram divididas em quatro grupos: Grupo A, formado por ratas prenhas submetidas a caseína, Grupo B, composto por ratas prenhas submetidas a caseína e ao CEM, Grupo C, formado por ratas prenhas submetidas a DBR e o Grupo D, composto por ratas prenhas submetidas a DBR e ao CEM, figura 8. As ratas tinham noventa dias de idade quando foram colocadas para acasalar. Após detectada a prenhez, através de um lavado vaginal, elas eram divididas em quatro grupos, já citados anteriormente, e cada grupo recebia um tratamento específico. Elas eram mantidas sob condições de temperatura constante ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ), ciclo claro/escuro (12-h/12-h) com um intensidade ambiente de CEM menor que  $0,3 \mu\text{T}$ . Os animais tinham acesso a água e comida *ad libitum*.

### 3.2. FORMAÇÃO DOS GRUPOS

Quando as ratas tinham a prole, os mesmos eram misturados com os outros que nasciam no mesmo dia, provenientes de mães sob as mesmas condições experimentais e aleatoriamente as novas ninhadas eram constituídas, para evitar que o fator genético

alterasse os resultados do experimento. A ninhada de cada rata era reduzida para seis animais, no segundo dia pós-natal e só eram utilizados ratos machos, figura 8.

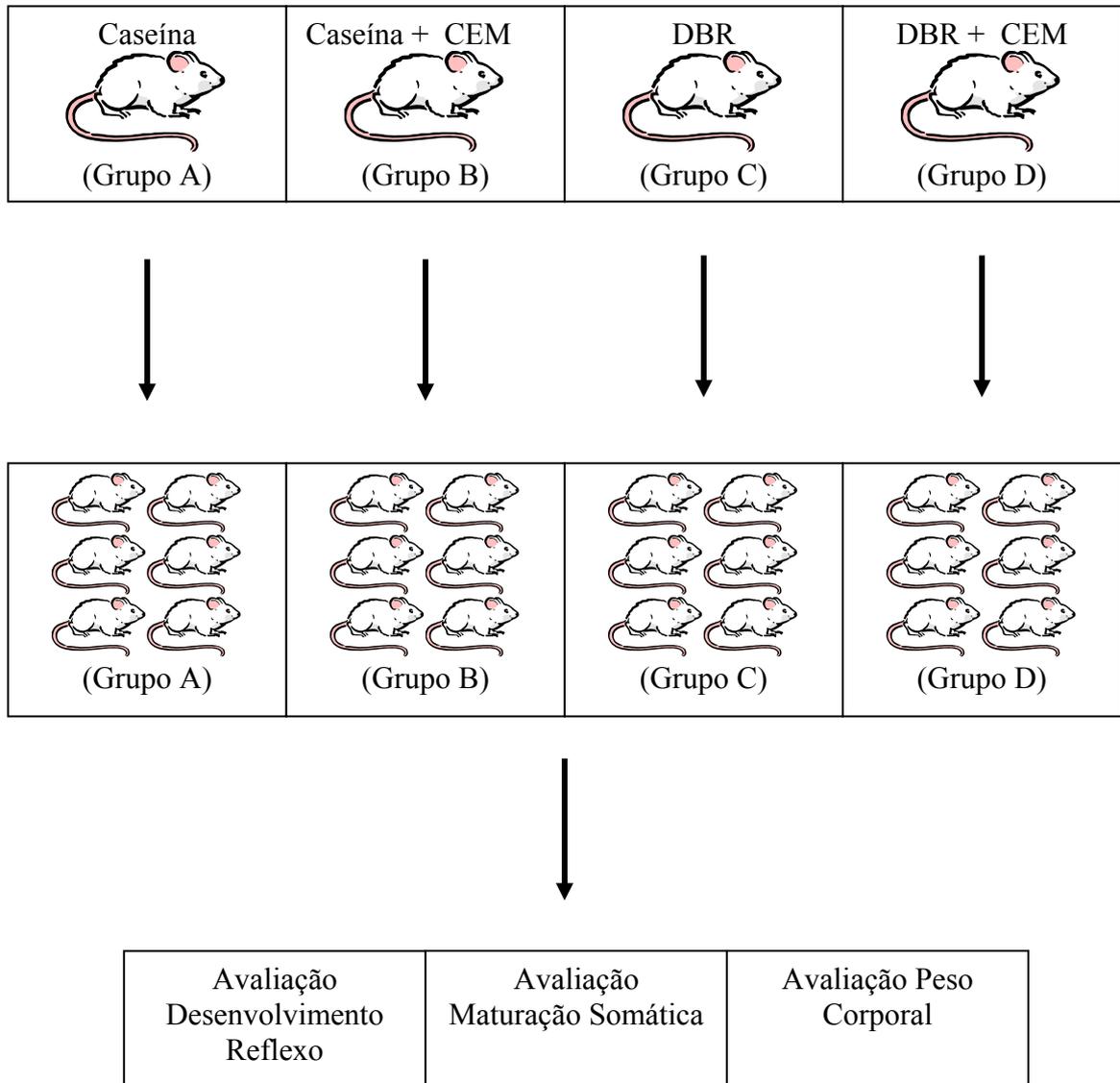


Figura 8 - Esquema métodos

### 3.3. DESENVOLVIMENTO REFLEXO

Os reflexos foram pesquisados diariamente, a partir do 2º dia pós-natal ao 21º dia pós-natal, até sua consolidação ou desaparecimento, quando a resposta reflexa

esperada se repetia por três dias consecutivos no horário entre 12 e 14 horas. Os reflexos pesquisados descritos a seguir, seguiram o modelo experimental estabelecido por Fox (1965) para o camundongo e por Smart e Dobbing (1971) para o rato:

Preensão Palmar (PP) – utilizando-se um bastonete metálico com aproximadamente 5cm de comprimento por 1 mm de diâmetro, fazia-se uma leve percussão na palma da pata dianteira esquerda ou direita de cada animal. A resposta era considerada positiva, se não houvesse flexão rápida dos artelhos após duas tentativas.

Recuperação de Decúbito (RD) – Colocava-se o rato em decúbito dorsal sobre uma superfície plana, observava-se a eventual resposta de retorno ao decúbito ventral. A resposta era considerada positiva quando o animal assumia o decúbito ventral, apoiado sobre as quatro patas, num tempo máximo de 10 s.

Colocação pelas Vibrissas (CV) - O rato era suspenso pela cauda de tal modo que suas vibrissas tocavam levemente a borda de uma superfície plana. A resposta era considerada positiva quando o rato colocava as duas patas anteriores sobre a mesa e realizava movimentos de marcha, associados com extensão do tronco.

Aversão ao Precipício (AP)- Colocava-se os ratos com as patas dianteiras na extremidade de uma superfície plana (mesa) de maneira a detectar o precipício. A resposta era considerada positiva quando o rato no tempo máximo de 10 s, se deslocava para uns dos lados e caminhava em sentido contrário a borda caracterizando a aversão ao precipício.

Geotaxia Negativa (GN) - O rato era colocado no centro de uma rampa, com a cabeça no sentido descendente. A rampa, com 45° de inclinação, era constituída de uma superfície (prancheta medindo 34 x 24 cm) revestida com material antiderrapante (papel crepom). A resposta era considerada positiva quando o animal girava o corpo num

ângulo de 180°, posicionando a cabeça em sentido ascendente durante um tempo máximo de 10s.

Resposta ao susto (RS) – O rato era submetido a um barulho súbito, produzido pela percussão de um bastão de madeira sobre um recipiente (6cm de diâmetro x 1,5cm de altura) metálico a uma distância aproximada de 10 cm do animal. A resposta era considerada positiva quando ocorria uma retração das patas anteriores e posteriores com imobilização rápida e involuntária do corpo do animal.

Recuperação do Decúbito em Queda Livre (RDQL) – O rato era segurado pelos quatro patas com o dorso voltado para baixo, a uma altura de 30 cm, previamente medida com uma régua. Soltava-se o animal e observava sua queda livre sobre um leito de espuma sintética (30 x 12cm). A resposta era considerada positiva quando o animal recuperava o decúbito durante a queda livre caindo na superfície do leito apoiado sobre as quatro patas.

#### 3.4. ÍNDICES DE MATURAÇÃO SOMÁTICA

Foram pesquisados diariamente, até sua maturação, a partir do segundo dia pós-natal:

Abertura do Pavilhão Auricular (APA) – Normalmente o animal nasce com o pavilhão auditivo dobrado, portanto, o pavilhão auricular aberto foi considerado no dia em que a dobra foi desfeita. Nesta avaliação, a maturação foi considerada positiva, quando os dois pavilhões estavam desdobrados.

Abertura do Conduto Auditivo (ACA) – Ao nascimento o conduto auditivo encontra-se fechado. Considerou-se madura a ACA no dia em que o orifício auricular

podia ser visualizado. Nesta avaliação a maturação foi considerada positiva quando os dois condutos, direito e esquerdo, encontravam-se abertos.

Erupção dos Dentes Incisivos Inferiores (EDII) – Era considerada positiva no dia que ocorria a erupção dos dentes incisivos inferiores.

Erupção dos Dentes Incisivos Superiores (EDIS) – Era considerada positiva no dia que ocorria a erupção dos dentes incisivos superiores.

Abertura dos olhos (AO) – No rato, os olhos encontram-se totalmente encobertos pelas pálpebras durante algum tempo pós-natal. A resposta desta avaliação foi considerada positiva quando ambos encontravam-se totalmente abertos, com presença de movimento no reflexo das pálpebras.

### 3.5. CRESCIMENTO SOMÁTICO

#### 3.5.1 Peso Corporal dos Lactentes:

A cada três dias os animais eram pesados até o desmame (21 dias), em balança digital com sensibilidade de 0,1 g.

### 3.6. Análise Estatística

Os resultados do desenvolvimento reflexo e dos índices de maturação somática foram analisados em mediana mais Quartil (25%-75%). Os resultados foram avaliados através da ANOVA *one way* seguida do Teste de Dunn's para comparação entre os grupos, considerando o nível de significância  $p < 0,05$ .

Na análise do peso corporal foi utilizada a Análise de Variância para Testes Repetidos seguido do Teste de Tukey para comparação entre os grupos Análise de Variância de Kruskal-Wallis seguido do Teste de Dunn's para comparação entre os grupos quando o teste de normalidade falhava e a Análise de variância de uma via seguido do teste de Tukey para comparação entre os grupos quando a amostra passava no teste de normalidade.

## ANEXO III



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**

Recife, 28 de fevereiro de 2003

Ofício nº 116/2003

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE  
**À Profa. Maria do Carmo Medeiros**  
Departamento de Nutrição da UFPE

Prezada Professora,

Após o recebimento de seu projeto de pesquisa intitulado **“Ação do campo eletromagnético de 60Hz em ratas prenhas submetidas à dieta básica regional: Regulação hormonal e metabólica das ratas prenhas e maturação reflexa da prole”** os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) analisaram os aspectos relativos aos protocolos experimentais adotados.

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

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, ressaltamos ainda que o sacrifício dos animais experimentais, realizado no presente trabalho, justifica-se pelo fato de não existirem recursos alternativos para a realização do procedimento científico.

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

Atenciosamente,

Prof.ª Belmira Lara da S. Andrade da Costa  
Coordenadora da Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPE