

**ANA ELISA TOSCANO MENESES DA SILVA**

**DESNUTRIÇÃO E MANIPULAÇÃO SEROTONINÉRGICA  
NEONATAIS: REPERCUSSÕES SOBRE O DESENVOLVIMENTO  
DA MORFOLOGIA CARDÍACA**

**Recife**

**2004**

**ANA ELISA TOSCANO MENESES DA SILVA**

**Desnutrição e manipulação serotoninérgica neonatais:  
repercussões sobre o desenvolvimento da morfologia cardíaca**

Dissertação apresentada ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição.

**Orientador:** Prof. Dr. Raul Manhães de Castro

**Co-orientadora:** Profa. Dra. Sílvia Regina Arruda de Moraes

**Recife**

**2004**

**Toscano, Ana Elisa**

**Desnutrição e manipulação serotoninérgica neonatais : repercussões sobre o desenvolvimento da morfologia cardíaca / Ana Elisa Toscano Meneses da Silva. – Recife : O Autor, 2004.**

**xviii, 81 folhas : il., fig., tab.**

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2004.**

**Inclui bibliografia e anexo.**

**1. Nutrição – Desnutrição – Hiponutrição. 2. Neuropsicofarmacologia – Serotonina – Inibidor seletivo da recaptção da serotonina. 3. Coração – Desenvolvimento morfológico. I. Título.**

**613.24**

**CDU (2.ed.)**

**UFPE**

**613.2**

**CDD (20.ed.)**

**BC2004-522**

**Desnutrição e manipulação serotoninérgica neonatais: repercussões  
sobre o desenvolvimento da morfologia cardíaca**

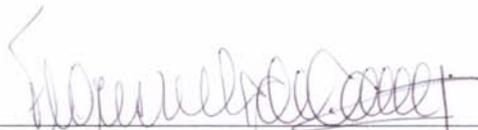
**Ana Elisa Toscano Meneses da Silva**

Recife, 08 de outubro de 2004.

Banca examinadora:



Prof. Etenildo Dantas Cabral



Profa. Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos



Profa. Sílvia Regina Arruda de Moraes

Recife

2004

*“A mente que se abre a uma nova idéia jamais  
voltará ao seu tamanho original”.*

*Einstein*

## Dedicatória

*A meus pais João Pereira e Valdete Toscano  
por todo amor, cuidado, apoio e incentivo,  
durante toda a minha vida.*

## Agradecimentos Especiais

*A Deus, por me conceder saúde e serenidade para realizar este trabalho, colocando no meu caminho pessoas que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.*

*Aos meus orientadores:*

*Professor Raul, um grande amigo que conheci. Alguém muito especial que sabe usar muito bem as palavras, para dizer aquilo que precisamos ouvir! Um grande incentivador que me acolheu. Muito mais que um orientador, mas alguém que compartilha dos nossos sonhos. Agradeço a confiança em mim depositada, em favor da minha formação.*

*Professora Sílvia, querida Sílvia, que desde a graduação me acompanha e é uma pessoa muito importante na minha formação. Alguém muito dedicada ao ensino e à ciência que muito me ensinou e me ensina! Agradeço a amizade, o incentivo e a ajuda concedidos.*

*A vocês orientadores, minha admiração, meu respeito e meu afeto.*

## Agradecimentos

A **Moacir Jucá** pela sua paciência, incentivo e ajuda durante a realização deste trabalho, mas principalmente, pelo carinho e compreensão em todos os momentos.

Aos meus irmãos **Carlos Henrique, Juliana e Diógenes** e meu cunhado **Euclides**, pelo apoio e compreensão.

A **Hilton Justino** que comigo iniciou seus experimentos, compartilhando as conquistas e dificuldades encontradas. Agradeço as fotografias e as importantes sugestões a este trabalho.

Às amigas **Sônia Marinho e Roberta Leite** pelas sugestões no manuseio dos animais e nos procedimentos de pesquisa e pelas dicas durante a elaboração deste trabalho.

Às queridas estagiárias **Alexandra, Jaqueline, Morgana, Eneida e Raquel** pelo empenho e importante contribuição que deram a este trabalho durante a parte experimental e aos **estagiários do LAMPE** pelo apoio e incentivo.

À **equipe do laboratório de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas**, pela cooperação no preparo das lâminas deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório **Sandra Lopes, Rogério Freitas, Marcelo Viana, Karla Mônica Barros e Tereza Deiró**, por tudo.

À **Lúcia Pires** pela atenção, paciência e dedicação no auxílio estatístico.

Ao veterinário **França**, por toda atenção, sugestões e apoio no manuseio dos animais deste trabalho.

Aos funcionários **Hamilton Salviano e Paulino Ventura**, pela colaboração na elaboração das dietas e manuseio dos animais.

À secretária da Pós-graduação **Neci**, pela dedicação e colaboração aos alunos da Pós-Graduação em Nutrição.

Às **colegas de turma do Mestrado**, pela convivência e incentivo, sobretudo, as amigas nutricionistas da turma de Bases Experimentais.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Este trabalho contou com o apoio financeiro do CNPQ - Projeto CNPQ – Universal N° do processo 473535/2003-3 – “ Desnutrição e manipulação serotoninérgica neonatais: efeitos precoces e tardios sobre o desenvolvimento dos sistemas nervoso, digestivo, cardiovascular e locomotor”.

## Sumário

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>XI</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>XII</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XV</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XVI</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XVII</b>
<b>1- INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
<b>2- JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>07</b>
<b>3- HIPÓTESES.....</b>	<b>09</b>
<b>4- OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
<b>5- MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>13</b>
Animais.....	14
Manipulação Nutricional.....	16
Manipulação Farmacológica.....	18
Estudos.....	18
<i>IN VIVO</i>	
Evolução ponderal.....	18
<i>POST MORTEM</i>	
Perfusão.....	18
Análise da morfologia cardíaca.....	22
Análise morfométrica do coração.....	25
Avaliações alométricas.....	29
Análise estatística.....	29

<b>6- RESULTADOS.....</b>	<b>30</b>
Análise do peso corporal.....	31
Peso do coração aos 30 e 71 dias.....	33
Distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração (distância AV) aos 30 e 71 dias.....	35
Análise da área de secção transversa do coração.....	37
Análise do perímetro transverso do coração.....	39
Avaliação da área das células miocárdicas.....	41
Avaliação do perímetro das células miocárdicas.....	43
Análise da área dos núcleos das células miocárdicas.....	48
Análise do perímetro dos núcleos das células miocárdicas.....	49
Relação peso do coração/peso corporal (PCa/PC).....	50
<b>7- DISCUSSÃO.....</b>	<b>52</b>
<b>8- CONCLUSÕES.....</b>	<b>63</b>
<b>9- PERSPECTIVAS.....</b>	<b>65</b>
<b>10- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO</b>	

*O presente trabalho segue as normas propostas  
pelo Colegiado da Pós-Graduação em Nutrição.*

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ANOVA	Análise de Variância
DBR	Dieta Básica Regional
Desn	Desnutrido
AV	Distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração
DMT	N,N-dimetiltriptamina
C	Controle (Salina)
CEEA	Comissão de Ética em Experimentação Animal
5-HT	Serotonina
F	Fluoxetina
HE	Hematoxilina-Eosina
ISRS	Inibidor seletivo da recaptção da serotonina
Nut	Nutrido
PCa/PC	Relação peso do coração/corpo
S.C.	Subcutânea
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

# Lista de Figuras

## FIGURAS

1. Distribuição dos animais nas ninhadas	15
2. Organograma dos grupos experimentais	15
3. Abertura da cavidade torácica do animal para visualização do coração	20
4. Abertura da cavidade abdominal do animal para canulação da veia cava inferior, ao nível das veias ilíacas comuns.	20
5. Dispositivo de perfusão por gravidade	21
6. Abertura na aorta abdominal, para saída do sangue e das soluções injetadas durante a perfusão do animal	21
7. Pesagem do coração	23
8A. Mensuração da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração na face posterior do órgão com o auxílio de uma linha de algodão	23
8B. Mensuração da linha de algodão com uma régua milimetrada com precisão de 0,05cm	23
9. Corte transversal no ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração	24
10A. Fragmentos do coração, após o corte transversal no ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração	24

10B. Fixação dos fragmentos do coração no líquido fixador Carnoy	24
11. Ilustração do corte histológico transversal do coração a nível do ponto médio da distância AV, corado com Hematoxilina-Eosina (HE) para análise da área transversal e do perímetro transverso do órgão	26
12. Ilustração da seleção da região cardíaca para análise da área e do perímetro do coração, através do programa de análise de imagens ImageLab2000	26
13. Ilustração da captação das imagens das células miocárdicas pelo programa de análise de imagem ATI-Tv Player, 6.3	28
14. Ilustração da análise morfométrica das células miocárdicas, através do programa Scion Image, Beta 4.0.2.	28
15. Efeito da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina neonatal sobre a evolução ponderal de ratos	32
16. Efeito da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre o peso corporal de ratos aos 30 e 71 dias	32
17. Efeito da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre o peso do coração de ratos aos 30 e 71 dias	34
18. Efeito da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre a distância AV de ratos aos 30 e 71 dias	36
19. Efeito da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre a área de secção transversa do coração aos 30 e 71 dias	38
20. Efeito da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre o perímetro transverso do coração aos 30 e 71 dias	40
21. Efeitos da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre área das células miocárdicas aos 30 e 71 dias	42

22. Efeito da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre o perímetro das células miocárdicas aos 30 e 71 dias	44
23A. Fotomicrografia das células miocárdicas do grupo Nut-C aos 30 dias de vida	45
23B. Fotomicrografia das células miocárdicas do grupo Nut-F aos 30 dias de vida	45
23C. Fotomicrografia das células miocárdicas do grupo Desn-C aos 30 dias de vida	46
23D. Fotomicrografia das células miocárdicas do grupo Desn-F aos 30 dias de vida	46
24A. Fotomicrografia das células miocárdicas do grupo Nut-C aos 71 dias de vida	47
24B. Fotomicrografia das células miocárdicas do grupo Desn-C aos 71 dias de vida	47
25. Efeito da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre área dos núcleos das células miocárdicas aos 30 e 71 dias	48
26. Efeitos da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre o perímetro dos núcleos das células miocárdicas aos 30 e 71 dias	49

# Lista de Tabelas

## TABELAS

1. Composição da dieta padrão “Labina” (Purina do Brasil), utilizada na alimentação dos animais nutridos	17
2. Composição centesimal da Dieta Básica Regional (DBR)	17
3. Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre a relação PCa/PC aos 30 e 71 dias	51

## Resumo

Foram investigados os efeitos da desnutrição e da inibição farmacológica da recaptação da serotonina neonatais sobre a morfologia do coração de ratos aos 30 e 71 dias de vida. Os ratos machos *Wistar* foram divididos em dois grupos: nutrido e desnutrido, de acordo com a dieta oferecida à mãe (LABINA ou DBR), do 1º ao 21º dias pós-natais. Durante este período, os filhotes receberam 10mg/kg de fluoxetina, via s.c. ou solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%. Após o desmame os filhotes receberam dieta padrão do biotério e água *ad libitum*. O crescimento corporal foi avaliado diariamente, até o 21º dia de vida e aos 30 e 71 dias de vida pós-natal. O crescimento cardíaco foi avaliado através das análises do peso cardíaco, relação PCa/PC, distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração (distância AV) e análises da área de secção transversa e do perímetro transverso do órgão aos 30 e 71 dias de vida. As dimensões celulares e nucleares também foram avaliadas nas duas fases do desenvolvimento. Os animais nutridos tratados com fluoxetina apresentaram uma redução no peso corporal e no peso cardíaco, bem como na área e no perímetro das células miocárdicas numa fase precoce da vida. A desnutrição também acarretou um déficit ponderal que persistiu até uma fase tardia do desenvolvimento. O peso do coração mostrou-se menor nos animais desnutridos e a relação PCa/PC apresentou-se aumentada aos 30 dias. Não foi observada diferença nesta relação aos 71 dias. A distância AV e a área das células miocárdicas apresentaram-se menores nos animais desnutridos. A área de secção transversa, o perímetro transverso do coração e o perímetro das células miocárdicas mostraram-se menores nos ratos desnutridos em comparação aos nutridos nas duas fases do desenvolvimento. O tratamento farmacológico associado à desnutrição causou alterações no peso corporal e na morfologia cardíaca numa fase precoce da vida, porém em menor intensidade comparado aos animais nutridos que receberam o tratamento com fluoxetina. Estas agressões, durante o período neonatal, parecem não causar alterações nos núcleos das células miocárdicas. Este trabalho demonstra que a desnutrição e a manipulação serotoninérgica neonatal podem causar alterações na estrutura cardíaca e reforçam a participação do sistema serotoninérgico nos eventos de crescimento e desenvolvimento.

## Abstract

The effects of either neonatal malnutrition and pharmacological inhibition of serotonin recaptation on the morphology of the heart at 30<sup>th</sup> and 71<sup>st</sup> days of life of rats were investigated. The male rats Wistar had been divided in two groups: nourished and undernourished, in accordance with the diet offered to the mother (LABINA or DBR), from the 1<sup>st</sup> to the 21<sup>st</sup> post-natal days. During this period, the pups had received 10mg/kg of fluoxetine, s.c. or physiological sodium chloride solution 0,9%. After the weaning, the pups had received standard diet and water *ad libitum*. The body growth was evaluated daily, until 21<sup>st</sup> day of life and at 30<sup>th</sup> and 71<sup>st</sup> days post-natal. The cardiac growth was evaluated through the analyses of the cardiac weight, PCa/PC relation, distance between the atrioventricular ridge and the apex of the heart (distance AV) and analyses of the cross-sectional area and the cross perimeter of the organ at 30<sup>th</sup> and 71<sup>st</sup> days of life. The cellular and nuclear dimensions had been also evaluated in the two phases of the development. The animals nourished treated with fluoxetine had presented a reduction in the body weight and in the cardiac weight, as well as in the area and in the perimeter of the myocyte in a early phase of the life. The malnutrition also caused a ponderal deficit that persisted until a delayed phase of the development. The weight of the heart revealed lesser in the undernourished animals and the PCa/PC relation was presented increased at 30<sup>th</sup> day. Difference in this relation at 71<sup>st</sup> day was not observed. The distance AV and the area of the myocyte had been presented lesser in the undernourished animals. The cross-sectional area, the cross perimeter of the heart and the perimeter of the myocyte had revealed lesser in the rats undernourished in comparison with the nourished rats in the two phases of the development. The pharmacological treatment associated to the malnutrition caused alterations in the body weight and in the cardiac morphology in the early phase of the life, however in lesser intensity in comparison with the nourished animals that had received the treatment with fluoxetine. These aggressions, during the neonatal period, seem not to cause alterations in the nucleus of the myocyte. This work demonstrates that the malnutrition and the neonatal serotonergic manipulation can cause alterations in the cardiac structure and strengthen the participation of the serotonergic system in the growth and development events.

# Introdução

## Introdução

Durante o desenvolvimento do coração, as células deste órgão participam de quatro processos primários simultâneos e independentes (DEHAAN; O'RAHILLY, 1981). Estes processos são: o crescimento ou multiplicação celular; a diferenciação, isto é, o aparecimento de novas características nas células; a morfogênese, que inclui o movimento, adesão e separação e a organização espacial das células; e a morte celular programada (DEHAAN; O'RAHILLY, 1981).

O coração adquire sua forma geral definitiva no final da sexta semana depois da fertilização humana (MALINA; BOUCHARD, 1991), correspondendo à segunda semana de gestação no camundongo (OTIS; BRENT, 1954). A forma e a aparência cardíacas se desenvolvem em resposta às mudanças no volume de fluxo sanguíneo intrauterino e na pressão intraluminal (BRASEL; GRUEN, 1978). O tamanho do coração humano aumenta desde o nascimento até a maturidade, com uma curva de crescimento similar aquela para o peso corpóreo (MALINA; BOUCHARD, 1991).

Os eventos de crescimento e desenvolvimento são observados em todo organismo e podem ser modificados por fatores exógenos como alterações nutricionais (MORGANE *et al.*, 1978). O mesmo pode ser observado após manipulações farmacológicas dos sistemas de neurotransmissores (MANHÃES DE CASTRO *et al.*, 1993). Podem ocorrer drásticas mudanças morfofuncionais quando estas agressões acontecem numa etapa vulnerável do desenvolvimento (NOBACK; EISENMAN, 1981). As alterações poderão ser parcialmente reversíveis ou não, em função da magnitude da agressão e dos fatores ambientais aos quais são submetidos os indivíduos (LEVITSKY; BARNES, 1972; DIAMOND *et al.*, 1985; MONE *et al.*, 2004).

Um suprimento adequado de nutrientes é imprescindível para a manutenção do crescimento em todos os sistemas orgânicos, assim como para o desenvolvimento de suas respectivas funções (LEVITSKY; BARNES, 1972; LYNCH; SMART; DOBBING, 1975; MORGANE *et al.*, 1993). Sendo assim, a desnutrição é um dos principais fatores não genéticos que pode afetar o desenvolvimento orgânico (MORGANE *et al.*, 1993).

O coração não é poupado diante dos efeitos adversos da desnutrição (FIORETTO *et al.*, 2002). A desnutrição impede o crescimento e produz um desgaste generalizado dos tecidos, particularmente, uma perda severa do tecido muscular, incluindo o músculo cardíaco (BERGMAN *et al.*, 1988). Sob a microscopia de luz, as células cardíacas apresentaram-se atrofiadas, com vários graus de hialinização e vacuolização das fibras e perdas das estriações transversais das células em algumas áreas (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA, 1980).

Estudos com animais mostraram uma diminuição da massa cardíaca, proporcional ao grau de emagrecimento (WEBB; KIESS; CHAN-YAN, 1986; ALDEN *et al.*, 1987; VANDENWOUDE; BUYSSSENS, 1992a; FIORETTO *et al.*, 2002). Em estudo eletrocardiográfico e ecocardiográfico em crianças com desnutrição calórica-protéica grave do tipo kwashiokor, houve diminuição do volume cardíaco, tanto pela redução do diâmetro interno das câmaras, como pela diminuição da espessura da parede ventricular esquerda (SARAIVA, 1990).

A interferência da desnutrição sobre os processos de crescimento e desenvolvimento também se faz presente quando se trata do equilíbrio de sistemas de neurotransmissores. No sistema serotoninérgico, a desnutrição no início da vida de ratos provocou redução na densidade de fibras serotoninérgicas e nos sítios de captação da serotonina (5-HT) no hipocampo (BLATT *et al.*, 1994). A desnutrição crônica provoca

aumento nas concentrações da 5-HT e de seu principal metabólito, o ácido 5-hidroxiindolacético (SOBOTKA; COOK; BRODIE, 1974) e alteração dos níveis de 5-HT e catecolaminas em diferentes regiões cerebrais (HISATOMI; NHIYAMA, 1980). Mesmo em caso de períodos mais curtos de restrição alimentar em ratos neonatos, verificou-se uma alteração no metabolismo da 5-HT, além de outras alterações nos níveis de outras substâncias como a dopamina (ISHIDA; NAKAJIMA; TAKADA, 1997). As repercussões de uma desnutrição precoce sobre o sistema serotoninérgico se estendem até a idade adulta (BARROS, 1999).

O sistema serotoninérgico apresenta-se como tema de interesse em estudos sobre desenvolvimento pela extensão e diversidade de funções às quais está relacionado (JACOBS; AZMITIA, 1992; MAGALHÃES, 2000). A bioamina serotonina (5-HT) pode ser encontrada em várias áreas do corpo, entre elas: a parede intestinal, as plaquetas e o sistema nervoso central (WILKINSON; DOURISH, 1991) e além de sua ação como neurotransmissor, a 5-HT, apresenta, também, funções de regulação sobre o crescimento de tecidos neurais e não-neurais (LAUDER, 1990; BUZNIKOV; LAMBERT; LAUDER, 2001).

O neurotransmissor 5-HT faz um duplo papel no desenvolvimento: primeiramente, a autoregulação dos neurônios serotoninérgicos e em segundo, o desenvolvimento de tecidos-alvo (WHITAKER-AZMITIA *et al.*, 1996). A 5-HT exerce um efeito neurotrófico, agindo como um sinalizador para o desenvolvimento de neurônios durante a fase embrionária (LAUDER, 1990). Cada função pode ser mediada por uma variedade de receptores 5-HT localizados em células neuronais e não neuronais (LAUDER, 1990).

A 5-HT participa da morfogênese cardiovascular em camundongos (YAVARONE *et al.*, 1993), através dos seus receptores. Dentre os tipos de receptores

da serotonina, o receptor 5-HT<sub>2</sub> exerce um importante papel na regulação da proliferação e diferenciação de células não neuronais, durante o desenvolvimento embrionário (LAUDER *et al.*, 2000).

Estudos com o subtipo de receptor 5-HT<sub>2B</sub> mostram que ao se utilizar um antagonista com alta afinidade por esse receptor pode-se induzir defeitos morfológicos no coração (CHOI *et al.*, 1997). Esse antagonista pode ser responsável por organização sarcomérica prematura da camada subepicardial e pela ausência da camada de células trabeculares no miocárdio ventricular (NEGIBIL *et al.*, 2001a). O receptor 5-HT<sub>2B</sub>, presente em quantidades importantes no coração (ETIENNE *et al.*, 2004), media algumas funções tróficas da serotonina e participa da regulação do coração, por afetar sua migração, proliferação celular e/ou sobrevivência (CHOI *et al.*, 1997; CHOI *et al.*, 1998).

Em outros estudos com mesmo subtipo de receptor (5-HT<sub>2B</sub>), em camundongos, observou-se que uma mutação deste receptor poderia levar a mudanças no coração como adelgaçamento da parede ventricular e diminuição na massa ventricular (NEGIBIL *et al.*, 2000; NEGIBIL *et al.*, 2001b). Essas mudanças são causadas por dois mecanismos complementares: perda das células miocárdicas e diminuição no tamanho celular (NEGIBIL; MAROTEAUX, 2001). O coração mutante neonatal desenvolveu os maiores defeitos na organização da citoarquitetura (NEGIBIL *et al.*, 2001b). Esses dados representam uma evidência genética de que a serotonina, através do receptor 5-HT<sub>2B</sub>, regula a estrutura, o desenvolvimento dos cardiomiócitos e sua função no adulto (NEGIBIL *et al.*, 2001a; NEGIBIL *et al.*, 2001b).

O uso de inibidores de recaptura da 5-HT, os quais aumentam a disponibilidade sináptica de 5-HT, acentuando ou facilitando sua ação, é capaz de diminuir a proliferação do miocárdio, do mesênquima cardíaco e do endotélio (YAVARONE *et al.*,

1993). A 5-HT, pode, dependentemente de sua concentração, regular a proliferação celular no coração (YAVARONE *et al.*, 1993). De acordo com essa hipótese, níveis ótimos de serotonina poderiam ser mitogênicos, mas altas concentrações seriam inibitórias (YAVARONE *et al.*, 1993). É proposto que a serotonina age como um sinal morfogênético no camundongo embrionário, possivelmente regulando a expressão ou a ação de outras moléculas reguladoras do crescimento (YAVARONE *et al.*, 1993).

Justificativa

## Justificativa

Trabalhos têm mostrado a influência do tratamento neonatal com drogas que interferem no sistema serotoninérgico em ratos e de manipulações dietéticas sobre o desenvolvimento somático e sensorio-motor e sobre o padrão adulto dos comportamentos agressivo e alimentar (DEIRÓ, 1998; BARROS, 1999; MAGALHÃES, 2000; MANHÃES DE CASTRO *et al.*, 2001). A redução de peso, o atraso na maturação de características físicas e no aparecimento de reflexos, além da persistência de alterações no comportamento alimentar e na resposta agressiva até a idade adulta foram aspectos relevantes em tais estudos.

Entretanto, as informações sobre o papel da serotonina no desenvolvimento do coração durante o período neonatal ainda são insuficientes. O estudo destes aspectos em animais desnutridos tem importância tanto do ponto de vista experimental como clínico, devido à diversidade de reações do organismo desnutrido mediante agressões durante o desenvolvimento. Sendo a desnutrição uma realidade, principalmente na região Nordeste do Brasil, estudos que determinem suas conseqüências sobre o desenvolvimento dos órgãos, assim como as possibilidades de recuperação, são de extrema relevância.

# Hipóteses

## Hipóteses

Acredita-se que a desnutrição e/ou a manipulação serotoninérgica em ratos, durante o período neonatal, causa:

- Redução do peso do coração;
- Diminuição da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração;
- Diminuição da área e do perímetro do coração;
- Diminuição nas medidas histocitométricas das células miocárdicas;

# Objetivos

## Objetivos

### **Geral**

Estudar as repercussões decorrentes da desnutrição e da inibição farmacológica seletiva da recaptção da serotonina neonatais, sobre a morfologia do coração aos 30 e 71 dias de vida.

### **Específicos**

Avaliar as repercussões decorrentes da desnutrição e da inibição farmacológica seletiva da recaptção da serotonina neonatais sobre:

- O peso do coração;
- A distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração;
- A área de secção transversa e o perímetro transverso do coração;
- A área e o perímetro das células miocárdicas e dos seus núcleos;
- A relação peso do coração/corpo.

# Materiais e Métodos

# Materiais e Métodos

## Animais

Foram utilizados ratos albinos da linhagem *Wistar*, provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em um ambiente com temperatura de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , num ciclo de luz (6:00 às 18:00 h) e escuridão (18:00 às 6:00 h) constante. Os animais tiveram livre acesso à água filtrada e ração padrão do biotério (LABINA - Purina do Brasil, contendo 23% de proteína). Os procedimentos realizados no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Centro de Ciências Biológicas da UFPE (Anexo1)

Para obtenção dos animais experimentais, foram acasalados ratos com idade entre 90 e 120 dias na proporção de um macho para duas fêmeas. O diagnóstico da prenhez foi feito através da aferição do peso corporal a cada três dias. Confirmado o estado de gestação, as ratas foram separadas dos machos e alojadas individualmente em gaiolas-maternidade.

Um dia após o nascimento dos filhotes foram constituídas ninhadas de seis neonatos machos por mãe. Foram selecionados os machos com peso entre 6,0 a 8,9 g. Os animais foram, então, distribuídos entre as mães de maneira que não houvesse filhotes de uma mesma ninhada nos grupos experimentais (GB) (Figura 1). Dois grupos experimentais de três filhotes constituíram cada ninhada (GB<sub>1</sub> e GB<sub>2</sub>), segundo a manipulação farmacológica imposta no período de aleitamento (primeiros 21 dias de vida) (Figura 1 e 2).

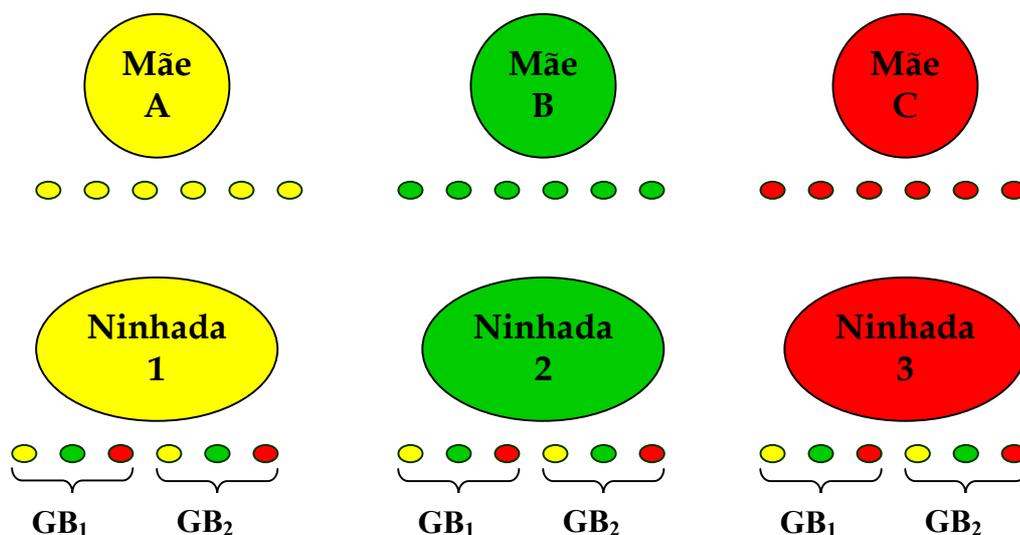


Figura 1 – Distribuição dos animais nas ninhadas

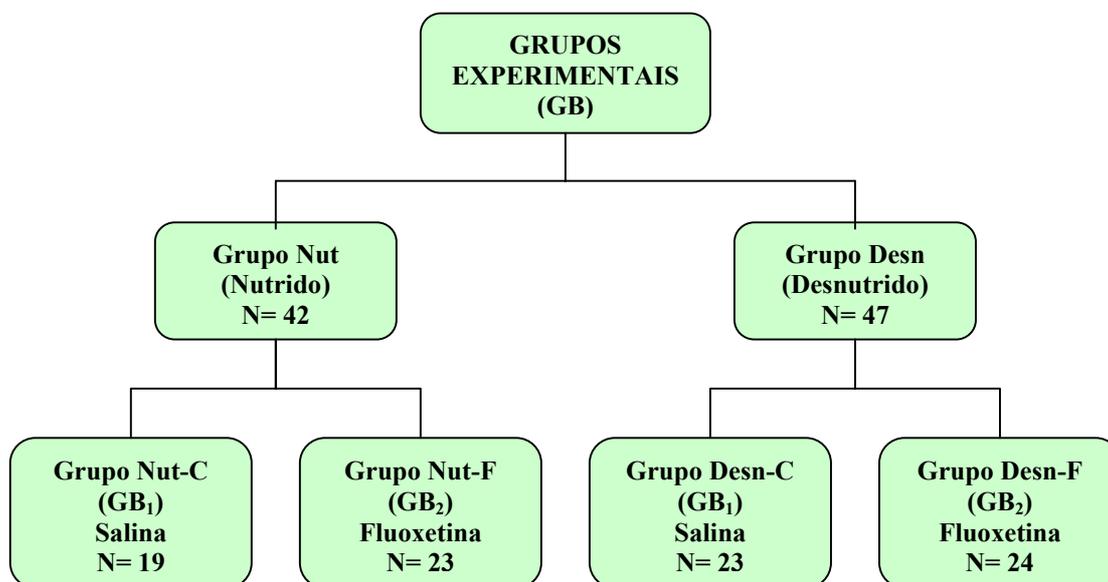


Figura 2 - Organograma dos grupos experimentais

## **Manipulação Nutricional**

Segundo a manipulação nutricional os animais foram divididos em dois grupos:

Nutrido (Nut) – Composto por filhotes amamentados por nutrízes que receberam a dieta padrão utilizada no biotério, denominada “LABINA” (AgribRANDS Purina do Brasil, LTDA). Esta dieta é normoprotéica e contém 23,0% de proteína, conforme descrito na Tabela 1 (Figura 2).

Desnutrido (Desn) – Composto por filhotes amamentados por nutrízes que receberam dieta hipoprotéica, contendo 8,0% de proteína a Dieta Básica Regional (DBR) (TEODÓSIO *et al.*, 1990) (Figura 2). A DBR foi elaborada com base em informações obtidas em inquéritos alimentares realizados pelo setor de Nutrição Humana do Departamento de Nutrição desta Universidade. Os inquéritos foram feitos em populações de baixo poder aquisitivo da Zona da Mata de Pernambuco. A DBR é uma dieta multideficiência. Ressalta-se a deficiência em proteína, em função da quantidade (cerca de 8,0%) e da qualidade (predomínio de proteína vegetal). Conforme descrito na Tabela 2. A utilização crônica da DBR no rato produz um quadro de desnutrição protéico-calórica severa semelhante à desnutrição infantil (TEODÓSIO *et al.*, 1990).

**TABELA 1 – Composição da dieta padrão “Labina” (Purina do Brasil), utilizada na alimentação dos animais Nutridos (Nut).**

ENRIQUECIMENTO (KG DE RAÇÃO) (*):		NÍVEIS DE GARANTIA (*):	
Vitamina A	20000UI	Umidade (máx.)	13%
Vitamina D <sub>3</sub>	6000 UI	Proteína (mín.)	23%
Vitamina E	30 UI	Extrato Etéreo (mín.)	2.5%
Vitamina K	6 mg	Matéria Fibrosa (máx.)	9.0%
Vitamina B <sub>12</sub>	10 µg	Matéria Mineral (máx.)	8.0%
Vitamina B <sub>2</sub>	8 mg	Cálcio (máx.)	1.8%
Pantotenato de Cálcio	24 mg	Fósforo (mín.)	0.0%
Niacina	95 mg		
Tiamina	4 mg		
Colina	2000 mg		
Piridoxina	6 mg		
Biotina	0.1 mg		
Ácido Fólico	0.5 mg		
Manganês	50 mg		
Iodo	2 mg		
Ferro	65 mg		
Zinco	35 mg		
Cobre	26 mg		
Antioxidante	100 mg		

COMPOSIÇÃO BÁSICA (\*): Milho, Farelo de Trigo, Farelo de Soja, Farinha de Carne, Farelo de Arroz Cru, Carboneto de Cálcio, Fosfato Bicálcico, Sal, Pré-mix. (\*) Segundo Purina do Brasil.

**TABELA 2: Composição centesimal da Dieta Básica Regional (DBR)**

Ingredientes	G%	Composição Centesimal					
		Proteína	Carboi- drato	Lipídeos	Cinzas	Fibras	Kcal%
Feijão cozido e seco	18.34	3.99	10.66	0.24	0.57	1.09	60.76
Farinha de mandioca	64.81	0.84	48.59	0.12	0.43	5.64	198.80
Carne seca salgada	3.74	2.74	-	0.06	0.06	-	11.50
Gordura da carne salgada e seca	0.35	-	-	0.35	-	-	3.15
Batata doce	12.76	0.30	9.99	0.03	0.20	0.48	41.43
<b>TOTAL</b>	<b>100.00</b>	<b>7.87</b>	<b>69.24</b>	<b>0.80</b>	<b>1.26</b>	<b>7.21</b>	<b>315.64</b>

TEODÓSIO *et al.*, 1990.

## **Manipulação Farmacológica**

Segundo a manipulação farmacológica os animais foram divididos nos grupos:

Salina (C) - Tratado com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, 1ml/100g de peso corporal, via subcutânea (Figura 2)

Fluoxetina (F) - Tratado com Fluoxetina nas doses de 10 mg/kg, 1ml/100g de peso corporal, via subcutânea (Figura 2).

Os tratamentos foram aplicados diariamente entre as 12 e 14 horas do 1º ao 21º dia de vida.

## **Estudos**

### ***IN VIVO***

- Evolução ponderal

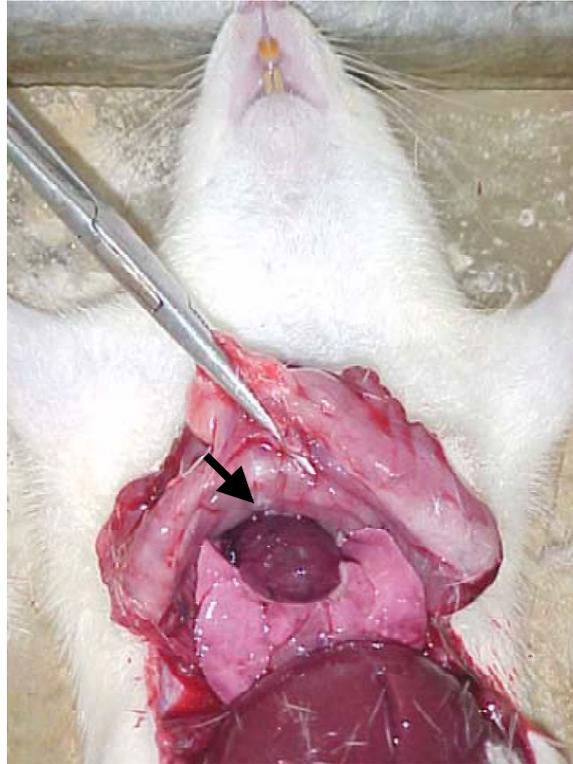
O peso corporal foi aferido, a fim de estabelecer a evolução ponderal do animal, desde o nascimento até o 21º dia de vida e aos 30 e 71 dias de vida, em balança eletrônica digital Filizola modelo MF-3, com capacidade de 3kg e sensibilidade de 0,5g.

### ***POST MORTEM***

- Perfusão

Os animais dos diferentes grupos foram sacrificados aos 30 e 71 dias de vida para o estudo *post mortem*. Inicialmente, o animal foi anestesiado com uma solução de

12,5% de cloralose e 0,5% de uretana na dose de 1ml/kg de peso, via intraperitoneal. Em seguida, foi feita a perfusão do coração. Assim, após ampla abertura das cavidades torácica e abdominal do animal (Figura 3), a veia cava inferior, ao nível das veias ilíacas comuns, foi canulada com um cateter intravenoso (Figura 4), conectado a um dispositivo de perfusão por gravidade (equipo) (Figura 5). Imediatamente após o início da perfusão foi feita uma abertura na aorta abdominal (Figura 6). Esta abertura permitia, ao mesmo tempo, saída do sangue e das soluções injetadas durante a perfusão. Em cada animal foi injetado um volume de 150ml (animais aos 30 dias de vida) ou de 250ml (animais aos 71 dias) de solução salina a 0,9% com 1,5 ml de heparina por litro de salina. Este procedimento tinha por objetivo a remoção do sangue. Após a remoção do sangue, seguiu-se a fixação do material com um volume de 60 ml (animais 30 dias) ou de 100 ml (animais 71 dias) do líquido fixador Carnoy (600ml de álcool etílico, 300ml de clorofórmio e 100ml de ácido acético).



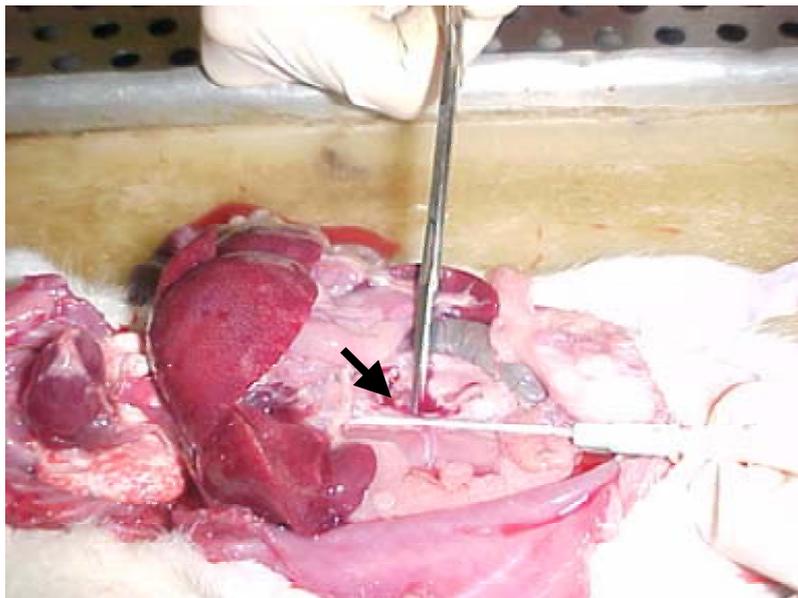
**Figura 3**–Abertura da cavidade torácica do animal para visualização do coração (seta).



**Figura 4**-Abertura da cavidade abdominal do animal para canulação da veia cava inferior (seta), ao nível das veias ilíacas comuns.



**Figura 5**–Dispositivo de perfusão por gravidade (equipo).



**Figura 6**-Abertura na aorta abdominal (seta), para saída do sangue e das soluções injetadas durante a perfusão do animal.

- Análise da morfologia cardíaca

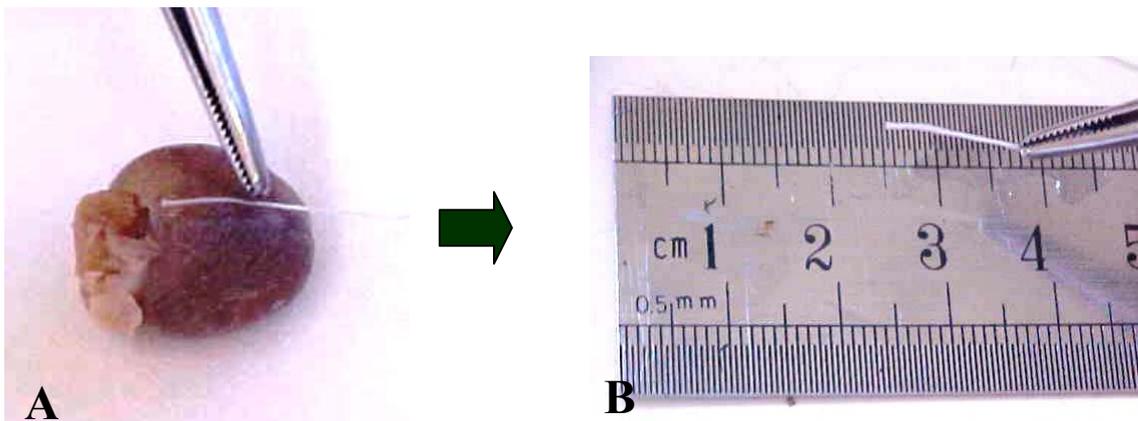
Ao final da perfusão o coração foi retirado e foi realizada uma cuidadosa dissecação para retirada do tecido conjuntivo pericardíaco. Para a aferição do peso do coração, foi utilizada uma balança digital (marca AND, modelo HR-200, com sensibilidade até 0,1 mg) (Figura 7).

Após a aferição do peso, com o auxílio de uma linha de algodão foi medida a distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração (distância AV) na face posterior do órgão (Figura 8A). Essa distância foi medida com uma régua milimetrada com precisão de 0,05cm (Figura 8B). Em seguida, foi feito um corte transversal no ponto médio dessa distância ao nível ventricular (Figura 9), dividindo-se os ventrículos em duas partes (Figura 10A). As duas partes do órgão foram, então, fixados em Carnoy (Figura 10B) por 45 minutos e em seguida em álcool a 70%, de maneira que a conformação característica do órgão fosse preservada.

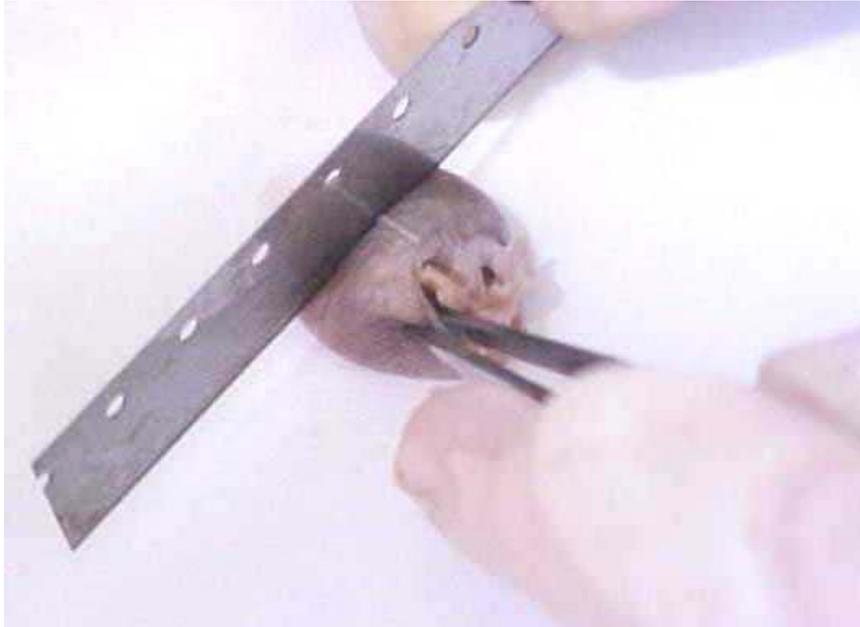
Após a fixação, os fragmentos foram desidratados em bateria crescente de alcoóis (80° a 100°) em banhos de 30 minutos, diafanizados em xilol, em banhos de 20 minutos e incluídos em parafina, após um banho de 30 minutos. A fim de otimizar o tempo de processamento dos tecidos, os fragmentos foram desidratados sob temperatura de 56°, em estufa (Fanem, 315 SE) (PAZ *et al.*, 2001). Após a inclusão em parafina, foram realizados cortes histológicos transversais do coração ao nível das cavidades ventriculares com espessura de 4 µm, obtidos em micrótomo Leica, RM 2125RT. Os fragmentos do coração foram incluídos em parafina com a face correspondente ao ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração voltada para área de corte (Figura 10A). Os cortes foram corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética (Entellan-Merck).



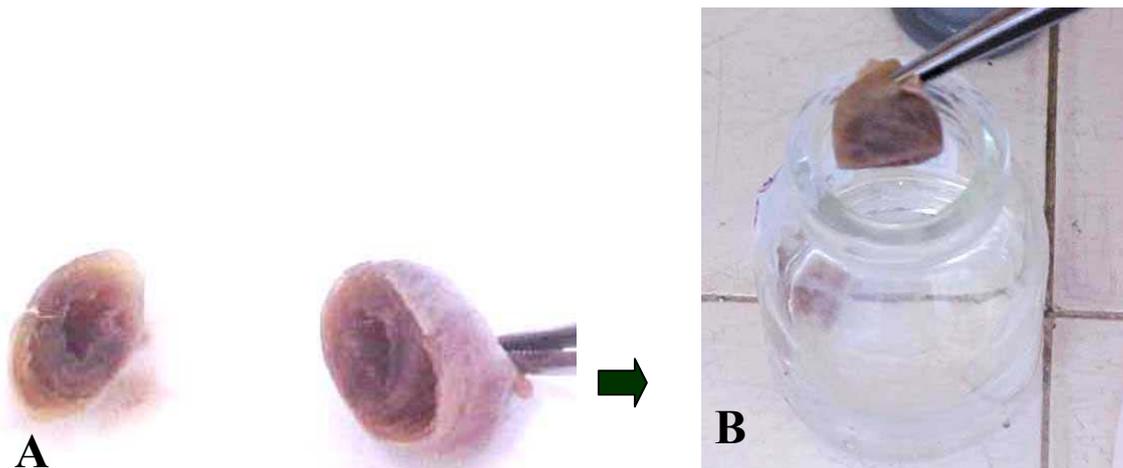
**Figura 7**– Pesagem do coração.



**Figura 8A e B**– Em **A**, mensuração da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração na face posterior do órgão com o auxílio de uma linha de algodão; em **B**, mensuração da linha de algodão com uma régua milimetrada com precisão de 0,05cm.



**Figura 9**-Corte transversal no ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração.

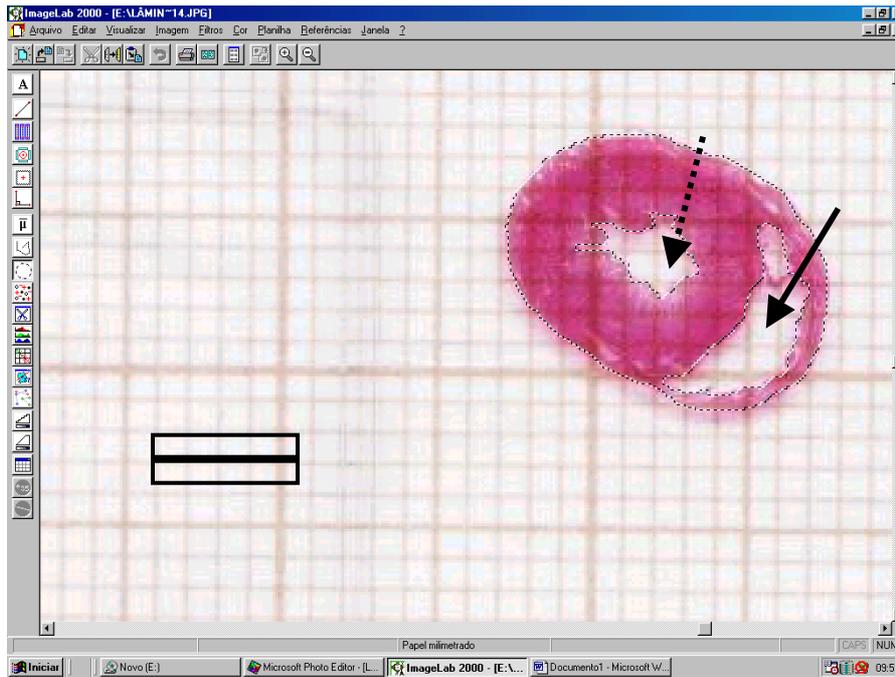


**Figura 10A e B**-Em **A**, fragmentos do coração, após o corte transversal no ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração; em **B**, fixação dos fragmentos do coração no líquido fixador Carnoy.

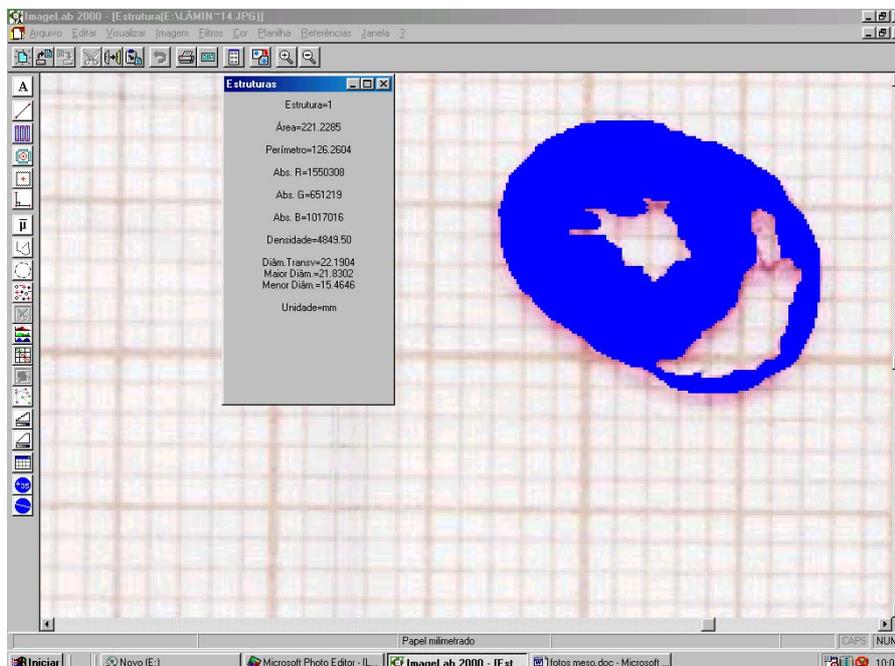
- Análise morfométrica do coração

*Mensuração da área de secção transversa e do perímetro transverso do coração*

Depois de montadas, as lâminas foram avaliadas para a escolha dos cortes que serviram para análise morfométrica. As imagens dos cortes histológicos transversais do coração selecionadas em um microscópio foram capturadas, através de um Scanner (marca Genius Color Page-Vivid3x), acoplado a um microcomputador. Após a captura das imagens dos cortes histológicos transversais escolhidos, foi realizada a mensuração da área e do perímetro do coração, excluindo-se os espaços que correspondiam à luz ventricular direita e esquerda (Figura 11). Para essa análise utilizou-se um microcomputador com o programa de análise de imagens ImageLab2000 (Figura 12). As imagens dos cortes histológicos transversais foram capturadas sob papel milimetrado, o qual serviu de escala para o programa de análise de imagens (ImageLab 2000) (Figura 11).



**Figura 11**—Ilustração do corte histológico transversal do coração, ao nível do ponto médio da distância AV, corado com Hematoxilina-Eosina (HE) para análise da área transversal e do perímetro transverso do órgão, escala de 5mm. Seta contínua indica a câmara ventricular direita e a seta pontilhada indica a câmara ventricular esquerda.



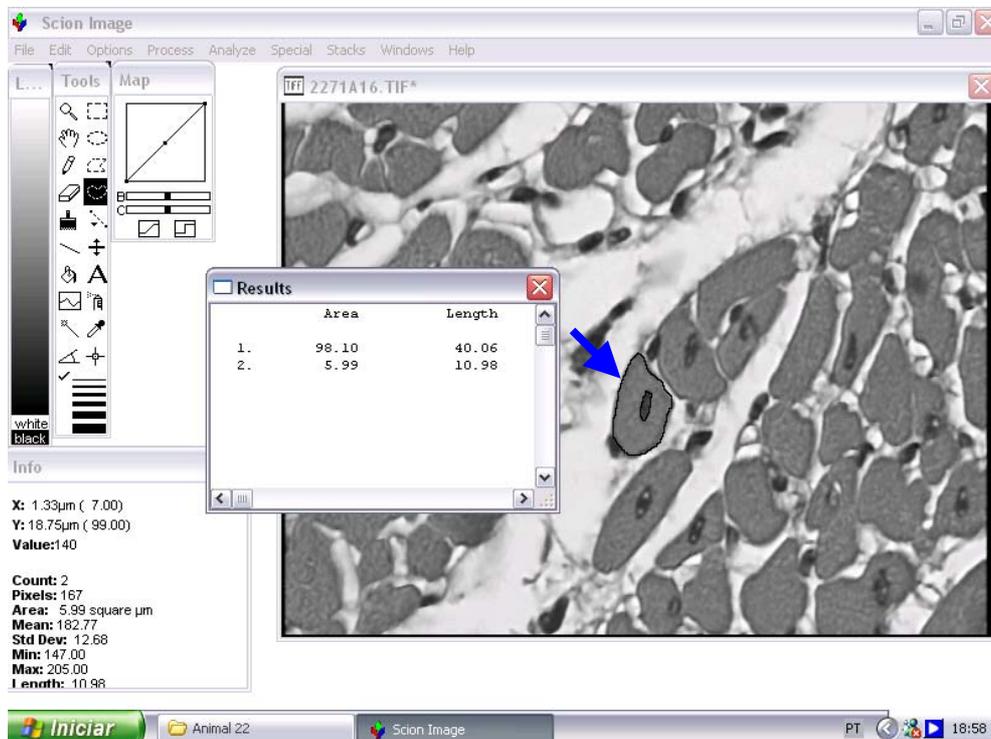
**Figura 12** – Ilustração da seleção da região cardíaca para análise da área e do perímetro do coração, através do programa de análise de imagens ImageLab2000.

### *Mensuração da área e do perímetro das células miocárdicas e do núcleo celular*

Em cada corte foram analisados 30 campos microscópicos obtidos ao acaso sob microscópio óptico Olympus BX50 (objetiva 40X). Este microscópio foi acoplado a um microcomputador com um programa para captação de imagens, ATI-Tv Player, 6.3. Em cada lâmina, foram obtidas imagens de 50 células miocárdicas com seus respectivos núcleos (Figura 13). Para análise das células miocárdicas foram consideradas apenas aquelas células cujo núcleo encontrava-se na região central da célula. Em seguida, através de outro programa, Scion Image, Beta 4.0.2, foi realizada a mensuração da área e do perímetro do miócito e do núcleo celular (Figura 14).



**Figura 13**—Ilustração da captação das imagens das células miocárdicas pelo programa de análise de imagem ATI-Tv Player, 6.3.



**Figura 14**—Ilustração da análise morfométrica das células miocárdicas (seta), através do programa Scion Image, Beta 4.0.2.

- Avaliações Alométricas

*Relação peso do coração/corpo (PCa/PC):* foi determinada pela divisão do peso do coração (g) pelo peso do corpo (g) de cada animal.

- Análise Estatística

A Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, foi utilizada para a comparação entre os diferentes grupos dos seguintes parâmetros: peso corporal, peso do coração, distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração, área de secção transversa e o perímetro transverso do coração, área e o perímetro das células miocárdicas e dos seus núcleos e relação peso do coração/corpo, a fim de identificar que grupos diferiram entre si, através da diferença média significativa. A significância estatística foi considerada, admitindo-se um nível de 5% em todos os casos ( $p < 0,05$ ). Todos os dados estão representados como média  $\pm$  EP.

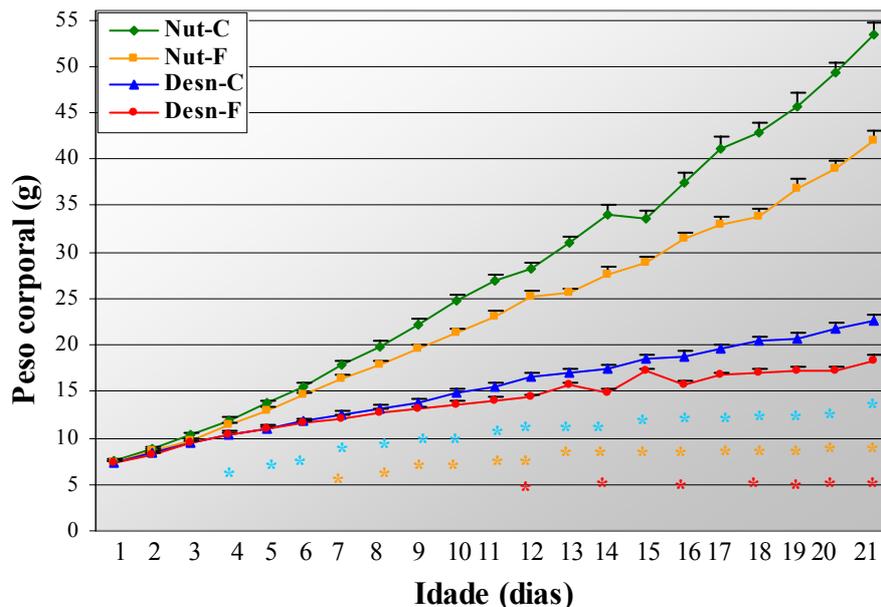
# Resultados

# Resultados

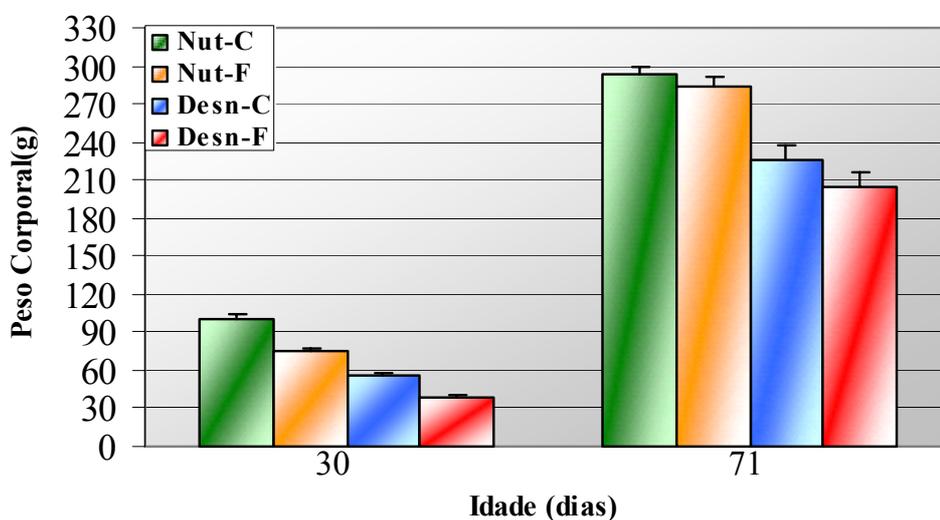
## Análise do peso corporal

Quando comparado ao grupo Nut-C, o grupo Nut-F apresentou redução ( $p < 0,05$ ) no peso corporal (g) diário do 7º ao 21º dia de vida. O grupo Desn-C, quando comparado ao grupo Nut-C, apresentou redução ( $p < 0,05$ ) do peso corporal do 4º ao 21º dia de vida. A comparação do grupo Desn-F em relação ao grupo Desn-C mostrou redução ( $p < 0,05$ ) no peso no 12º, 14º, 16º e do 18º ao 21º dia de vida (Figura 15).

Aos 30 dias houve redução ( $p < 0,05$ ) no peso corporal (g) do grupo Nut-F ( $74,46 \pm 3,48$ ) quando comparado ao grupo Nut-C ( $99,45 \pm 5,54$ ). Aos 71 dias, o peso corporal do grupo Nut-F ( $283,30 \pm 8,41$ ) não apresentou diferença em relação ao grupo Nut-C ( $294,11 \pm 5,85$ ). O grupo Desn-C ( $55,21 \pm 2,00$ ) comparado ao grupo Nut-C ( $99,45 \pm 5,54$ ), aos 30 dias mostrou redução ( $p < 0,05$ ) no peso corporal. Essa redução ( $p < 0,05$ ) também foi encontrada aos 71 dias entre o grupo Desn-C ( $226,73 \pm 10,21$ ) e o Nut-C ( $294,11 \pm 5,85$ ). O grupo Desn-F ( $39,21 \pm 1,8$ ) comparado ao grupo Desn-C ( $55,21 \pm 2,00$ ) mostrou diminuição ( $p < 0,05$ ) no peso corporal, aos 30 dias. Aos 71 dias, no entanto, não houve diferença entre Desn-F ( $205,17 \pm 11$ ) e Desn-C ( $226,73 \pm 10,21$ ) (Figura 16).



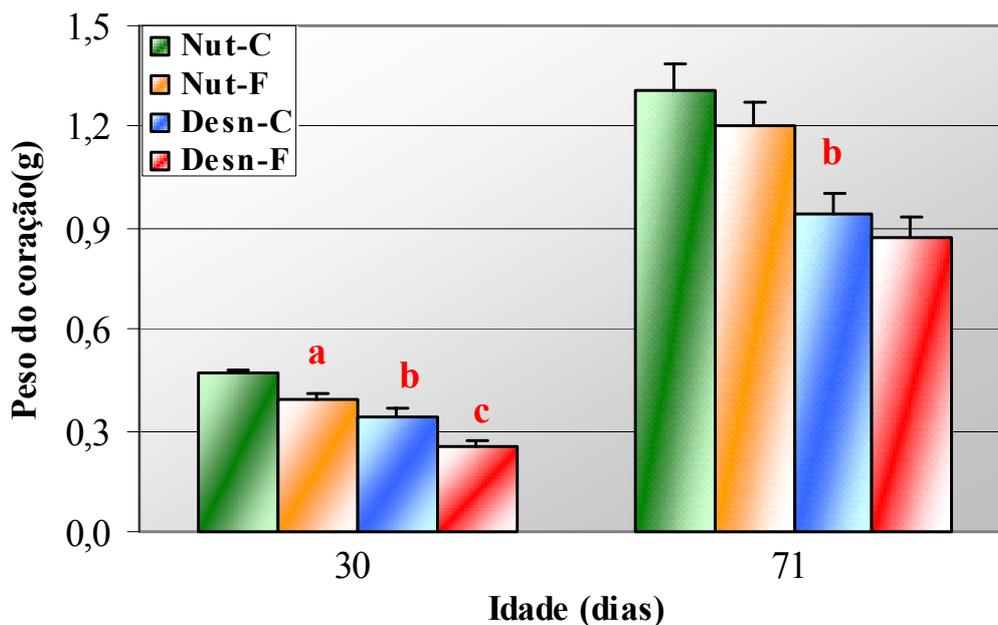
**Figura 15**-Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina do 1º ao 21º dia pós-natal sobre a evolução ponderal de ratos. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 23 e Desn-F, n= 24) ou solução salina (grupos Nut-C, n=19 e Desn-C, n=23). Os dados estão representados como média ± EP do peso corporal em gramas com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). \* Nut-C vs. Nut-F; \* Nut-C vs. Desn-C; \* Desn-C vs. Desn-F (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).



**Figura 16**-Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre o peso corporal de ratos aos 30 e 71 dias. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 13 e Desn-F, n= 12, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 9 e Desn-F, n= 12, aos 71 dias) ou solução salina (grupos Nut-C, n=10 e Desn-C, n=12, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=9 e Desn-C, n=11, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média ± EP do peso corporal em gramas com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). **a** Nut-C vs. Nut-F; **b** Nut-C vs. Desn-C; **c** Desn-C vs. Desn-F (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).

### **Peso do coração aos 30 e 71 dias**

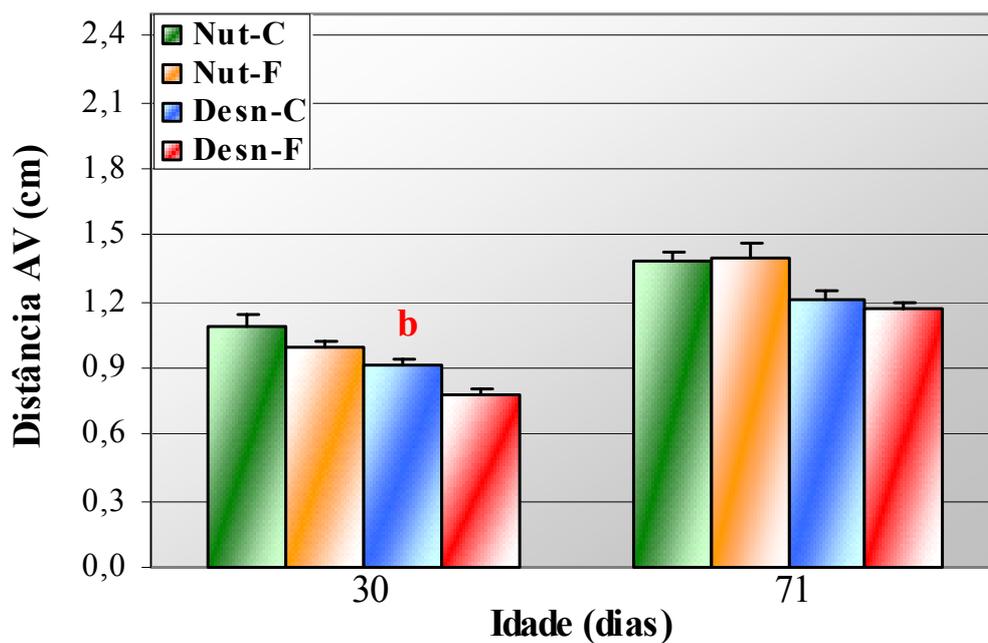
No grupo Nut-F ( $0,39 \pm 0,02$ ) quando comparado ao grupo Nut-C ( $0,47 \pm 0,01$ ), aos 30 dias de vida, houve redução ( $p < 0,05$ ) no peso do coração (g). Aos 71 dias, o grupo Nut-F ( $1,20 \pm 0,08$ ) não diferiu do grupo Nut-C ( $1,31 \pm 0,07$ ). O peso do coração dos animais do grupo Desn-C ( $0,34 \pm 0,02$ ) foi menor ( $p < 0,05$ ) do que os do grupo Nut-C ( $0,47 \pm 0,01$ ), aos 30 dias. Essa redução ( $p < 0,05$ ) também foi encontrada aos 71 dias entre o grupo Desn-C ( $0,95 \pm 0,06$ ) e o grupo Nut-C ( $1,31 \pm 0,07$ ). Houve redução ( $p < 0,05$ ) no peso dos corações do grupo Desn-F ( $0,26 \pm 0,02$ ) em relação aos dos animais do grupo Desn-C ( $0,34 \pm 0,02$ ), aos 30 dias. Essa diferença não estava presente entre o grupo Desn-F ( $0,87 \pm 0,06$ ) e o grupo Desn-C ( $0,95 \pm 0,06$ ), aos 71 dias (Figura 17)



**Figura 17**-Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre o peso do coração de ratos aos 30 e 71 dias. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 13 e Desn-F, n= 12, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 10 e Desn-F, n= 12, aos 71 dias) ou solução salina (grupos Nut-C, n=9 e Desn-C, n=12, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=9 e Desn-C, n=11, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média ± EP do peso cardíaco em gramas com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). **a** Nut-C vs. Nut-F; **b** Nut-C vs Desn-C; **c** Desn-C vs Desn-F (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).

**Distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração (distância AV)  
aos 30 e 71 dias**

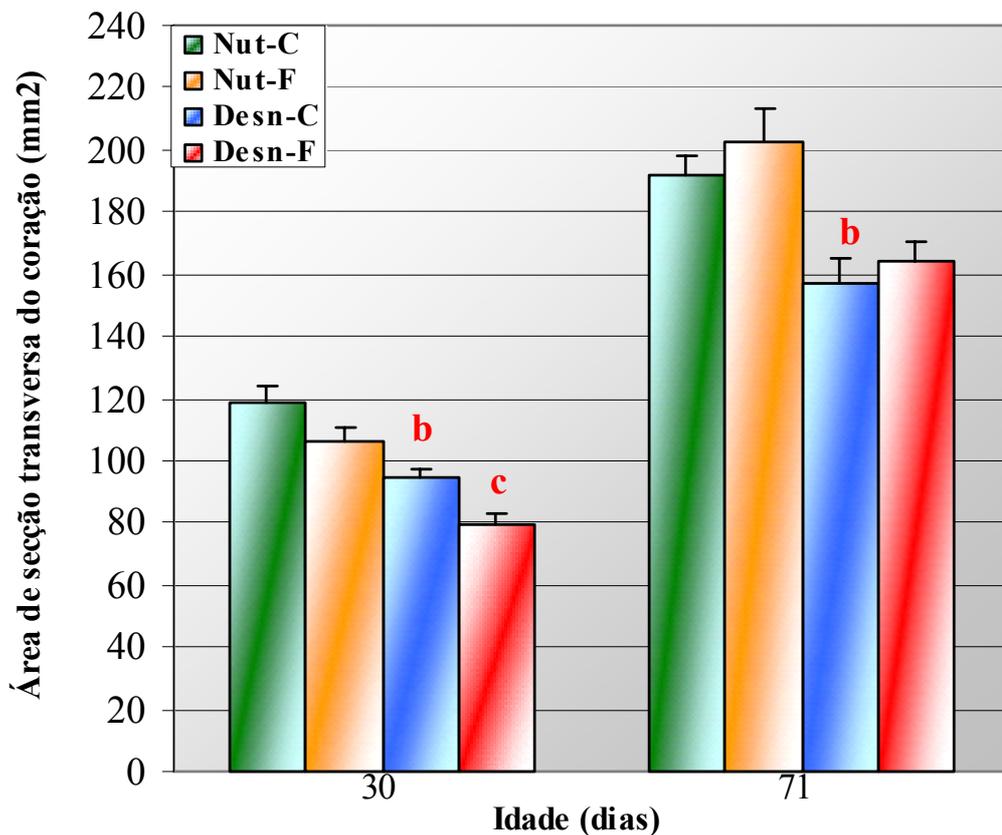
Quanto à distância AV (cm), não foi encontrada diferença aos 30 dias entre os grupos Nut-F ( $1 \pm 0,03$ ) e Nut-C ( $1,09 \pm 0,05$ ). Aos 71 dias, essa distância nos animais do grupo Nut-F ( $1,4 \pm 0,07$ ) não foi diferente dos animais do grupo Nut-C ( $1,38 \pm 0,05$ ). Entretanto, o grupo Desn-C ( $0,91 \pm 0,04$ ) apresentou redução ( $p < 0,05$ ) dessa distância, quando comparado ao grupo Nut-C ( $1,09 \pm 0,05$ ), aos 30 dias. Aos 71 dias, não houve diferença entre os grupos Desn-C ( $1,21 \pm 0,04$ ) e Nut-C ( $1,38 \pm 0,05$ ). A comparação entre o grupo Desn-F ( $0,78 \pm 0,02$ ) e o grupo Desn-C ( $0,91 \pm 0,04$ ) não apresentou diferença, aos 30 dias; o mesmo ocorreu, aos 71 dias, entre os grupos Desn-F ( $1,17 \pm 0,02$ ) e grupo Desn-C ( $1,21 \pm 0,04$ ) (Figura 18).



**Figura 18**-Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre a distância AV de ratos aos 30 e 71 dias. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 13 e Desn-F, n= 12, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 10 e Desn-F, n= 12, aos 71 dias) ou solução salina (grupos Nut-C, n=9 e Desn-C, n=12, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=9 e Desn-C, n=11, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média ± EP da distância AV em centímetros com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). **b** Nut-C vs Desn-C (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).

### **Análise da área de secção transversa do coração**

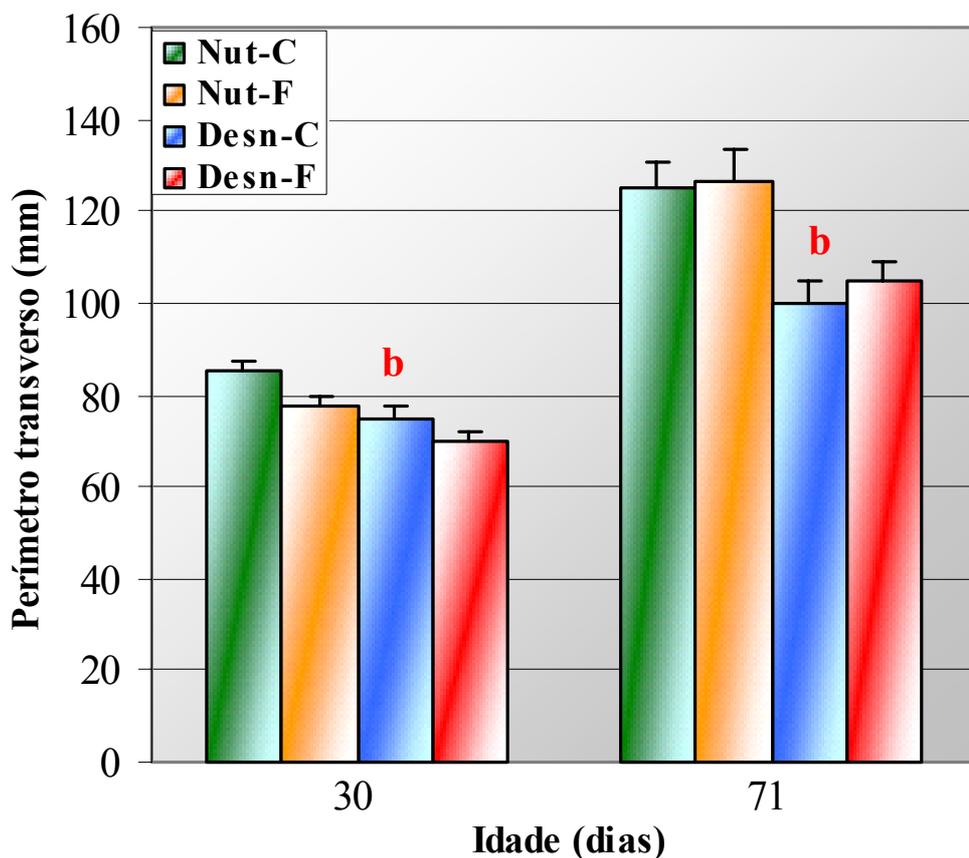
Os animais do grupo Nut-F( $106,54 \pm 3,74$ ) não mostraram diferença na área de secção transversa do coração ( $\text{mm}^2$ ), quando comparados aqueles do grupo Nut-C ( $118,43 \pm 5,41$ ), aos 30 dias. Aos 71 dias, também não houve diferença entre os grupos Nut-F ( $202,26 \pm 10,89$ ) e Nut-C ( $191,47 \pm 6,98$ ). Entretanto, os animais do grupo Desn-C ( $94,89 \pm 2,39$ ) apresentaram uma área menor ( $p < 0,05$ ) do que a dos animais do grupo Nut-C ( $118,43 \pm 5,41$ ), aos 30 dias. Aos 71 dias, a área no grupo Desn-C ( $157,31 \pm 7,62$ ) também foi menor ( $p < 0,05$ ) que no grupo Nut-C ( $191,47 \pm 6,98$ ). Aos 30 dias, houve redução ( $p < 0,05$ ) na área do grupo Desn-F ( $79,69 \pm 3,18$ ) em relação ao grupo Desn-C ( $94,89 \pm 2,39$ ). Essa análise não mostrou diferença, aos 71 dias, entre os grupos Desn-F ( $163,95 \pm 6,44$ ) e o grupo Desn-C ( $157,31 \pm 7,62$ ) (Figura 19).



**Figura 19**-Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre a área de secção transversa do coração aos 30 e 71 dias Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizas que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizas que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 13 e Desn-F, n= 11, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 9 e Desn-F, n= 12, aos 71 dias) ou de solução salina (grupos Nut-C, n=10 e Desn-C, n=12, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=8 e Desn-C, n=11, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média ± EP da área de secção transversa em milímetros com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). **b** Nut-C vs Desn-C; **c** Desn-C vs Desn-F (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).

### **Análise do perímetro transverso do coração**

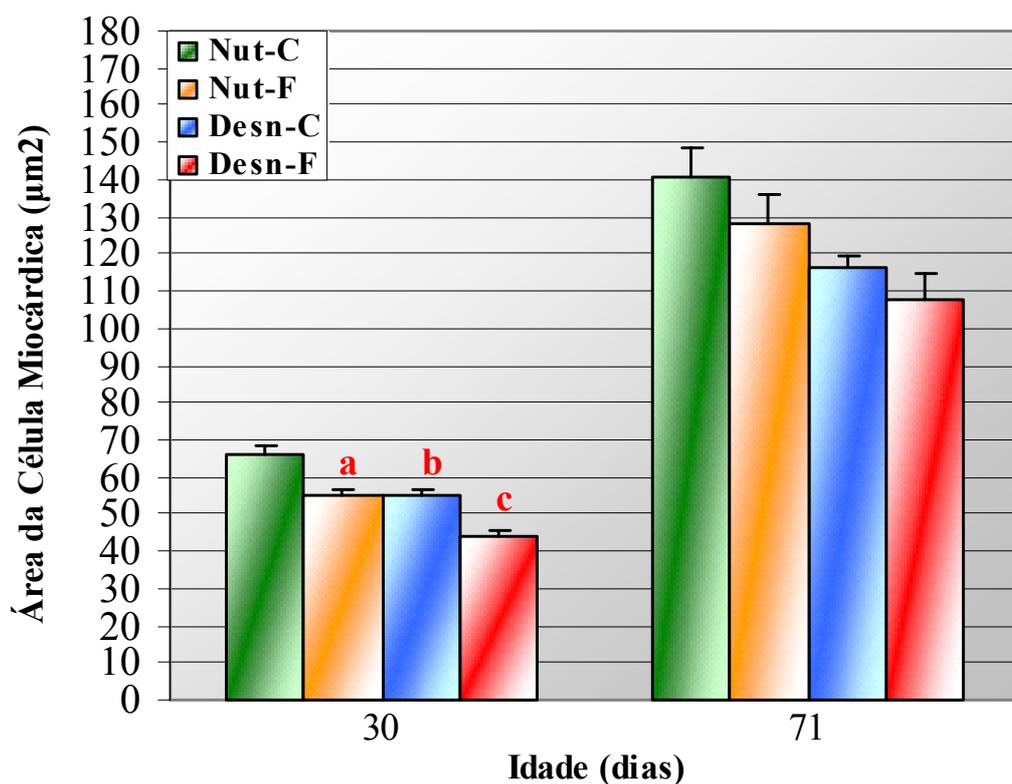
Os animais do grupo Nut-F ( $77,49 \pm 1,94$ ) não apresentaram diferença em relação àqueles do grupo Nut-C ( $84,94 \pm 2,66$ ), aos 30 dias, quanto ao perímetro transverso do coração (cm). Aos 71 dias, também não existiu diferença entre os grupos Nut-F ( $126,26 \pm 7,18$ ) e Nut-C ( $125,25 \pm 5,55$ ). Entretanto, os animais do grupo Desn-C ( $74,48 \pm 2,87$ ) apresentaram um perímetro menor ( $p < 0,05$ ), em relação ao grupo Nut-C ( $84,94 \pm 2,66$ ), aos 30 dias e também aos 71 dias de vida entre os mesmos grupos Desn-C ( $100,13 \pm 4,8$ ) e Nut-C ( $125,25 \pm 5,55$ ). Não houve diferença entre o grupo Desn-F ( $69,63 \pm 2,68$ ) e o grupo Desn-C ( $74,48 \pm 2,87$ ), aos 30 dias. O mesmo ocorreu entre os grupos Desn-F ( $105,081 \pm 3,93$ ) e o grupo Desn-C ( $100,13 \pm 4,8$ ), aos 71 dias (Figura 20).



**Figura 20**-Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre o perímetro transverso do coração aos 30 e 71 dias. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 10 e Desn-F, n= 10, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 9 e Desn-F, n= 12, aos 71 dias) ou de solução salina (grupos Nut-C, n=10 e Desn-C, n=11, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=8 e Desn-C, n=11, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média ± EP do perímetro transverso em milímetros com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). **b** Nut-C vs Desn-C (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).

### **Avaliação da área das células miocárdicas**

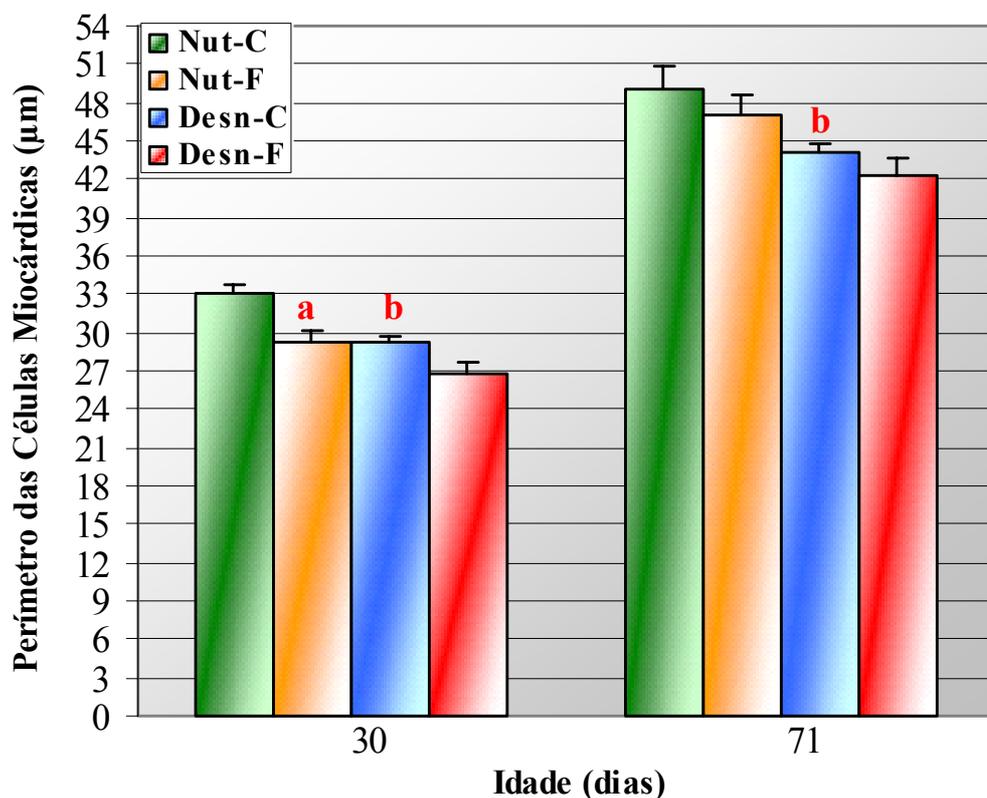
A área das células miocárdicas ( $\mu\text{m}^2$ ) do grupo Nut-F ( $55,23 \pm 1,74$ ), aos 30 dias, foi menor ( $p < 0,05$ ) que no grupo Nut-C ( $65,85 \pm 2,24$ ) (Figuras 23A e 23B). Aos 71 dias, entretanto, não houve diferença entre os grupos Nut-F ( $127,89 \pm 7,83$ ) e Nut-C ( $140,54 \pm 7,8$ ). A comparação, aos 30 dias, do grupo Desn-C ( $55,15 \pm 1,43$ ) em relação ao grupo Nut-C ( $65,85 \pm 2,24$ ) mostrou diminuição ( $p < 0,05$ ) na área das células (Figura 23A e 23C). Essa comparação, aos 71 dias não apresentou diferença entre o grupo Desn-C ( $116,48 \pm 3,09$ ) e o grupo Nut-C ( $140,54 \pm 7,8$ ). O grupo Desn-F ( $43,66 \pm 2,25$ ), aos 30 dias, apresentou uma redução ( $p < 0,05$ ) na área das células miocárdicas em relação ao grupo Desn-C ( $55,15 \pm 1,43$ ) (Figura 23C e 23D). Aos 71 dias, os grupos Desn-F ( $107,67 \pm 6,72$ ) e Desn-C ( $116,48 \pm 3,09$ ) não diferiram (Figura 21).



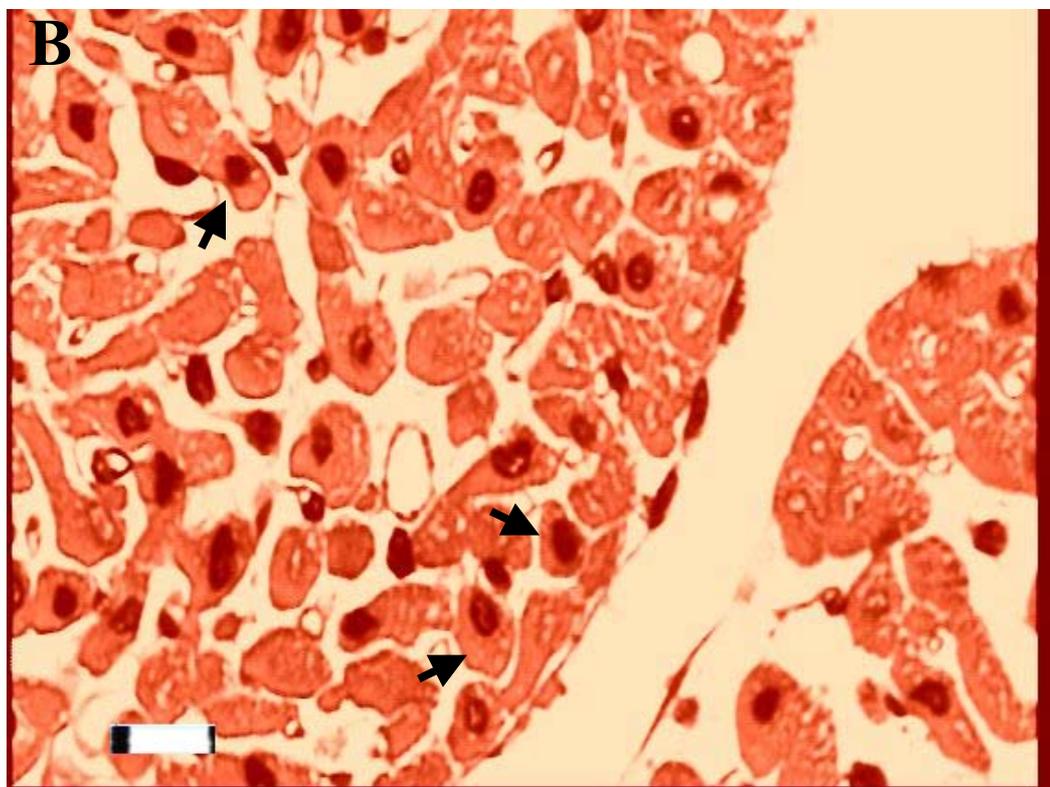
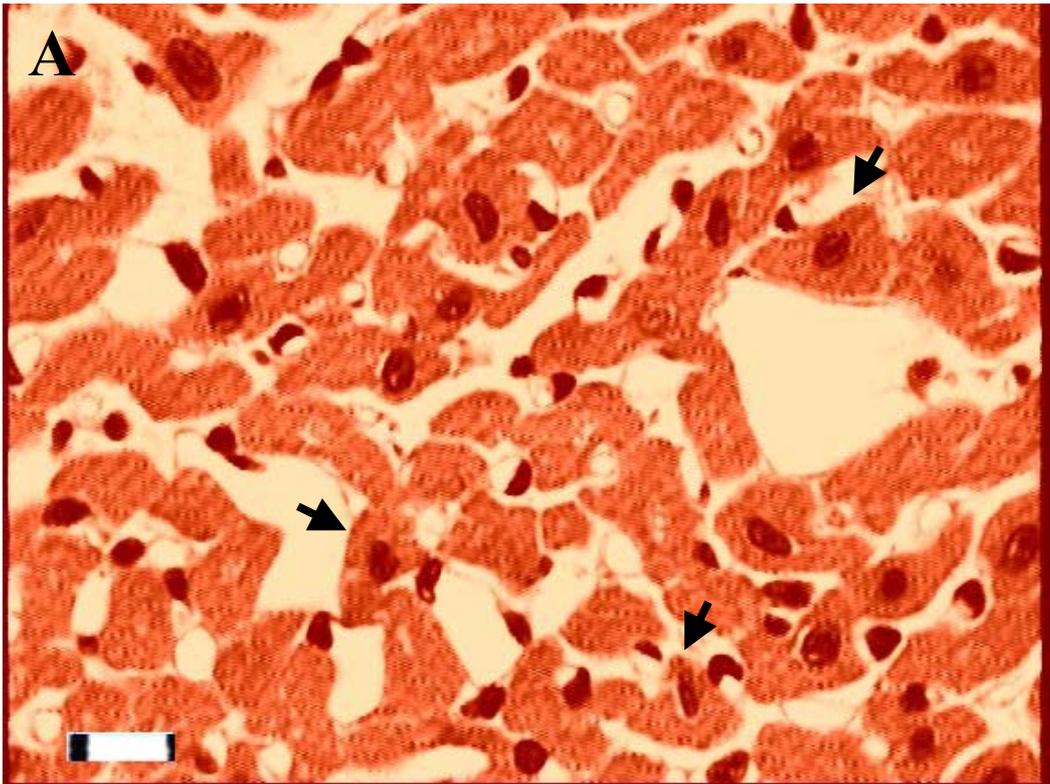
**Figura 21**-Efeitos da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre área das células miocárdicas aos 30 e 71 dias. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 71 dias) ou solução salina (grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=6, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=7, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média ± EP da área das células em micrômetros quadrados com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). **a** Nut-C vs Nut-F; **b** Nut-C vs Desn-C; **c** Desn-C vs Desn-F (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).

### **Avaliação do perímetro das células miocárdicas**

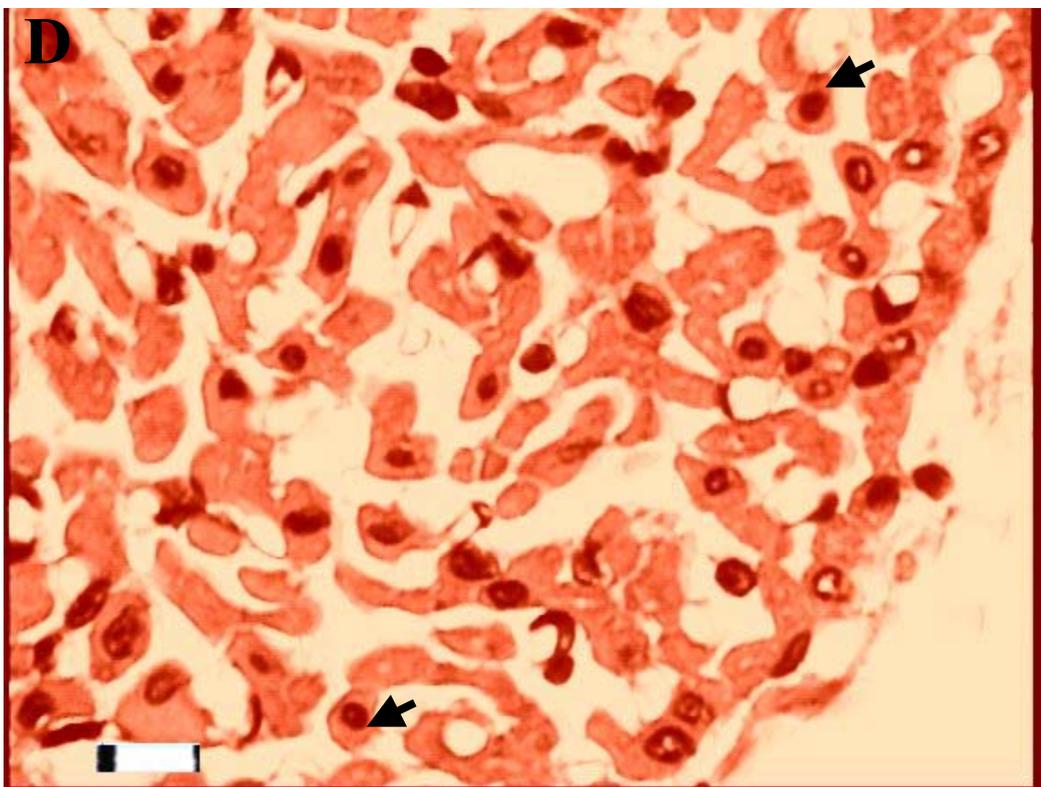
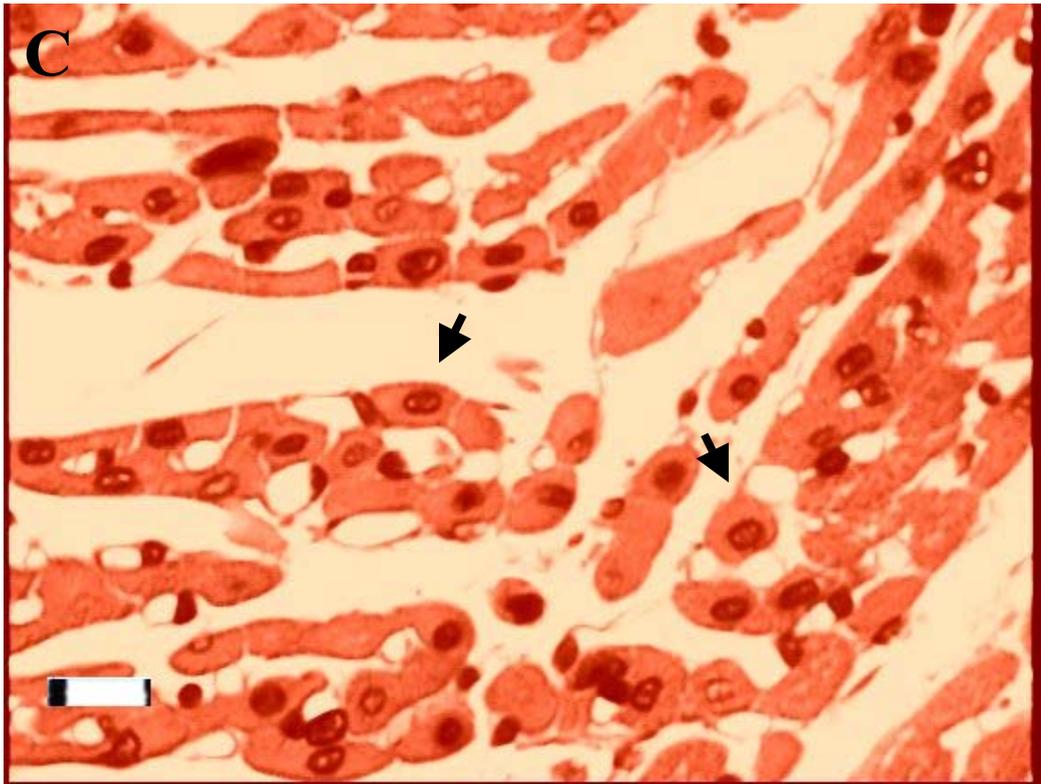
No grupo Nut-F ( $29,15 \pm 0,97$ ) houve uma redução ( $p < 0,05$ ) no perímetro das células miocárdicas ( $\mu\text{m}$ ), quando comparadas ao grupo Nut-C ( $32,98 \pm 0,68$ ), aos 30 dias (Figura 23A e 23B). Enquanto que, aos 71 dias, não houve diferença entre os grupos Nut-C ( $49,16 \pm 1,67$ ) e Nut-F ( $47,07 \pm 1,5$ ). O perímetro das células miocárdicas mostrou-se menor ( $p < 0,05$ ) no grupo Desn-C ( $29,36 \pm 0,4$ ) em relação ao grupo Nut-C ( $32,98 \pm 0,68$ ), aos 30 dias (Figura 23A e 23C). Aos 71 dias, essa diminuição ( $p < 0,05$ ) também ocorreu no grupo Desn-C ( $44,13 \pm 0,63$ ) em relação Nut-C ( $49,16 \pm 1,67$ ) (Figura 24A e 24B). Entre os grupos Desn-F ( $26,69 \pm 0,97$ ) e Desn-C ( $29,36 \pm 0,4$ ) não houve diferença, aos 30 dias. O mesmo aconteceu, aos 71 dias, entre os grupos Desn-F ( $42,28 \pm 1,29$ ) e Desn-C ( $44,13 \pm 0,63$ ) que também não diferiram (Figura 22).



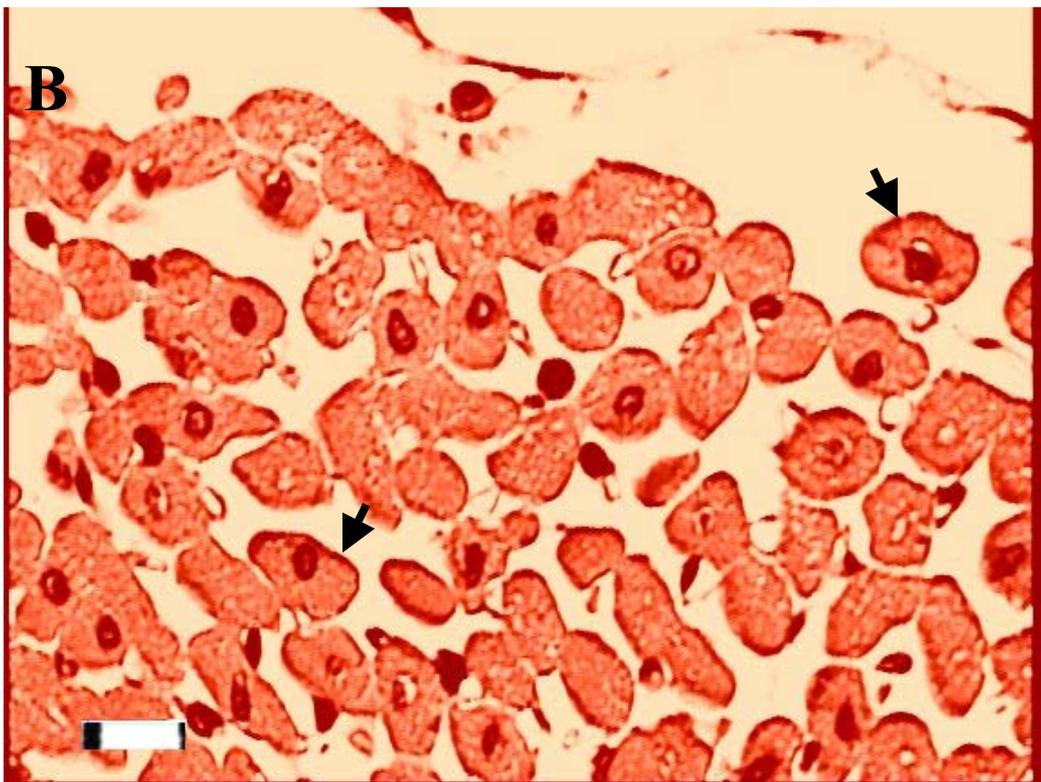
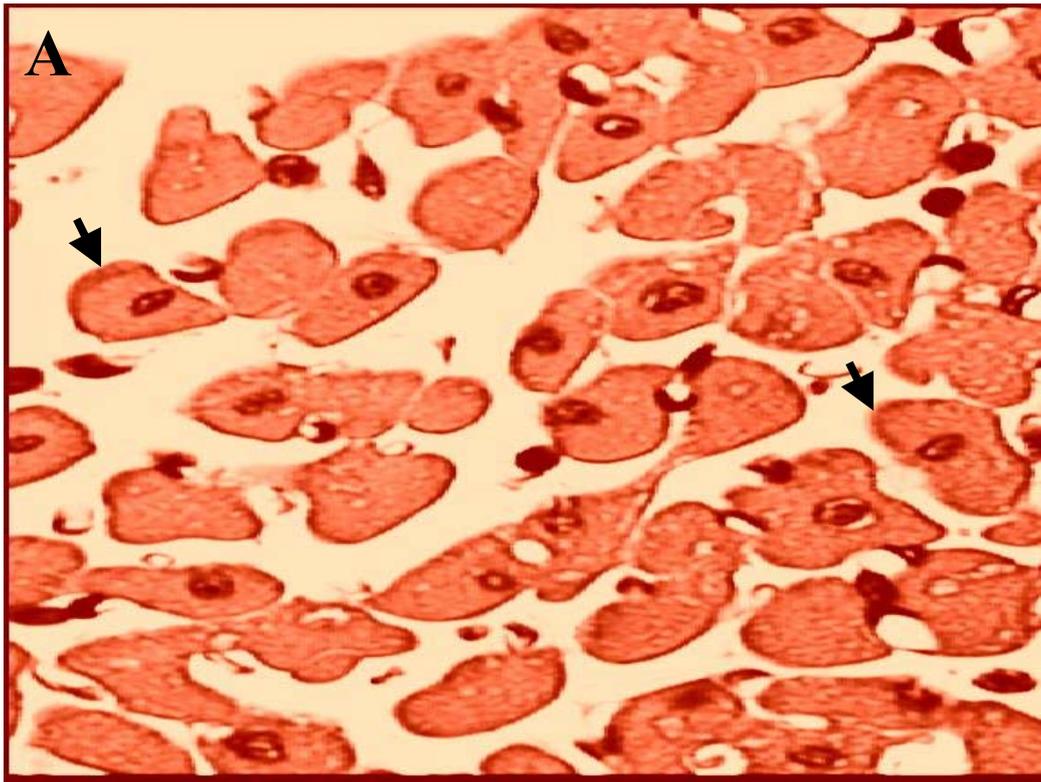
**Figura 22**-Efeitos da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre o perímetro das células miocárdicas aos 30 e 71 dias Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 71 dias) ou solução salina (grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=6, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=7, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média ± EP do perímetro das células em micrômetros com um nível de significância ( $p < 0,05$ ). **a** Nut-C vs Nut-F; **b** Nut-C vs Desn-C (foi utilizada ANOVA seguida do teste de Tukey).



**Figuras 23A e B-**Fotomicrografias das células miocárdicas aos 30 dias de vida, coradas com Hematoxilina-Eosina (HE), ampliação de 400 $\times$ ; escala 10 $\mu$ m. Em **A**, células miocárdicas do grupo Nut-C (setas); em **B**, células miocárdicas do grupo Nut-F (setas).



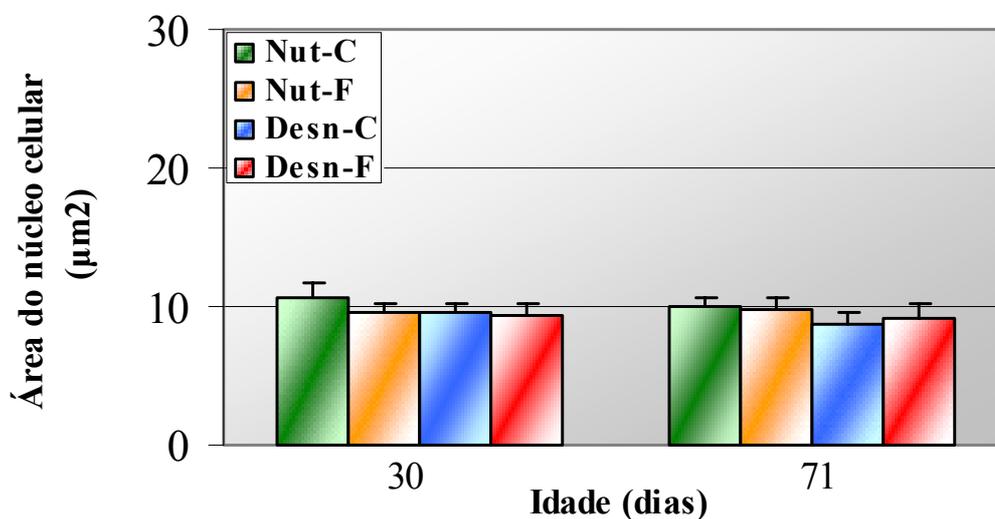
**Figura 23C e D-**Fotomicrografias das células miocárdicas aos 30 dias de vida, coradas com Hematoxilina-Eosina (HE), ampliação de 400 $\times$ ; escala 10 $\mu$ m. Em **C**, células miocárdicas do grupo Desn-C(setas);em **D**, células miocárdicas do grupo Desn-F(setas).



**Figura 24C e D-**Fotomicrografias das células miocárdicas aos 71 dias de vida, coradas com Hematoxilina-Eosina (HE), ampliação de 400 $\times$ ; escala 10 $\mu$ m. Em **A**, células miocárdicas do grupo Nut-C (setas); em **B**, células miocárdicas do grupo Desn-C (setas).

## Análise da área dos núcleos das células miocárdicas

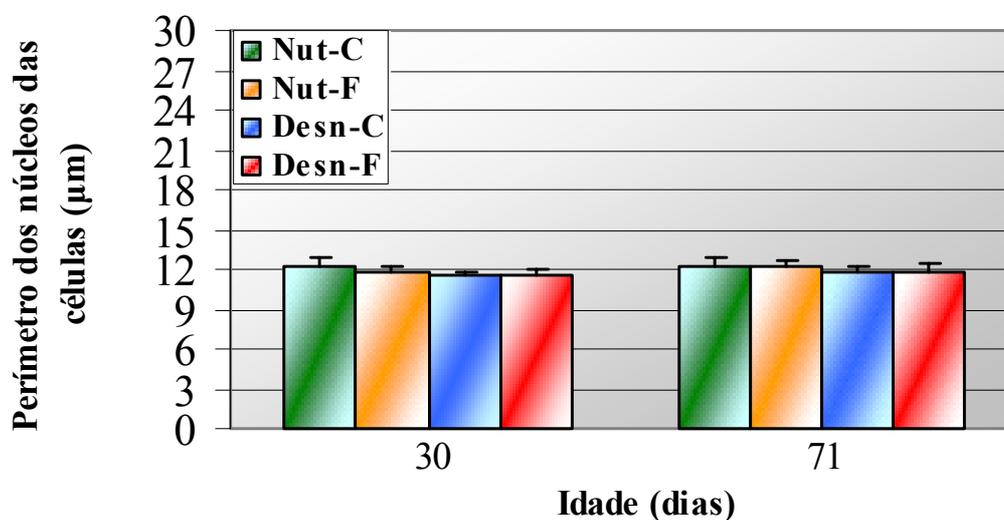
A área dos núcleos celulares ( $\mu\text{m}^2$ ) do grupo Nut-F ( $9,64 \pm 0,61$ ) não apresentou diferença em relação ao grupo Nut-C ( $10,69 \pm 1,03$ ), aos 30 dias. O mesmo ocorreu aos 71 dias, entre os grupos Nut-F ( $9,85 \pm 0,86$ ) e Nut-C ( $9,95 \pm 0,68$ ). Os grupos Desn-C ( $9,63 \pm 0,5$ ) e Nut-C ( $10,69 \pm 1,03$ ), aos 30 dias, não diferiram. Aos 71 dias, os grupos Desn-C ( $8,81 \pm 0,68$ ) e Nut-C ( $9,95 \pm 0,68$ ) também não diferiram. Ao se comparar os grupos Desn-F ( $9,46 \pm 0,7$ ) e Desn-C ( $9,63 \pm 0,5$ ), aos 30 dias, não houve diferença. Isso também aconteceu, aos 71 dias, entre os grupos Desn-F ( $9,24 \pm 0,92$ ) e Desn-C ( $8,81 \pm 0,68$ ) (Figura 25).



**Figura 25**-Efeitos da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre área dos núcleos das células miocárdicas aos 30 e 71 dias. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 71 dias) ou solução salina (grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=6, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=7, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média  $\pm$  EP da área dos núcleos das células em micrômetros.

## Análise do perímetro dos núcleos das células miocárdicas

Os animais do grupo Nut-F ( $11,78 \pm 0,45$ ) não diferiram dos animais do grupo Nut-C ( $12,23 \pm 0,63$ ), aos 30 dias, quanto ao perímetro dos núcleos das células miocárdicas ( $\mu\text{m}$ ). O mesmo aconteceu, aos 71 dias, entre Nut-F ( $12,25 \pm 0,49$ ) e Nut-C ( $12,33 \pm 0,5$ ). Aos 30 dias, a comparação entre Desn-C ( $11,57 \pm 0,32$ ) e Nut-C ( $12,23 \pm 0,63$ ) não mostrou diferença. Aos 71 dias, esses grupos Desn-C ( $11,72 \pm 0,42$ ) e Nut-C ( $12,33 \pm 0,5$ ) também não diferiram. Ao se comparar os grupos Desn-F ( $11,58 \pm 0,42$ ) e Desn-C ( $11,57 \pm 0,32$ ) não foi encontrada diferença, aos 30 dias. Isso também ocorreu, aos 71 dias, entre os grupos Den-F ( $11,81 \pm 0,62$ ) e Desn-C ( $11,72 \pm 0,42$ ) (Figura 26).



**Figura 26**-Efeitos da desnutrição e/ou administração de fluoxetina sobre o perímetro dos núcleos das células miocárdicas aos 30 e 71 dias Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina (grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 30 dias e grupos Nut-F, n= 6 e Desn-F, n= 6, aos 71 dias) ou solução salina (grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=6, aos 30 dias e grupos Nut-C, n=6 e Desn-C, n=7, aos 71 dias), diariamente do 1º ao 21º dia de idade. Os dados estão representados como média  $\pm$  EP do perímetro das células em micrômetros.

### **Relação peso do coração/peso corporal (PCa/PC)**

A relação PCa/PC dos animais do grupo Nut-F ( $0,005 \pm 0,0003$ ) não mostrou diferença, quando comparada ao grupo Nut-C ( $0,005 \pm 0,0001$ ), aos 30 dias. Aos 71 dias, também não houve diferença entre os grupos Nut-F ( $0,004 \pm 0,0003$ ) e Nut-C ( $0,004 \pm 0,0001$ ). Entretanto, aos 30 dias a relação Pca/PC foi maior ( $p < 0,05$ ) no grupo Desn-C ( $0,006 \pm 0,0002$ ), quando comparado ao grupo Nut-C ( $0,005 \pm 0,0001$ ). Aos 71 dias, essa relação não mostrou diferença entre os grupos Desn-C ( $0,004 \pm 0,0002$ ) e Nut-C ( $0,004 \pm 0,0001$ ). A comparação entre os grupos Desn-F ( $0,006 \pm 0,0003$ ) e Desn-C ( $0,006 \pm 0,0002$ ), aos 30 dias, não mostrou diferença; o mesmo ocorreu entre os grupos Desn-F ( $0,004 \pm 0,0002$ ) e Desn-C ( $0,004 \pm 0,0002$ ), aos 71 dias (Tabela 3).

**Tabela 3**-Efeitos da desnutrição e/ou do tratamento com fluoxetina sobre a relação Pca/PC aos 30 e 71 dias. Os animais nutridos (Nut) foram amamentados por nutrizes que recebiam dieta controle (Labina) com 23% de proteínas, dieta normoprotéica e os animais desnutridos (Desn) foram amamentados por nutrizes que após o parto, receberam dieta hipoprotéica (Dieta Básica Regional – DBR), contendo 8% de proteína. Os animais Nut e Desn receberam, via s.c., 10mg/kg de fluoxetina ou solução salina, diariamente do 1º ao 21º dia.

Grupos	30 dias		71 dias	
	Nutrido	Desnutrido	Nutrido	Desnutrido
<b>Relação PCa/PC</b>				
<b>Controle</b>	n=9	n=11	n=9	n=11
	0,005 ± 0,0003	<b>0,006 ± 0,0002<sup>b</sup></b>	0,004 ± 0,0003	0,004 ± 0,0002
<b>Fluoxetina 10mg</b>	n=12	n=10	n=10	n=12
	0,005 ± 0,0001	0,006 ± 0,0003	0,004 ± 0,0001	0,004 ± 0,0002

Os dados estão representados como média ± EP com um nível de significância p<0,05. **b** Nut-C vs Desn-C (foi utilizada ANOVA, seguida do teste de Tukey).

# Discussão

## Discussão

O presente trabalho demonstrou que a administração de um inibidor seletivo da recaptação da serotonina (ISRS), durante o período de aleitamento, promoveu um déficit precoce no crescimento do coração. Além de promover uma redução na área e no perímetro das células miocárdicas, no período inicial do desenvolvimento. Esses resultados podem estar relacionados ao aumento da disponibilidade sináptica da serotonina por influência dos ISRS (SÁNCHEZ; HYTTEL, 1994). A manipulação farmacológica do sistema serotoninérgico em ratos neonatos pode resultar em alterações duradouras em sistemas fisiológicos, como o sistema nervoso (MANHÃES DE CASTRO *et al.*, 1993).

A desnutrição pela dieta básica regional (DBR), também durante o período de aleitamento, promoveu uma redução no crescimento corporal e do coração, mesmo após um período de recuperação nutricional. Na análise microscópica, observou-se uma redução na área, na fase inicial do desenvolvimento, e no perímetro das células miocárdicas.

A administração de um ISRS associada à desnutrição, no período neonatal, levou a um déficit precoce no crescimento corporal e cardíaco. Também, ao nível celular, promoveu uma redução precoce na área das células miocárdicas. No entanto, a desnutrição e/ou o tratamento farmacológico não causou alterações nas análises morfométricas dos núcleos das células cardíacas.

A redução do peso corporal nos ratos nutridos tratados com fluoxetina (ISRS) numa fase precoce da vida pode estar associada à relação existente entre a atividade serotoninérgica e a ingestão alimentar (BLUNDELL; LAWTON; HALFORD, 1995; HALFORD; BLUNDELL, 1996). Ademais, as manipulações nutricionais são capazes

de alterar a sensibilidade da rede serotoninérgica (HALEEN; HAIDER, 1996; ISHIDA; NAKAJIMA; TAKADA, 1997).

Trabalhos têm mostrado que o tratamento com fluoxetina na dose 10mg/kg, durante o período pós-natal em ratos, pode promover redução no peso corporal (MENDES DA SILVA *et al.*, 2000; MARINHO, 2004). A administração de fluoxetina nesta mesma dose pode suprimir a ingestão alimentar (HALFORD e BLUNDELL, 1996). Portanto, a redução ponderal pode ser devido à interferência dessa droga na disponibilidade sináptica da 5-HT o que pode alterar a ingestão alimentar e o ganho de peso (SIMANSKY, 1996; SUGRUE, 1987; DOURISH; HUTSON; CURZON, 1985).

A redução ponderal em animais tratados cronicamente com ISRS pode estar relacionada também às agressões ocorridas na morfologia intestinal (MOTA *et al.*, 2000; MARINHO, 2004). O uso de ISRS, durante o aleitamento, promove reduções na altura das vilosidades intestinais (MOTA *et al.*, 2000) e no comprimento do intestino delgado (MARINHO 2004), além de causar alterações morfológicas nos neurônios do plexo mioentérico (MARINHO, 2004). Essas alterações intestinais podem diminuir a absorção intestinal e, conseqüentemente, levar a perda ponderal e ao crescimento corporal diminuído.

A manipulação farmacológica neonatal do mesmo modo que em relação ao peso corporal também pode reduzir o peso cardíaco aos 30 dias de vida, porém não houve diferença em relação aos animais não tratados, quando esse peso foi relacionado ao peso corporal (relação PCa/PC). Os achados aqui apresentados corroboram os dados encontrados por Deiró *et al.* (2002) em estudo sobre o efeito do citalopram (ISRS), durante o período neonatal, sobre o desenvolvimento de órgãos e tecidos na idade adulta (120 dias de vida). Esses autores encontraram um retardo no crescimento de órgãos, entre eles o coração, porém não houve diferença no peso relativo desse órgão (peso do

órgão/peso corporal). Dessa forma, diante dos resultados apresentados por Deiró *et al.* (2002) e dos encontrados no presente trabalho, o coração parece acompanhar, de forma proporcional, a redução do peso corporal. O uso de ISRS neonatal pode ter provocado alterações no crescimento somático e de alguns órgãos em ratos tratados (DEIRÓ *et al.*, 2002).

Estudos evidenciam um efeito estimulante da serotonina sobre o crescimento em tipos celulares, tais como: os fibroblastos pulmonares (SEUWEN; MAGNALDO; POUYSSEGUR, 1988), as células renais mesangiais (TAKURA *et al.*, 1989) e células do jejuno (TUTTON; BARKLA, 1986). Há evidências também de estímulo pela 5-HT do crescimento de células musculares lisas vasculares (NEMECEK *et al.*, 1986) e de células endoteliais (PAKALA; WILLERSON; BENEDICT, 1994) dependendo de sua concentração e da duração da ação (WHITAKER-AZMITIA *et al.*, 1996). Contudo, no presente estudo, o crescimento cardíaco após o tratamento farmacológico com ISRS, durante o período neonatal, não apresentou alterações na distância AV, na área de secção transversa e no perímetro do órgão nem aos 30 nem aos 71 dias de vida.

A manipulação serotoninérgica, durante o período embrionário, no entanto, pode induzir defeitos morfológicos no coração (CHOI *et al.*, 1997). Em camundongos, a ritanserina, antagonista para o subtipo de receptor 5-HT<sub>2B</sub>, induz a diminuição na espessura da parede ventricular, distensão da camada epicardial do ventrículo e torna a camada subepicardial fina (CHOI *et al.*, 1997). A mutação do receptor 5-HT<sub>2B</sub>, por sua vez, promove dilatação das câmaras e diminuição da massa ventricular do coração, seqüelas evidenciadas após seis semanas de vida (NEGIBIL *et al.*, 2000).

A avaliação do crescimento celular cardíaco, diante da manipulação farmacológica neonatal no presente trabalho, permitiu observar que há uma diminuição na área de secção transversa e no perímetro das células cardíacas numa fase precoce.

Esses achados podem ser relacionados a agressões celulares promovidas por ISRS em embriões de camundongos (YAVARONE *et al.* 1993). Esses autores encontraram que a fluoxetina inibia a proliferação celular do mesênquima, do endocárdio e do miocárdio. A serotonina, durante o desenvolvimento craniofacial e cardíaco do embrião, participa da proliferação celular, da migração, da morfogênese tecidual e da expressão de fatores de crescimento, de células de adesão e de moléculas da matrix extracelular (SHUEY *et al.*, 1993; MOISEIWITSCH e LAUDER, 1995; CHOI *et al.*, 1997; MOISEIWITSCH *et al.*, 1998; LAMBERT e LAUDER, 1999).

Ainda em relação às agressões celulares após manipulação do sistema serotoninérgico, foi observado que em camundongos adultos que sofreram mutação no receptor 5-HT<sub>2B</sub>, houve adelgaçamento da parede e diminuição da massa ventricular cardíaca (NEGIBIL *et al.*, 2001b). Mudanças que parecem ser causadas por dois mecanismos complementares: dano às células do miocárdio ou diminuição em seus tamanhos (NEGIBIL *et al.*, 2001b). O dano primário às células miocárdicas poderia ser devido, principalmente, à proliferação prejudicada dessas células e não a apoptose (NEGIBIL *et al.*, 2001b). Já a diminuição no tamanho das células pode ser devido ao crescimento prejudicado durante o desenvolvimento pós-natal (NEGIBIL *et al.*, 2001b).

Em relação a ação de inibidores da recaptação da serotonina no desenvolvimento cardíaco, também foi observado que esses inibidores diminuem a taxa de proliferação das células cardíacas fetais, principalmente das células miocárdicas e em menor grau das células cardíacas não-musculares (SARI e ZHOU, 2003). Segundo esses autores, a exposição das células cardíacas fetais à serotonina aumenta a sua proliferação, enquanto níveis maiores que os níveis fisiológicos diminuem essa proliferação. Diante disso, níveis ótimos de serotonina podem ser mitogênicos, porém altas concentrações seriam inibitórias (YAVARONE *et al.*, 1993; SARI e ZHOU, 2003).

Trabalhos têm mostrado que a administração de ISRS, durante o período pós-natal, ocasionou redução nos eixos do crânio no rato, assim como prejuízo ao crescimento em geral (DEIRÓ, 1998; MARINHO, 2004). Esses resultados, em concordância com os encontrados no presente estudo, sugerem a participação da 5-HT nos eventos celulares, relacionados ao crescimento, também no período pós-natal. No entanto, não foram observadas alterações nas dimensões dos núcleos das células miocárdicas, após o tratamento neonatal com ISRS.

A avaliação da manipulação serotoninérgica neonatal não causou danos tardios ao crescimento cardíaco. Entretanto, a análise dos efeitos da manipulação serotoninérgica neonatal sobre outros tecidos, como o intestino, mostram que essa agressão pode induzir a diminuição do número das células nervosas mioentéricas, bem como redução na área e no perímetro desses neurônios aos 75 dias de vida pós-natal (MARINHO, 2004).

Tanto a manipulação farmacológica como as carências nutricionais, durante o período neonatal, resultaram em alterações no desenvolvimento corporal e cardíaco. A desnutrição pós-natal também provocou redução do peso corpóreo. Essa redução teve início a partir do 4º dia e essa alteração persistiu até a idade adulta. Outros autores também encontraram redução no peso corporal, em ratos desnutridos durante a fase pós-natal (período de lactação) a partir do 5º dia de vida (SOBOTKA; COOK; BRODIE, 1974; HISATOMI e NHYAMA, 1980).

A DBR, dieta carencial utilizada no presente trabalho, também foi objeto de estudo no trabalho de Barros (1999). Essa autora encontrou uma redução no peso corporal em ratos desnutridos durante o período de lactação, ainda mais precoce, já a partir do 2º dia pós-natal, continuando até a idade adulta.

O modelo de desnutrição foi induzido num momento de depleção das reservas maternas, comum ao final do período gestacional e agravado pelo elevado gasto energético, durante o parto (MORGANE *et al.*, 1978; QUEK e TRAYHURN, 1990). Dessa forma, recuperação nutricional após o parto com a DBR, uma dieta hipoprotéica, (TEODÓSIO *et al.*, 1990) pode ter influenciado a qualidade do leite materno (STURMAN *et al.*, 1986). Em ratas lactantes desnutridas foi observada uma redução nas quantidades relativas das proteínas (STURMAN *et al.*, 1986). Isto pode ser agravado pela diminuição no tamanho das glândulas mamárias e pela pequena quantidade de leite coletado nas ratas desnutridas o que sugere uma redução na quantidade de leite produzido (MARÍN *et al.*, 1995). O período perinatal é visto como um stress fisiológico também para o neonato (BOXWELL; AYSON; RAMENOFISKY, 1995). Assim, considerando que a taxa do aumento ponderal do filhote neste período é bastante elevada, a falta de uma ingestão alimentar com qualidade concorrerá para uma redução no peso corporal (RESNICK *et al.*, 1979).

Os efeitos da desnutrição, durante o período neonatal, sobre a massa cardíaca também foram avaliados, sendo constatado uma redução dos pesos dos corações. A relação PCa/PC entre a massa cardíaca e o peso corporal também foi estimada. Essa relação, segundo Pessoa (1997), pode nos fornecer valiosas informações a respeito da capacidade de adaptação do rato ao estresse nutricional, bem como da duração e severidade da deficiência imposta. No presente estudo, a relação PCa/PC, na fase inicial do desenvolvimento (aos 30 dias de vida), aumentou. Entretanto, numa fase tardia (71 dias), esse aumento não foi encontrado.

Corroborando os achados do presente estudo, numa fase precoce da vida, logo após o período de agressão nutricional, observou-se que indivíduos subnutridos têm corações menos pesados e um maior coeficiente PCa/PC que os não-subnutridos

(CUNHA *et al.*, 1998; CUNHA *et al.*, 2002). Dados semelhantes foram encontrados em ratos, após seis semanas de restrição protéica (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA,1980; ROSSI *et al.*,1980). Saraiva (1990) também observou, em crianças com desnutrição calórico-protéica, uma redução em todas as medidas do ecocardiograma, inclusive da massa do ventrículo esquerdo. Entretanto, quando relacionadas à superfície corporal, essas medidas mostravam-se maiores (exceto a massa ventricular esquerda por metro quadrado).

O aumento na relação PCa/PC foi interpretado como uma manifestação de relativa preservação cardíaca em relação à intensidade da perda de peso corporal (SARAIVA, 1990). Essa relativa preservação pode estar relacionada ao catabolismo preferencial de outros tecidos, como gordura e reservas de glicogênio, adquiridas durante a gestação (FIORETTO *et al.*, 2002). Em conjunto, outros trabalhos sugerem que, na adaptação cardíaca à desnutrição, ocorreria uma hipotrofia de miócitos, porém o mesmo parece não ocorrer aos outros componentes estruturais do coração, sendo observado aumento do tecido conjuntivo (CUNHA *et al.*, 2002), em especial, aumento do interstício (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA,1980, 1980; ROSSI *et al.*, 1980; FIORETTO *et al.*, 2002), e da densidade capilar (VANDEWOUDE e BUYSENS, 1992b).

Em oposição a esses estudos, outros autores mostram, em ratos desnutridos do nascimento a 10<sup>o</sup> semana de vida, que não há diferença na relação PCa/PC e o coração diminui de forma proporcional ao peso corporal (FIORETTO *et al.*, 2002). Outros autores observaram que a desnutrição pela DBR no período pós-natal, promove uma diminuição no peso cardíaco de ratos adultos (MONTEIRO *et al.*, 2001). Segundo esses autores, parece haver um paralelismo entre redução do peso cardíaco e corporal, pois

não foram encontradas diferenças na relação peso cardíaco/ peso corporal, o que confirma os achados desse trabalho em relação aos efeitos tardios da desnutrição.

No presente estudo, a desnutrição, durante os primeiros 21 dias de vida, diminuiu a distância AV, numa fase precoce da vida, e reduziu, de modo permanente, a área de secção transversa e o perímetro transverso do coração. Sobre esse aspecto morfológico, autores observaram que a subnutrição experimental em cães afeta a espessura das paredes cardíacas (ALDEN *et al.*, 1987). Também em estudo ecocardiográfico em pacientes com kwashiorkor houve redução da espessura do septo (BERGMAN *et al.*, 1988) e paredes ventriculares (BERGMAN *et al.*, 1988; SARAIVA, 1990). Vários autores têm tentado explicar a diminuição das paredes do ventrículo induzida pela desnutrição. Essas explicações incluem: deficiência para distribuir os requerimentos metabólicos ao miocárdio (ST. JOHN SUTTON *et al.*, 1985), diminuição na síntese dos componentes miofibrilares (SAMAREL *et al.*, 1987), levando a diminuição das miofibrilas (RAMIREZ-DE-MARTENS; MARTENS COOK; PALACIOS-PRU, 1998) e aumento no catabolismo protéico miofibrilar, secundário ao aumento da atividade das proteinases lisossômicas (WILDENTHAL *et al.*, 1975).

Essas alterações no metabolismo das células miocárdicas também afetam as dimensões celulares. Ao nível celular, a desnutrição pela DBR, durante o aleitamento, causou alterações nas células miocárdicas, ao diminuir a área, numa fase precoce da vida, e o perímetro dessas células de forma permanente. Os dados do presente estudo confirmam os achados de outros autores que observaram redução na área de secção (FIORETTO *et al.*, 2002), no diâmetro (ABEL *et al.*, 1979; PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA, 1980; ROSSI *et al.*, 1980), no volume (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA, 1980) e na espessura das células miocárdicas em ratos desnutridos (CUNHA *et al.*, 1998).

A análise dos núcleos das células desnutridas, durante o período neonatal, no entanto, não mostrou alterações. Dados semelhantes aos apresentados no presente estudo foram encontrados as quais sugerem que isso se deva a manutenção do potencial recuperativo do coração (CUNHA *et al.*, 1998). No entanto, outros estudos mostram que, em ratos desnutridos, os núcleos apresentavam-se pequenos e picnóticos (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA, 1980; ROSSI *et al.*, 1980). Outros trabalhos mostram que não há alterações na fração de volume dos núcleos no período neonatal, porém, numa fase tardia (após 16 semanas), ocorre redução dessa fração de volume nuclear nos ratos desnutridos numa fase precoce da vida (VANDEWOUDE e BUYSENS, 1992a).

A associação do tratamento farmacológico à desnutrição, no entanto, não causou alterações na distância AV e no perímetro transverso do coração, nem no perímetro das células miocárdicas. A responsividade de ratos desnutridos a administração de drogas é diferente dos normais (MORGANE *et al.*, 1978). Estudos mostram que animais desnutridos apresentam uma hiporesponsividade a drogas serotoninérgicas (HALL; LEAHY; ROBERTSON, 1983). No entanto, os mecanismos responsáveis por esta hiporesponsividade não estão ainda claramente conhecidos (HALL; LEAHY; ROBERTSON, 1983). Ressalta-se que modificações funcionais em nível celular, relacionadas com a ativação de segundos mensageiros intracelulares, funções enzimáticas e transporte de substâncias, entre outras alterações, estão bastante correlacionadas a condições de déficit nutricional (HISATOMI e NHYAMA, 1980; MORGANE *et al.*, 1993; MANJARREZ; CHAGOYA; HERNÁNDEZ, 1994; CHEN *et al.*, 1995).

Estudos demonstram que a desnutrição protéica no início da vida promove a elevação dos níveis de 5-HT e de norepinefrina no cérebro de ratos (SOBOTKA; COOK; BRODIE, 1974; STERN *et al.*, 1975; RESNICK *et al.*, 1979). Outros autores

observaram que há um aumento nos níveis de norepinefrina no coração de ratos desnutridos (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA, 1980). Esses autores sugerem que a exposição continuada a altos níveis de catecolaminas poderia exercer um papel no desenvolvimento de alterações cardíacas na desnutrição (PISSAIA; ROSSI; OLIVEIRA, 1980). Entretanto, pouco se sabe sobre as alterações promovidas pela elevação das aminas biogênicas (entre elas a 5-HT) no coração de ratos desnutridos.

O presente trabalho mostrou alterações permanentes na morfologia cardíaca de animais desnutridos. Nos animais desnutridos que sofreram tratamento farmacológico, algumas alterações foram observadas apenas numa fase precoce da vida, conforme observado nas análises do cardíaco, da área de secção transversa do órgão e da área das células miocárdicas. Isto pode ser resultante da hiporesponsividade dos organismos desnutridos a drogas serotoninérgicas. Há, no entanto, muito que se estudar sobre o funcionamento do coração submetido à desnutrição e/ou ao tratamento com ISRS durante o período neonatal.

Conclusões

## Conclusões

- A manipulação farmacológica com inibidor seletivo de recaptção da serotonina durante os primeiros 21 dias de vida produz diminuição do peso corporal e cardíaco numa fase precoce da vida.
- A manipulação serotoninérgica neonatal não causa alterações no tamanho do coração, porém reduz a área e o perímetro das células miocárdicas numa fase precoce da vida.
- A manipulação serotoninérgica e/ou desnutrição, sob as condições empregadas no presente estudo, não interferem nas dimensões dos núcleos das células miocárdicas.
- A desnutrição neonatal reduz o peso corporal e cardíaco de forma persistente mesmo após um período de recuperação nutricional.
- A desnutrição precoce diminui a distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração numa fase precoce da vida e reduz permanentemente o tamanho do coração e o perímetro das células cardíacas.

Perspectivas

## Perspectivas

- Avaliar as alterações promovidas pela desnutrição e/ou tratamento farmacológico neonatal no número de células miocárdicas.
- Avaliar a densidade e o volume do coração diante das agressões nutricionais e farmacológicas, durante o período neonatal.
- Estudar as alterações no interstício e na densidade capilar do coração dos animais que sofreram desnutrição durante o período neonatal.
- Observar os efeitos da desnutrição e/ou manipulação serotoninérgica durante o período pré-natal sobre o desenvolvimento morfológico do coração.
- Estudar os efeitos de drogas que diminuem a disponibilidade sináptica da serotonina sobre o desenvolvimento morfológico do coração.
- Quantificar os níveis de serotonina no coração de animais que sofreram alguma modificação na dieta (restrição ou suplementação de nutriente), durante os primeiros dias de vida.

# Referências Bibliográficas

## Referências Bibliográficas

ABEL, R.M *et al.* Adverse hemodynamic and ultrastructural changes in dog hearts subjected to protein-calorie malnutrition. **American Heart Journal**, v. 97, n. 6, 1979.

ALDEN, P.B. *et al.* Left ventricular function in malnutrition. **Am. J. Physiol.** v. 253, p. H380- 387, 1987.

BARROS, K.M.F.T. **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 em Bases Experimentais) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1999.

BERGMAN, J.W. *et al.* Effect of kwashiorkor on the cardiovascular system. **Archives of Disease in Childhood**, v. 63, p. 1359-1362, 1988.

BLATT, G.J *et al.* Prenatal protein malnutrition effects on the serotonergic system in the hippocampal formation: an immunocytochemical, ligand binding, and neurochemical study. **Brain Research Bulletin**, v.34, n.5, p. 507-518, 1994.

BLUNDELL, J.E.; LAWTON, C.L.; HALFORD, J.C. Serotonin, Eating Behavior, and Fat intake. **Obesity Research**, v.3, supl. 4, p.471S-476S, 1995.

BOXWELL, J.; AYSON, P.; RAMENOFKY, M. Growth and metabolic parameters in pups of undernourished lactating rats. **Physiology and Behavior**, v. 57, n.3, p. 469-475, 1995.

BRASEL, J.A.; GRUEN, R. K. Cellular Growth: brain, liver, muscle, and lung. In: FALKNER, F.T.; TENNER, J.M. **Human Growth: postnatal growth**. Londres: Baillière Tindall, cap.1, v. 2, p. 3-19 , 1978.

BUZNICOV, G.A.; LAMBERT, H.W.; LAUDER, J.M. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis. **Cell Tissue Res.**, v. 305, p. 177-186, 2001.

CHEN, J. *et al.* Effect of prenatal malnutrition on release of monoamines from hippocampal slices. **Life Sciences**. v. 57, n.16, p. 1467-1475, 1995.

CHOI, D.-S. et al. 5HT<sub>2B</sub> receptor-mediated serotonin morphogenetic functions in mouse cranial neural crest and myocardiac cells. **Development**, v.124, p. 1745-1755, feb. 1997.

CHOI, D.-S. *et al.* Mouse 5-HT<sub>2B</sub> receptor mediated-serotonin trophic functions. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 861, p. 67-73, 1998.

CUNHA *et al.* Estudo morfométrico do miocárdio em adultos com subnutrição protéico-energética. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 71, n.5, p.677-680, 1998.

CUNHA *et al.* Peso cardíaco e coeficiente peso cardíaco/peso corporal em adultos subnutridos. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 78, n.4, p.382-4, 2002.

DEHAAN, R.L.; O'RAHILLY, R. Embriologia do coração. In: HURST, J.W. et al. **O Coração: artérias e veias**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.1981. cap. 2, pt. 2, v.1, p. 6-19, 1981.

DEIRÓ *et al.* Neonatal treatment with citalopram, a selective serotonin reuptake inhibitor, alters the growth of organs in rats. **An. Fac. Med. Univ. Fed. Pernamb.**, v.47, n. 2, 107-111,2002.

DEIRÓ, T.C.B.J. **Desenvolvimento somático e sensório-motor e padrão adulto do consumo alimentar, em ratos: efeitos do tratamento neonatal com inibidor de recaptção da serotonina durante o período de crescimento rápido de encéfalo**. 1998. 101f. Dissertação (Mestrado em Bases Experimentais) - Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1998.

DIAMOND, M.C. *et al.* Plasticity in the 904-day-old male rat cerebral cortex. **Exp. Neurol.**, v. 87, p. 309-317, 1985.

DOURISH, C. T.; HUTSON, P. H.; CURZON, G. Low doses of the putative serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicit feeding in the rat. **Psychopharmacology**, v.86, p.197-204, 1985.

ETIENNE , N. *et al.* Le récepteur 5-HT<sub>2B</sub>: une cible privilégiée de la sérotonine au niveau cardio-pulmonaire. **Journal de la Société de Biologie.**, v. 198, n. 1, p. 22-29, 2004.

FIORETTO, J.R. *et al.* Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** v. 282, p. H1327-H1333, 2002.

HALEEN, D.J.; HAIDER, S. Food restriction decreases serotonin and its synthesis rate in the hypothalamus. **NeuroReport.** v. 7, p.1153-1156, 1996.

HALFORD, J.C.G.; BLUNDELL, J.E. Metergoline antagonizes fluoxetine-induced suppression of food intake but not changes in the behavioural satiety sequence. **Pharmacology Biochemistry e Behaviour**, v.54, n.4, p.745-751, 1996.

HALL, R.D.; LEAHY, J.P.; ROBERTSON, W.M. Hyposensitivity to serotonergic stimulation in protein malnourished rats. **Physiol. Behav.**, v. 31, p.187-195, 1983.

HISATOMI, K.; NIIYAMA, Y. Effects of postnatal undernutrition on the catecholamine and serotonin contents of suckling rat brain. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.** v. 26, p. 279-292, 1980.

ISHIDA, A.; NAKAJIMA, W.; TAKADA, G. Short-term fasting alters neonatal rat striatal dopamine levels and serotonin metabolism: an in vivo microdialysis study. **Dev Brain Res.** v.104, p.131-136, 1997.

JACOBS, B.L.; AZMITIA, E.C. Structure and functions of the brain serotonin system. **Physiological Reviews.** v.72, n.1, p.165-229, 1992.

LAMBERT, H. W.; LAUDER, J.M. Serotonin receptor agonists that increase cyclic AMP positively regulate IGF-1 in mouse mandibular mesenchymal cells. **Dev. Neurosci.**, v. 21, p. 105-112, 1999.

LAUDER, J.M.*et al.* Expression of 5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2B</sub> and 5HT<sub>2C</sub> receptors in the mouse embryo. **International Journal of Development Neuroscience**, v.18, n. 653-662, 2000.

LAUDER, J.M. Ontogeny of the serotonergic system in the rat: serotonin as a developmental signal. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 600, p. 297-314, 1990.

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

LYNCH, G.; SMART, J.L.; DOBBING, J. Motor coordination and cerebellar size in adult rats undernourished in early life. **Brain Res.** v. 83, p.249-259, 1975.

MAGALHÃES, C.P. **Efeitos do tratamento neonatal com inibidor seletivo de recaptura da serotonina sobre o desenvolvimento anatômico crânio-encefálico.** 89f. Tese (Mestrado em Morfologia) – Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2000.

MANHÃES DE CASTRO, R. *et al.* Neonatal treatment with naloxone causes permanent hyperalgesia in rats. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 26, p. 747-751, 1993.

MANHÃES DE CASTRO, R. *et al.* Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 34, n. 1, 2001.

MALINA, R. M.; BOUCHARD, C. **Growth, Maturation and Physical Activity.** Champaign: Human Kinetics Books, cap.10, pt. 2, p. 151-167, 1991.

MANJARREZ, G.G.; CHAGOYA, G.G.; HERNÁNDEZ, R. Early nutritional changes modify the kinetics and phosphorylation capacity of tryptophan-5-hydroxylase. **International Journal of Developmental Neuroscience.** v.12, n.8, p.695-702, 1994.

MARÍN, M.C. *et al.* Protein-energy malnutrition during gestation and lactation in rats affects growth rate, brain development and essential fatty acid metabolism. **Journal of Nutrition**. v.125, p.1017-1024, 1995.

MARINHO, S.M.O.C. **Efeito da manipulação neonatal do sistema serotoninérgico sobre o desenvolvimento do intestino delgado em ratos**. 2004. 62f. Dissertação (Mestrado em Bases Experimentais) - Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

MENDES DA SILVA, C. *et al.* Tratamento neonatal com inibidor seletivo de recaptura da serotonina: evolução nutricional e efeito tardio sobre a depressão experimental. **Neurobiologia**, v.63, p. 61-65, 2000.

MOISEWITSCH, J.R.D.; LAUDER, J.M. Serotonin regulates mouse cranial neural crest migration. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.92, p. 7182-7186, 1995.

MOISEWITSCH, J.R.D. *et al.* Regulation by serotonin of tooth-germ morphogenesis and gene expression in mouse mandibular explant cultures. **Arch Oral Biol.**, v.43, p. 789-800, 1998.

MONE, S.M. *et al.* Effects of environmental exposures on the cardiovascular system: prenatal period through adolescence. **Pediatrics**, v.113, n. 4, p. 1058-1069, 2004.

MONTEIRO F.M.F. *et al.* 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. *et al.* The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 1978, v.2, p.137-230.

MORGANE, P.J. *et al.* Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.17, p.91-128, 1993.

MOTA, D.L. *et al.* Tratamento neonatal com inibidor seletivo de recaptação da serotonina (ISRS): mudanças na morfologia intestinal. **Neurobiologia**, v.63, p.55-59, 2000.

NEGIBIL, C.G. *et al.* Serotonin 2B receptor is required for heart development. **Developmental Biology**, v. 97, n.17, 2000.

NEGIBIL, C.G. *et al.* Developmentally regulated serotonin 5-HT<sub>2B</sub> receptors. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 19, p. 365-372, 2001a.

NEGIBIL, C.G., *et al.* Ablation of serotonin 5-HT<sub>2B</sub> receptors in mice leads to abnormal cardiac structure and function. **Circulation**, v. 103, p.2973-2979, 2001b.

NEGIBIL, C.G.; MAROTEAUX, L. A novel role for serotonin in heart. **Trends Cardovasc. Med.**, v. 11, n. 8, p. 329-335, 2001.

NEMECEK, G.M. *et al.* Stimulation of aortic smooth muscle cell mitogenesis by serotonin. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 83, p. 674-678, 1986.

NOBACK CHALES R.; EISENMAN L.M. Some effects of protein calorie undernutrition on the developing central nervous system of the rat. **The Anatomical Record**, v. 201, n.1, p. 67-73, 1981.

OTIS, E. M.; BRENT, R. Equivalent ages in mouse and human embryos. **The Anatomical Record**. v. 120, p. 33-63, 1954.

PAKALA, R.; WILLERSON, J.T.; BENEDICT, C.R. Cellular and molecular cardiology: mitogenic effect of serotonin on vascular endothelial cells. **Circulation**, v. 90, n.4, p. 1919-1926, 1994.

PAZ, S.T. *et al.* Redução no tempo de processamento de pequenas biópsias para inclusão em parafina. In: **XII Congresso Brasileiro de Histotecnologia - III Jornada do Mercosul de Histotecnologia**. Salvador-BA, v.1, p.20, 2001.

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 do órgãos.** 1997. 118p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1997.

PISSAIA, O.; ROSSI, M.A.; OLIVEIRA, J.S.M. The heart in protein-calorie malnutrition in rats: morphological, electrophysiological and biochemical changes. **J. Nutr.**, v.110, p.2035-2044, 1980.

QUEK, V. S. ;TRAYHURN, P. Calorimetric study of the energetics of pregnancy in golden hamsters. **Am. J. Physiol.** v.259, p.807-812, 1990.

RAMIREZ-DE-MARTENS, L.M.; MARTENS COOK, J.E.; PALACIOS-PRU, E.L. Protein-energy malnutrition and hypobaric stress effects on ultrastructure of the heart muscle in rats. **Acta Cient. Venez.** v. 49, n. 1, p.31-7, 1998.

RESNICK, O. *et al.* Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.3, p.233-246, 1979.

ROSSI *et al.* Noradrenaline levels and morphologic alterations of myocardium in experimental protein-calorie malnutrition. **J. Pathology**, v. 131, p. 83-93, 1980.

SAMAREL, A.M. *et al.* Protein synthesis and degradation during starvation induced cardiac atrophy in rabbits. **Circ. Res.**, v. 60, 933-941, 1987.

SÁNCHEZ, C.; HYTTEL, J. Isolation-induced aggression in mice: effects of 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors and involvement of postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors. **European Journal of Pharmacology**, v.264, n.3, p.241-247, 1994.

SARAIVA, L.R. **Estudo do coração na criança desnutrida com edema. Aspectos clínicos, eletrocardiográficos e ecocardiográficos.** 1990. 123p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1990.

SARI, Y; ZHOU, F.C. Serotonin and its transporter on proliferation of fetal heart cells. **Int. J. Devl. Neuroscience**, v. 21, p. 417-424, 2003.

SEUWEN, K.; MAGNALDO, I.; POUYSSEGUR, J. Serotonin stimulates DNA synthesis in fibroblasts acting through 5-HT sub 1B receptors coupled to a G sub i-protein. **Nature**, v. 335, p. 254-256, 1988.

SHUEY, D.L. *et al.* Serotonin and morphogenesis. II. Transient expression of serotonin uptake and binding protein during craniofacial morphogenesis in the mouse. **Anat. Embriol.**, v. 187, p. 75-85, 1993.

SIMANSKY, K.J. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. **Behavioral Brain Research**, v.73, n.1-2, p.37-42, 1996.

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

ST. JOHN SUTTON, M.G. *et al.* Effects of reduced left ventricular mass on chamber architecture, load, and function: a study of anorexia nervosa. **Circulation**, v. 72, p. 991-1000, 1985.

STERN WC *et al.* Ontogeny of the levels of biogenic amines in various parts of the brain and in peripheral tissue in normal and protein malnourished rats. **Exper. Neurol.**, v. 49, p.314-326, 1975.

STURMAN, J.A. *et al.* Maternal protein malnutrition in the rat: effect on protein and two enzymes in the milk. **Nutrition Research**, v. 6, p.437-442, 1986.

SUGRUE, M. F. Neuropharmacology of drugs affecting food intake. **Pharmac. Ther.**, v.32, p.145-182, 1987.

TAKURA, N. *et al.* Studies of the mitogenic effect of serotonin in rat renal mesangial cells. **Am. J. Physiol.**, v. 257, p. F531-F439, 1989.

TEODÓSIO, N.R. *et al.* A regional basic diet from northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion.**, v. 45, n. 4, p. 533-545, 1990.

TUTTON, P.J.M.; BARKLA, D.H. serotonin receptors influencing cell proliferation in the jejunal crypt epithelium and in colonic adenocarcinomas. **Anticancer Res.**, v. 6, p. 1123-1126, 1986.

VANDEWOUDE, M.F.J.; BUYSENS, N. Effect of ageing and malnutrition on rat myocardium. I. The myocyte. **Virchows Archiv. A. Pathol. Anat.**, v. 421, p. 179-188, 1992a.

VANDEWOUDE, M.F.J.; BUYSENS, N. Effect of ageing and malnutrition on rat myocardium. II. The microvasculature. **Virchows Archiv. A. Pathol. Anat.**, v. 421, p. 189-192, 1992b.

WEBB, J.G.; KIESS, M.C.; CHAN-YAN, C.C. Malnutrition and the heart. **Can. Med. Assoc. J.** v. 135, p. 753-758. 1986.

WHITAKER-AZMITIA, P.M.; DRUSE, M.; WALKER, P., LAUDER, J.M. Serotonin as a developmental signal. **Behavioural Brain Research**, v. 73, p. 19-29, 1996.

WILDENTHAL, K. Dietary control of cardiac lysosomal enzyme activities. **Recent Adv. Stud. Card. Struct. Metab.**, v. 8, p.519-529, 1975.

WILKINSON, L.O.; DOURISH, C.T. **Serotonin Receptor Subtypes: Basic and Clinical Aspects**. Nova York: Peroutka, S.J. 1991.v. 15, p. 147-210.

YAVARONE, M.S. *et al.* Serotonin and cardiac morphogenesis in the mouse embryo. **Teratology**, v.47, p. 573-584, 1993.

**Anexo**

**Universidade Federal de Pernambuco**  
**Centro de Ciências Biológicas**

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



Ofício nº 140/2004

Recife, 22 de julho de 2004.

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE  
Para: **Profa. Ana Elisa Toscano Meneses da Silva**  
Departamento de Nutrição- CCS/UFPE

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram a resposta de V. Sa. referente ao primeiro parecer da CEEA sobre o projeto de pesquisa intitulado **“Desnutrição e manipulação serotoninérgica neonatal: repercussões sobre o desenvolvimento morfológico do coração em ratos”**. processo nº 006662/2004-47

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para perimentação 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. Diante do exposto, emitimos um **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,

  
\_\_\_\_\_  
Profª Silene Carneiro do Nascimento  
Presidente da CEEA/UFPE