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

EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO PROTEICA CRÔNICA SOBRE O CÓRTEX CEREBRAL E EVOLUÇÃO PONDERAL DE RATOS ADULTOS

GABRIELA DE MORAES RÊGO GUEDES

Recife, 2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

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

EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO PROTEICA CRÔNICA SOBRE O CÓRTEX CEREBRAL E EVOLUÇÃO PONDERAL DE RATOS ADULTOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco para a obtenção do grau de Mestre em Patologia

ORIENTADOR:
Nicodemos Teles de Pontes Filho
Professor Titular do Departamento de Patologia
Centro de Ciência da Saúde
Universidade Federal de Pernambuco

Recife, 2009

Guedes, Gabriela de Moraes Rêgo
Efeitos da desnutrição protéica crônica sobre o córtex cerebral e evolução ponderal de ratos adultos / Gabriela de Moraes Rego Guedes. – Recife : O Autor, 2009.
xi, 59 folhas : il., fig., tab., gráf.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patologia, 2009.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Desnutrição – Córtex cerebral. I. Título.

612.3 CDU (2.ed.) UFPE
612.3 CDD (22.ed.) CCS2009-068

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

AUTOR: GABRIELA DE MORAES RÊGO GUEDES
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PATOLOGIA GERAL

NOME DA DISSERTAÇÃO: "EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO PROTÉICA CRÔNICA SOBRE O CÓRTEX CEREBRAL E EVOLUÇÃO PONDERAL DE RATOS ADULTOS."

ORIENTADOR: PROF. TITULAR DR. NICODEMOS TELES DE PONTES FILHO

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TITULO DE MESTRE EM PATOLOGIA.

DATA: 20 DE FEVEREIRO DE 2009.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Roberto José Vieira de Mello _____

Prof. Dr. Hilton Justino da Silva _____

Prof. Dr. Mario Ribeiro de Melo Júnior _____

Este trabalho é dedicado aos meus Pais, Vera e Laércio, que sempre me ensinaram sobre os prazeres e dificuldades da vida, sendo os meus grandes mestres e ao meu namorado e amigo, Phelipe, por estar sempre ao meu lado, apoiando-me em todas as minhas decisões. Obrigada por tudo. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus...

Aos meus irmãos, Carolina e Lucas, por serem essas pessoas maravilhosas e fazerem parte da minha vida.

Aos meus avós paternos, Amara e Lourival, por acreditarem em mim.

Ao meu avô materno, Cláudio, por sempre me incentivar.

Aos meus sogros, Joaquim e Nélia, por torcerem por mim.

Ao meu orientador prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho pelos seus ensinamentos, por me aceitar em seu laboratório e me orientar neste trabalho.

À Carmelita por toda a ajuda e pelos conselhos dados.

Às minhas amigas, Amanda e Juliana por compartilharem comigo as alegrias e as dificuldades ao longo do mestrado.

À Bruna Maggi por compartilhar comigo parte do meu trabalho.

Às “tuberculetes” por todos os nossos dias de “alegria e terapia”.

Ao LIKA pelo apoio técnico.

À Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Fisiologia pelo amparo técnico.

Enfim, a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho, o meu sincero Muito Obrigado.

“Aquele que tem um porquê para viver pode enfrentar todos os comos.”

Friedrich Nietzsche

RESUMO

Influências genéticas e ambientais atuam sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) durante o processo de desenvolvimento. Uma nutrição adequada é essencial para a formação do SNC, organização funcional e para desenvolvimento do organismo. Estudos utilizando dietas semi-sintéticas foram desenvolvidos para reproduzir em animais de laboratório características clínicas, bioquímicas e patológicas, observadas em humanos desnutridos. A dieta básica regional (DBR) foi proposta para estudar a desnutrição característica dos habitantes de baixa renda da zona da mata de Pernambuco. O presente estudo avaliou o perfil morfológico (densidade e número de células neuronais) do córtex visual de ratos Wistar submetidos a dois tratamentos nutricionais: dieta padrão de biotério (Labina®, 23% de proteína) e dieta hipoprotéica (DBR, 8% de proteína), originando 6 grupos experimentais: N5, N7 e N9 - animais nutridos com Labina® durante 5º., 7º. e 9º. meses respectivamente, e D5, D7 e D9 - animais desnutridos por DBR durante os mesmos períodos. Após o tratamento nutricional, os animais foram sacrificados e os cérebros retirados, processados histologicamente e avaliados através de estudos morfométricos. Observou-se que a desnutrição induzida por DBR provocou uma redução significativa na massa corporal dos animais de todos os grupos. A redução foi decrescente ao longo da idade, pois aos 5 meses os animais DBR pesavam, em média, apenas 27,7% do peso total do animal normonutrido, aos 7 meses, 29,1% e por fim aos 9 meses os animais DBR pesavam cerca de 32% do peso dos normonutridos. A comparação feita entre os grupos mostrou que o peso cerebral também foi visivelmente reduzido nos animais desnutridos. A maior redução no peso cerebral ocorreu no grupo D9 onde a média do peso dos cérebros desse grupo correspondia a 81,55% do peso cerebral do grupo N9. Não houve diferença significativa em relação ao número de neurônios por campo e nem em relação à média da área do soma dos neurônios. Tais achados indicaram que a desnutrição induzida pela DBR no pós-desmame embora não cause alterações na citomorfologia do córtex cerebral tem repercussões sobre a evolução ponderal e encefálica.

Palavras chaves: córtex cerebral, morfometria neuronal, desnutrição, DBR

ABSTRACT

Genetic and ambient influences affect the Central Nervous System (CNS) during the whole development process. An adequate nutrition is essential for the formation of the CNS, its functional organization and the development of the organism. Many researches using half-synthetic diets had been developed in laboratory animals to reproduce pathological, biochemical and clinical characteristics, observed in unfed human beings. The regional basic diet (RBD), an experimental diet, was proposed to study the characteristic malnutrition of the low income inhabitants of the Zona da Mata of Pernambuco. The present study evaluated, by means of the histology and digital analysis of image, the morphologic profile of the posterior cortex of Wistar rats submitted to two nutritional treatments: commercial laboratory diet (Labina®, 23% of protein) and low-proteic diet (DBR, 8% of protein), originating 6 experimental groups: N5, N7 and N9 - animals nourished with Labina® during 5, 7 and 9 months respectively, and D5, D7 and D9 - mal nourished animals by DBR during the same periods. After the nutritional treatment, the animals had been sacrificed and the brains removed, processed histologically and evaluated through morphometrics study. The induced malnutrition for DBR caused a significant reduction in the corporal mass of the animals. The analysis of the average values related to the encephalic weight during 5º, 7º and 9º month of postnatal life demonstrated that there was significant difference, which was lower than the malnurished animals difference. It did not have significant difference in relation to the number of neurons for field and nor in relation to the average area of the neurons soma. Such findings indicated that the induced malnutrition by the DBR in after-weans has repercussions on the ponderal and encephalic evolution even it does not cause alterations in the citomorfologic of the cerebral cortex.

Key words: RBD, brain cortex, malnutrition, neuronal morphometric.

LISTA DE FIGURAS

1- Mapa da desnutrição no mundo.
2- Esquema dos planos de microtomia.
3- Fotomicrografia (400x) das células neuronais marcadas pelo cresil violeta.
4- Comparação de ratos 9 meses: DBR (A) com um Normonutrido (B).

LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

Gráfico 1: Efeito da DBR sobre o peso encefálico dos ratos.

Gráfico 2: Peso encefálico nas diferentes idades, 5, 7 e 9 meses dos ratos Wistar, submetidos à DBR e Labina®.

Gráfico 3: Número neurônio por campo (400X).

Gráfico 4: Área do soma neuronal de ratos Wistar, em diferentes idades, 5, 7 e 9 meses, submetidos à DBR e Labina®.

Tabela 1: Composição centesimal da Dieta Básica Regional.

Tabela 2: Média dos pesos corporais dos animais nas três idades avaliadas.

Tabela 3: Média dos pesos cerebrais dos animais nas três idades avaliadas.

Tabela 4: Média do número de neurônios/campo (400X) do córtex posterior nas três idades avaliadas.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

D: Grupo de animais desnutridos por DBR

D5: animais desnutridos por DBR durante 5 meses

D7: animais desnutridos por DBR durante 7 meses

D9: animais desnutridos por DBR durante 9 meses

DEC: Deficiência Energética Crônica

DBR: Dieta Básica Regional

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

ERK: Sinal Extracelular de Ativação de Kinases

FAO: Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

IDECG: International Dietary Energy Consultancy Group

IMC: Índice de Massa Corporal

N: Grupo de animais normonutridos

N5: animais nutridos com Labina® durante 5 meses

N7: animais nutridos com Labina® durante 7 meses

N9: animais nutridos com Labina® durante 9 meses

NADPH-d: Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato-diaforase

OMS: Organização Mundial de Saúde

PBS: Phosphate Buffered Saline

pH: Pontencial Hidrogeniônico

SNC: Sistema Nervoso Central

UNFPA: Fundo de Populações das Nações Unidas

SUMÁRIO

RESUMO	**vi**
ABSTRACT	**vii**
LISTA DE FIGURAS	**viii**
LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS	**ix**
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	**x**
1. INTODUÇÃO	**1**
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	**6**
2.1. Formação e desenvolvimento do Sistema Nervoso Central	**7**
2.2. Desnutrição e Dieta Básica Regional	**9**
2.3. Desnutrição e sistema nervoso	**11**
3. OBJETIVOS	**20**
3.1. Objetivo geral	**21**
3.2. Objetivos específicos	**21**
4. METODOLOGIA	**22**
4.1. Animais e dietas	**23**
4.2. Preparo da DBR	**24**
4.3. Aferição dos pesos corporal e encefálico	**24**
4.4. Processamento histológico	**24**
4.5. Análise microscópica e morfométrica	**26**
4.6. Análise Estatística	**26**
5. RESULTADOS	**27**
5.1. Peso corporal	**28**
5.2. Peso cerebral	**29**
5.3. Estudo morfométrico	**30**
6. DISCUSSÃO	**32**
6.1. Efeitos do tratamento nutricional sobre o peso corporal	**33**
6.2. Efeitos do tratamento nutricional sobre o peso cerebral	**34**
6.3. Efeitos do tratamento nutricional sobre o padrão morfológico do córtex cerebral	**36**
7. CONCLUSÕES	**38**
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	**40**
9. ANEXOS	**57**

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O problema da má nutrição infantil desperta o interesse e diversos estudos têm relacionado o status nutritivo com crescimento celular ou maturação cerebral. Esses estudos têm indicado a vulnerabilidade do sistema nervoso com consequentes mudanças no comportamento, particularmente quando essas mudanças ocorrem durante o chamado “período de crescimento rápido cerebral” (HOFFMAN, 2001). Em humanos, isso corresponde ao período entre o último trimestre de vida fetal e o terceiro ano de vida pós-natal. Nos ratos, esse período corresponde às primeiras três semanas de vida pós-natal (período de lactação), quando está acontecendo os fenômenos de neurogênese, gliogênese e mielinização.

A má nutrição pode ser causada por disponibilidade de todos os nutrientes mas, em quantidades insuficientes ou pela falta que de um ou mais nutrientes essenciais, que podem estar presentes, mas nas proporções erradas na dieta.

Diversos estudos usando modelos animais sugeriram que os efeitos do insulto nutritivo no desenvolvimento do cérebro são duradouros e levam a déficits permanentes no aprendizado e no comportamento.

Influências genéticas e ambientais atuam sobre as células durante todo o processo de desenvolvimento do sistema nervoso, estimulando seu crescimento, sua migração e diferenciação, e até mesmo sua morte e retração axônica para criar o sistema nervoso adulto. Alguns destes processos são completados intra-útero, enquanto outros continuam durante os primeiros anos após o nascimento.

A nutrição desempenha um papel crucial na maturação e manutenção funcional do Sistema Nervoso Central (SNC). Contudo a nutrição inadequada durante os primeiros anos de vida é ainda um sério problema de saúde em países desenvolvidos e subdesenvolvidos. A desnutrição grave afeta 20 milhões de crianças menores de cinco anos no mundo, matando uma criança a cada 30 segundos, e no Brasil é uma das maiores causas de mortalidade infantil (OMS, 2007), constituindo um problema de saúde pública, podendo ocorrer isoladamente ou associada a outros fatores que aumentam a morbidade e a mortalidade (DUNCAN, 1994).

A desnutrição é um problema mundial que afeta milhões de crianças durante os estágios vulneráveis de desenvolvimento do sistema nervoso central. Eventos na

maturação cerebral podem resultar em alterações fisiológicas, anatômicas, comportamentais, anormalidades na função cognitiva e distúrbios de aprendizado e memória (MORGANE *et al*. 2002).

Mesmo quando transitória, a deficiência nutricional precoce, pode influenciar no risco de doenças em longo prazo, possibilitado pela modificação da diferenciação celular e/ou pela modificação da função dos estágios críticos de desenvolvimento. (CABALLERO, 2002).

Inadequação nutricional, incluindo má nutrição materna, é o maior fator não genético que leva à distúrbios no desenvolvimento do cérebro (MORGANE, 2002). Má nutrição pode alterar a histogênese cerebral, causando variações nas taxas de proliferação de células progenitoras neurais e gliais, e pode induzir alterações na regulação dos diversos neurotransmissores (CHEN, 1992; MARIN, 1995; RABIN, 1994).

Alguns estudos demonstraram que crianças mal nutridas têm mais problema de aprendizagem e comportamento do que as crianças bem nutridas (GRANTHAM, 1995).

No que se referem às deficiências nutricionais, no início da vida as injúrias são mais graves para SNC, principalmente porque nesta fase o crescimento e o desenvolvimento desse sistema estão ocorrendo com grande intensidade, através dos processos de hiperplasia, hipertrofia e mielinização. A neurogênese, a gliogênese e a migração neuronal realizam-se, então, com velocidade máxima, provocando um rápido aumento do peso cerebral. Por esse motivo, essa fase é denominada de período de crescimento rápido do cérebro. Sendo considerado um dos períodos críticos mais importantes para o desenvolvimento cerebral, por ser uma etapa de grande vulnerabilidade a vários tipos de agressão, inclusive a nutricional (DOBBING, 1968).

As investigações sobre os efeitos da deficiência protéico-energética no crescimento e desenvolvimento orgânico têm ocupado lugar de destaque na literatura científica especializada (BIRT, BAKER, HRUZA, 1982; McGUIRE *et al*., 1995; RESNICK, MORGANE, 1984). Essas investigações têm achado alterações bioquímicas no sistema nervoso de modelos experimentais mal nutridos, especialmente relacionados aos sistemas neurotransmissores (ROTTA, 2003; STEIGER, 2002). Mudanças histológicas também têm sido demonstradas por decréscimo na densidade de células gliais no córtex cerebral, cerebelo e hipocampo (DOBBING, 1971; GARCIA-RUIZ, 1993).

Os procedimentos metodológicos utilizados para análise da desnutrição variam de um estudo para o outro. Em algumas dessas condições experimentais, a dieta é severamente restrita em quantidade ou qualidade, ou em ambas, objetivando induzir um estado de deficiência nos animais durante os períodos críticos do desenvolvimento (PESSOA, 2005). Em outras, esses modelos de desnutrição têm sido usados para testar a eficácia de suplementos de dietas deficientes ou corrigir algumas deficiências específicas (COLINA *et al*., 2002; FERREIRA *et al*., 2005; GUZMÁN-SILVA *et al*., 2004; METRI *et al*., 2003).

Assim, os desenhos experimentais são os mais diversos: em alguns deles os animais são submetidos a dietas inadequadas durante a gestação e/ou lactação; somente a partir do desmame os animais recebem dietas deficientes e, algumas vezes, duas ou mais técnicas são usadas.

Neste sentido, Teodósio *et al*. (1990) desenvolveram um modelo experimental que reproduz, no rato, quadro clínico muito semelhante ao da desnutrição infantil protéico-energética prevalente no Nordeste brasileiro. Com base em avaliações através de inquéritos alimentares em população carente, foi elaborada, para o rato, uma dieta constituída pelos quatro alimentos mais consumidos no regime alimentar deficitário das populações de baixa renda, figurando, cada um desses elementos, nas proporções em que são consumidos. Esta dieta foi denominada Dieta Básica Regional (DBR). O seu uso durante os períodos críticos de desenvolvimento determina um estado de desnutrição no animal, que mimetiza a desnutrição protéico-energética vigente em nosso meio (PESSOA, 2005).

DBR é rica em carboidratos e fibras, mas pobre em proteínas (8%), as quais são predominantemente de origem vegetal, minerais, gorduras. A má nutrição induzida por DBR pode provocar alterações fisiológicas, metabólicas e comportamentais (MEDEIROS, 2002; PESSOA, 2000).

Vários pesquisadores, empregando esse modelo de desnutrição, mostraram os efeitos deletérios da DBR sobre a gestação e a lactação (PESSOA *et al*., 2000), o crescimento (TEODÓSIO *et al*., 1990), a longevidade (LAGO, *et al*., 1997) e o desenvolvimento de alguns órgãos (PESSOA, 1997; ROCHA DE MELO e GUEDES, 1997), associada ao etanol (PONTES-FILHO, 2003) e ao exercício físico (PRAZERES, 2004).

Contudo, a maioria desses trabalhos avalia os efeitos da DBR durante o chamado “período crítico” de desenvolvimento cerebral, ou seja, durante a vida intra-uterina e aleitamento. A partir dessas considerações, é pertinente e relevante

investigar, em animais de laboratório, estados de desnutrição desencadeados pelo padrão alimentar básico de comunidades-alvo, empregando dieta que reproduza esse padrão em teor e qualidade, no pós-desmame, ao longo do envelhecimento do animal, ou seja, pós período de desenvolvimento crítico cerebral.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Formação e Desenvolvimento do Sistema Nervoso Central

O desenvolvimento-amadurecimento do Sistema Nervoso Central (SNC) decorre fundamentalmente de dois tipos de eventos: aditivos ou progressivos e subtrativos ou regressivos. Os eventos aditivos/progressivos incluem a proliferação e migração neuronal, sinaptogênese e mielinização; os regressivos consistem de morte neuronal (apoptose), retração axonal e degeneração sináptica (REED, 2005).

O sistema nervoso origina-se da ectoderme embrionária dando origem ao encéfalo e a medula espinhal. É no SNC onde ocorre o processamento da informação ambiental, desencadeando-se a integração dos processos mentais e a iniciação da resposta ao estímulo.

O início do desenvolvimento embrionário do SNC é marcado pela diferenciação dos neuroblastos a partir de células primitivas localizadas no neuroepitélio do tubo neural. Em seguida começa a proliferação celular, extremamente rápida, que origina neurônios bipolares, os quais começam a migrar a partir da quinta semana de vida intra-uterina, com o aparecimento das primeiras células gliais que fornecem sustentação para o movimento de migração. A maior parte da migração na direção da camada marginal do que será o futuro córtex dos hemisférios cerebrais se completa até o final do quinto mês. Ao término da migração dos neurônios, tem-se o número máximo de neurônios (entre 50 e 100 bilhões) e já se inicia o processo de apoptose. Do sexto mês em diante inicia-se a organização, que é o complexo processo de arborização dendrítica, trajetórias axonal e formação dos botões sinápticos. A atividade funcional começa com a mielinização por volta da 10ª semana. Por volta do sétimo mês de vida intra-uterina, no cérebro humano, a proliferação e a migração neuronal estão completas (REED, 2005).

O desenvolvimento cerebral caracteriza-se por um processo relativamente súbito de hiperprodução, seguindo por um processo lento, ao longo da vida, de eliminação seletiva (REED, 2005).

O córtex cerebral, entre outros numerosos papéis, é responsável pelo início voluntário do movimento, percepção sensorial final, pensamento consciente, linguagem, traços de personalidade e eventos mentais sofisticados – memória, raciocínio, criatividade e consciência. Anatomicamente é formado pela porção externa e cinzenta do cérebro, cuja pigmentação é determinada pelo conjunto denso

de corpos celulares neuronais, gliais e seus dendritos, que se distribuem pela neurópila. Este conjunto cobre a massa branca constituída por axônios que são responsáveis pela transmissão de sinais intracorticais, e entre o córtex e outras zonas do SNC. No córtex cerebral chegam impulsos provenientes de todas as vias da sensibilidade. Dele saem os impulsos nervosos que iniciam e comandam os movimentos voluntários (MACHADO, 1985).

A parte funcional do córtex cerebral é constituída por neurônios que cobrem a superfície de todas as convoluções do cérebro ocupando um espaço de apenas 2 a 5 milímetros de espessura, contendo cerca de 100 bilhões de neurônios. Histologicamente estes neurônios se distribuem entre seis diferentes camadas: I - molecular; II - granular externa; III - de células piramidais pequenas; IV - granular interna; V - das grandes células piramidais; e VI - de células fusiformes ou polimórficas (GUYTON e HALL, 2002).

O desenvolvimento e a organização estrutural do cérebro obedecem a um cronograma pré-determinado e inflexível (GUEDES, 1985), sendo variavelmente vulnerável às agressões durante todo o período de desenvolvimento pré-natal e pós-natal precoce (MORGANE *et al.,* 1993). Ainda segundo estes autores, o estágio do período de desenvolvimento em que ocorre uma agressão parece ser o fator mais decisivo na determinação do defeito final apresentado pelo cérebro, do que propriamente o tipo de agressão. Neste caso, um mesmo insulto atuando em momentos variados determinaria alterações diferentes na morfofisiologia cerebral.

O crescimento dos tecidos, incluindo o cérebro, é resultado da divisão e do aumento no tamanho das células (WINICK e NOBLE, 1965). O desenvolvimento normal de um órgão pode ser dividido em duas fases distintas. Na primeira fase, há uma rápida divisão celular sem o aumento do tamanho das células, denominado de multiplicação celular ou hiperplasia, que pode ser avaliada pelo conteúdo de DNA. Na segunda fase, a síntese de DNA continua, porém em menor proporção, passando a ocorrer paralelamente um significativo aumento no tamanho celular; este período é denominado hipertrofia, sendo determinado pelo acréscimo no conteúdo de proteínas (MORGAN e WINICK, 1985; WINICK e NOBLE, 1965).

A maturação cerebral envolve uma série de estágios sobrepostos temporalmente e que seguem uma precisa seqüência que difere de região para região cerebral e mesmo dentro de uma região em particular, variando temporalmente de uma espécie para outra (MORGANE *et al.*, 2002).

Particularmente em relação ao desenvolvimento do córtex cerebral, observou-se que este é esculpido por um programa altamente sofisticado de reorganização neuronal influenciado por fatores sociais, nutricionais e ambientais (FERNANDÉZ *et al*., 1998).

O encéfalo é o órgão que apresenta o desenvolvimento mais rápido na vida embrionária, e nos primeiro dias ou meses de vida extrauterina, em ratos e porcos, e nos primeiros 4 anos de vida, no homem. Uma criança, aos 4 anos de idade, tem aproximadamente 90% da massa encefálica final do adulto (COURSIN, 1965).

2.2 Desnutrição e Dieta Básica Regional (DBR)

A nutrição, processo que envolve as proteínas alimentares, o metabolismo, o sistema nervoso e as condições emocionais dos indivíduos, tem influência direta nas condições de saúde das populações (VITOLO, 2003).

De acordo com International Dietary Energy Consultancy Group (IDECG), desnutrição refere-se a uma ingesta insuficiente de calorias (deficiência energética crônica (DEC), com índice de massa corporal (IMC) < 18,5 Kg/m^2), enquanto que a má nutrição se refere a deficiência de macro- ou micro-nutrientes.

Todas as vezes que a ingestão protéica é inferior ao requisito fisiológico e a quota calórica é menor do que a necessária por períodos mais ou menos longos, sobrevêm as manifestações bioquímicas e clínicas da desnutrição protéico-energética (ANGELIS, 1986).

Essa forma de desnutrição é observada em quase todo o mundo subdesenvolvido, ou em desenvolvimento, em proporções elevadas principalmente na maioria dos países da África, Ásia e América Latina (Figura 1).

A dieta das pessoas que vivem abaixo da linha da pobreza não é adequada em termos de valores calóricos e contém muito pouco conteúdo protéico (RANADE, 2008).

Na América Latina, é responsável pela elevada mortalidade e morbidade em crianças abaixo de 5 anos de idade.

No Brasil, essa forma de desnutrição está associada a 3,5 milhões de óbitos de crianças anualmente, matando uma criança a cada 10 segundos (UNFPA, 2007).

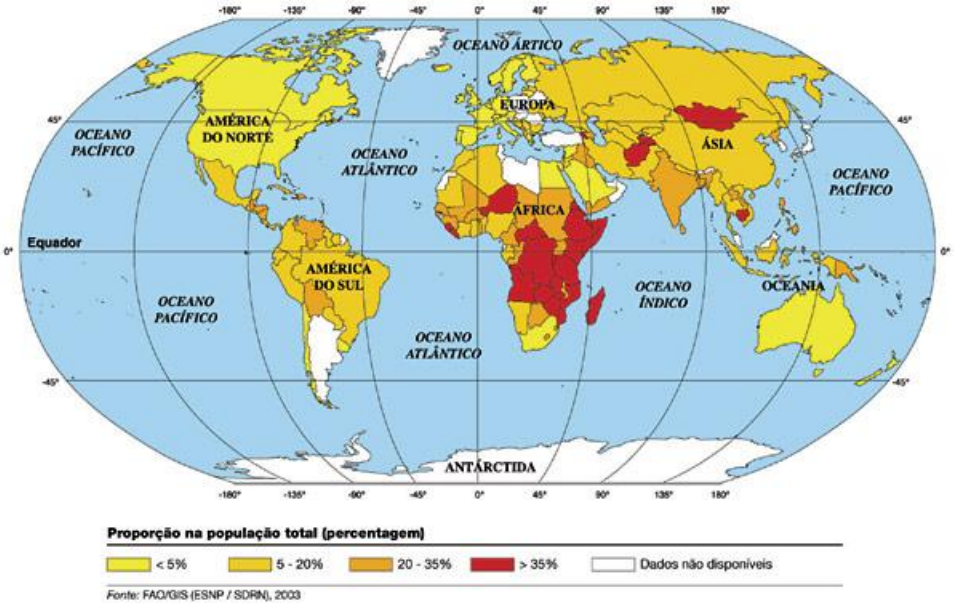

Figura 1: Mapa da desnutrição no mundo. Fonte: FAO, 2003.

Vários paradigmas de desnutrição são propostos na literatura. Entre os mais utilizados, encontram-se a restrição alimentar pelo afastamento da mãe durante o período de lactação, dietas hipoprotéicas e dietas deficientes em aminoácidos essenciais (BRONZINO, 1990; GIETZEN, 1996; TEODÓSIO, 1990).

Estudos utilizando dietas semi-sintéticas foram desenvolvidos para reproduzir em animais de laboratório características clínicas, bioquímicas e patológicas, observadas em seres humanos desnutridos (BIRT, 1982; McGUIRE, 1995; RESNICK, 1984; TEODÓSIO, 1990; TONKISS *et al*., 1993).

No Brasil, Teodósio *et al*., 1990 desenvolveram uma dieta experimental, que denominaram Dieta Básica Regional (DBR), para simular a desnutrição observada entre habitantes de baixa renda da zona da mata do Estado de Pernambuco. Essa dieta continha os ingredientes básicos da alimentação daquela população, caracterizando-se principalmente pelo déficit protéico, contendo apenas cerca de 8% de proteínas, sendo a maioria de origem vegetal. Desde então, a DBR vem sendo estudada em animais, sob vários aspectos, tais como: crescimento e desenvolvimento; estimulação ambiental e desenvolvimento do sistema nervoso (MONTEIRO, 1995; SANTOS, 2000); longevidade (LAGO *et al*., 1997); gerações sucessivas (PESSOA *et al*., 2000); associada ao etanol (PONTES-FILHO, 2003) e ao exercício físico (PRAZERES, 2004).

Lago *et al*. (1997), a partir de um estudo sobre a duração do tempo de vida de ratas desnutridas com DBR, pôde observar uma diminuição na curva de crescimento e uma duração de vida mais curta nos animais quando comparados com os normonutridos. Pessoa *et al*. (2005), estudaram em 159 ratos, em três gerações sucessivas, os efeitos cumulativos do consumo da DBR sobre o crescimento corporal e desenvolvimento dos órgãos e observaram redução acentuada da curva ponderal, do ganho do peso, do comprimento da cauda e do consumo alimentar.

Os efeitos da desnutrição em longo prazo foram divulgados por Stoch e Smythe bem como por outros autores (WALKER *et al*., 2000). Estes através de estudos seqüenciais, em que múltiplas análises foram realizadas aos 5, 10, 15 e 20 anos, com crianças que sofreram desnutrição na infância, observaram alterações significantes na circunferência da cabeça, na altura e peso e dos quocientes de inteligência verbal e não verbal.

3.3 Desnutrição e Sistema Nervoso

Uma nutrição adequada é essencial para a formação do SNC, para sua organização funcional e para o desenvolvimento do organismo. A ocorrência de deficiência nutricional durante o período crítico de formação do sistema nervoso resulta em alterações morfológicas, neuroquímicas e comportamentais. Um grande número de informações tem se acumulado nos últimos cinqüenta anos sobre as conseqüências da desnutrição para as funções neuroquímicas no SNC (PEREIRA-SILVA, 2007).

Por ser um problema mundial, que afeta milhões de crianças durante os estágios vulneráveis de desenvolvimento do SNC, a desnutrição tem sido amplamente estudada.

Em particular, inúmeros estudos têm demonstrando que mudanças nos nutrientes da dieta podem alterar a morfologia cerebral, bem como as funções bioquímicas, levando a alteração comportamental (BENNIS-TALEB, 1999).

A privação protéica pode causar efeitos deletérios diretos no cérebro, tais como, diminuição do peso cerebral (BORBA, 1998; GUEDES, 1992; PONTES-FILHO, 2003; ROTTA, 2003; SANTOS, 2000), diminuição do volume e alterações na formação do hipocampo (MORGANE, 2002; RANADE, 2008; REZENDE, 2006), prejuízo nos sistemas neurotransmissores (PALMER, 2004), mudanças na fosforilação protéica (SINGH, 1999), alterações no limiar epiléptico (NUNES, 2002;

REZENDE, 2006), déficit nas funções cognitivas e distúrbios de aprendizado e memória (HACKETT, 2001). Além disso, a deficiência protéica pode causar efeitos indiretos por prejudicar órgãos dos principais sistemas, incluindo fígado, pâncreas, rim e baço (DESAI, 1996).

Sabendo que a má nutrição pode ser de diversos tipos diferentes que incluem a deficiência energética crônica, a deficiência protéica ou a privação de micro-nutrientes essenciais tais como o ferro, uma pergunta crítica que permanece não respondida é se estes tipos diferentes de má nutrição afetam de forma similar o desenvolvimento que então resultará em déficits similares na performance cognitiva (RANADE, 2008).

A desnutrição durante o período pré e pós-natal acarreta um retardo na maturação reflexa e somática (PEREIRA-DA-SILVA, 1996). Experimentalmente, esse retardo é mais severo em animais que sofreram desnutrição no período de aleitamento (SMART e DOBBING, 1971).

A carência nutricional pode trazer vários problemas de saúde que se expressam pela perda de peso, baixa estatura, menor resistência às infecções, podendo levar até à morte. Principalmente por volta dos dois anos de vida, a desnutrição pode acarretar as mais severas seqüelas, fase na qual há um crescimento acelerado do corpo e onde o cérebro cresce aproximadamente 80% do seu tamanho adulto; fase na qual também há uma maior necessidade de nutrientes. A privação alimentar nesta fase pode prejudicar o desenvolvimento mental e consequentemente intelectual pela produção de um dano estrutural irreversível no cérebro (BROWN e POLLITT, 1996).

Embora o crescimento encefálico seja menos afetado do que o restante do corpo pela desnutrição, uma pequena diminuição nos níveis ótimos de um simples nutriente durante o período crítico de crescimento cerebral pode significar um atraso no crescimento e na diferenciação celular (MORGAN e WINICK, 1985).

Ao longo de toda a histogênese, o cérebro em desenvolvimento é sensível aos efeitos nocivos da desnutrição. As repercussões finais dessa agressão dependerão do período da vida em que ela incide e da sua duração; será expressa como alterações estruturais e funcionais (ROCHA-DE-MELO, 2001; SANTOS-MONTEIRO, 2002), cognitivas e comportamentais (MORGANE *et al*., 1993), de variada intensidade, observadas tanto em recém-nascidos quanto em adultos.

A desnutrição, principalmente no período inicial de vida quando ocorre o período crítico de crescimento e desenvolvimento, causa efeitos irreversíveis

(DOBBING e SANDS, 1979). A reabilitação nutricional posterior não é capaz de reverter o dano na formação do SNC e na síntese e liberação de neurotransmissores (GONÇALVES, 2001).

Modelos de desnutrição animal durante o período pré-natal levam à alteração do desenvolvimento pós-natal do cérebro apesar da reabilitação nutricional ao nascimento. Alterações no comportamento, anatomia, química e fisiologia estendem-se após o período pós-natal, permanecendo até a vida adulta (FIACCO *et al.,* 2003).

Em estudos experimentais com animais, algumas alterações produzidas pela desnutrição são mais evidentes, tais como a redução do peso corporal e determinadas alterações no desenvolvimento (DOBBING, 1987; LIMA *et al*., 1999; NUNES, 2002). No entanto, há outras alterações estruturais e funcionais que são mais sutis e ocorrem em determinados períodos de desenvolvimento mais acelerado do cérebro, sendo, dependendo de sua natureza, passíveis de reversibilidade diante de reabilitação nutricional (MORGANE *et al*., 1993).

Entre as alterações estruturais, as principais se referem ao menor número e tamanho de células cerebrais, assim como alterações na ramificação dendrítica e na camada de mielina dos neurônios (MORGANE *et al*., 1993). Morgane *et al.* (2002) mostraram que várias regiões do cérebro também são bastante afetadas pela desnutrição precoce, como por exemplo, o córtex, o cerebelo e o sistema hipocampal. Quanto às alterações neuroquímicas, a desnutrição protéica altera o nível de neurotransmissores e o número e a afinidade de alguns receptores de vários sistemas de neurotransmissão, como o serotoninérgico, o dopaminérgico, o gabaérgico e o colinérgico (STRUPP *et al.*, 1995). Além disso, algumas alterações neurofisiológicas produzidas pela desnutrição se referem essencialmente a prejuízos na plasticidade sináptica (GUERRINI *et al.*, 2007; REZENDE, 2006), como a alteração da habilidade de potencialização da neurotransmissão a longo prazo, modificações referentes ao limiar do *kinding* (abrasamento) e modificações no padrão do eletroencefalograma associados ao comportamento do sono (GALLER *et al*., 1996). Do ponto de vista funcional, a desnutrição influencia aspectos como a emoção, a motivação e a ansiedade, além de alterar processos envolvidos na memória e na aprendizagem (STRUPP *et al.*, 1995).

Vários estudos têm apresentado mudanças no sistema nervoso central (SNC) em modelos experimentais de desnutrição protéica pós-natal, particularmente envolvendo sistemas específicos de neurotransmissores (MORGANE *et al*., 2002; ROCHA e SOUZA, 1994; STEIGER *et al.*, 2003; WIGGINS *et al*., 1984).

Nos animais subnutridos, o córtex cerebral tem mais de 40% de perda das sinapses (MORGAN e WINICK, 1985), o que explicaria o prejuízo na transmissão de informações (DYSON e JONES, 1976), uma vez que a quantidade de neurotransmissores estaria diminuída. Essas alterações, acontecidas em decorrência da restrição alimentar precoce de ratos, não podem ser revertidas inteiramente pela reabilitação nutricional, deixando seqüelas permanentes (PEDROSA e MORAES-SANTOS, 1987).

Vilela (2005) observou uma redução de cerca de 20% na dimensão de cérebros de ratos desnutridos desde a gestação e 10% em animais desnutridos desde a lactação.

As sinapses são formadas por mecanismos bem complexos e que ocorrem durante o desenvolvimento pré-natal até a vida adulta. Um dos fatores epigenéticos que regula o número de sinapses no cérebro em desenvolvimento é a quantidade apropriada de nutrientes. Quando em quantidades insuficientes, causa efeitos danosos na formação da sinapse (GRANADOS-ROJAS *et al*., 2002) e na mielinização do cérebro (KAWAI *et al*., 1989). Há evidências de que a disfunção cerebral causada pela desnutrição pode, em parte, ser irreversível. Achados eletro-encefalográficos anormais foram associados à desnutrição por Mourek *et al* (1967).

A desnutrição neonatal afeta a ramificação dendrítica, crescimento axonal e formação de sinapses durante o desenvolvimento do Sistema Nervoso Central, estando todos estes processos diretamente relacionados a biossíntese de proteínas. Durante o período de rápido crescimento do cérebro, a taxa de biossíntese de proteínas está aumentada em cinco vezes quando esta é comparada com animais adultos (LAJTHA et al., 1979). No entanto, a biossíntese de proteínas pode ser bloqueada pela desnutrição, conforme estudos prévios em animais experimentais submetidos à restrição de alimentos, onde foi encontrada uma menor taxa de biossíntese de proteínas no grupo de animais desnutridos, em estudos “in vitro” (MORAES-SANTOS,1981), “ex vivo” (SANTOS e MORAES-SANTOS, 1979), e estudos “in vivo” (PEDROSA e MORAES-SANTOS, 1987).

Alterações eletroencefalográficas e comportamentais, provocadas por desnutrição protéica pré-natal foram descritas por Bronzino *et al*. (1986).

Padilha (1970) observou, em ratos alimentados com dietas contendo baixos teores de proteínas, uma velocidade de condução do impulso nervoso de aproximadamente 10 metros/segundo; em ratos da mesma idade e que recebiam quotas normais de proteínas, a média era de 44 metros/segundo.

Uma das estruturas cerebrais, particularmente afetada, por esse tipo de insulto é o hipocampo, no qual ocorre uma significativa neurogênese no período pós-natal (BAYER e ALTMAN, 1974; RANADE, 2008).

O conceito relativo ao impacto da injúria precoce ao cérebro está baseado na concepção de que há períodos do desenvolvimento durante os quais o organismo é particularmente vulnerável. Este, denominado período crítico, representa um único período restrito de desenvolvimento que não pode ser revertido ou repetido posteriormente. Durante o período de rápido crescimento cerebral (período no qual processos organizacionais estão sendo modificados mais rapidamente), cada sub-região do cérebro segue uma cuidadosa e intrincada programação seqüencial de desenvolvimento, a qual deve ser sincronizada temporalmente com outras regiões interligadas, de tal forma que o produto final seja intacto e apto na estrutura madura. O desenvolvimento normal também depende da formação e diferenciação de células neurais, ocorrendo de forma inter-relacionada. Uma das maiores incumbências do cérebro em desenvolvimento é estabelecer padrões corretos de conexões em um determinado período de tempo (MORGANE *et al.* 2002). Distorções na maturação coordenada de diferentes componentes cerebrais poderão romper o crescimento ordenado e elaboração do circuito neural (MORGANE *et al*., 2002). Atraso em apenas poucos eventos neurológicos isolados resultantes da desnutrição pode causar reações em cadeia amplificando erros funcionais. Interferências temporais na progressão de processos morfológicos, anátomo-fisiológicos e bioquímicos de desenvolvimento do SNC, podem levar ao déficit funcional permanente (MORGANE *et al*., 2002).

Cérebros de desnutridos podem apresentar mudanças transitórias e/ou permanentes na estrutura e função, que têm sido demonstradas através de experimentos com animais (MORGANE *et al*., 1993) e humanos (LEVITSKY *et al*., 1995). Diferentes caminhos têm sido usados para entender até que ponto as desordens nutricionais afetam os aspectos neuroanatômicos (BORBA *et al*., 2000; FRAZÃO *et al*., 2008;), bioquímicos (MARÍN *et al*., 1995; RESNICK *et al*., 1979) e eletrofisiológicos do cérebro (GUEDES, 1992; NUNES, 2002; REZENDE, 2006). Está claro, que tais mudanças são muito mais severas quando a desnutrição coincide com chamado "*brain growth spurt*", que corresponde às fases mais intensas da neurogênese, glicogênese e migração neuronal, nessas áreas corticais (MORGANE *et al*., 1993).

Este fato ocorre por duas razões fundamentais: em primeiro lugar, porque os processos implicados na evolução neural (hiperplasia, hipertrofia e mielinização) estão ocorrendo com grande velocidade; em segundo lugar, como decorrência do primeiro fato, o sistema nervoso é neste período, altamente dependente do suprimento de nutrientes, os quais fornecem a "matéria-prima" e a energia necessária ao seu desenvolvimento (GUEDES, 1992).

Privação nutricional durante o crescimento cerebral pode promover diferentes mudanças métricas características da desnutrição. Por exemplo, tem sido demonstrada diminuição do peso e volume cerebrais, assim como a diminuição da densidade do córtex cerebral (BALLABRIGA, 1990; MORGANE, 1992; PONTES-FILHO, 2003; SANTOS, 2000). Além do aumento no número de prolongamentos dendríticos nos neurônios piramidais do córtex visual (DIAZ-CINTRA *et al*., 1990) também ocorre redução do número e da densidade desses prolongamentos no córtex occipital (SALAS *et al*., 1974).

O direcionamento e o deslocamento das células nervosas para seu habitat final são dependentes da expressão de moléculas de adesão na superfície delas e da sua interação com a matriz extracelular. Assim, agentes agressores que interfiram na formação dessas moléculas de adesão, como a desnutrição, determinarão o retardo ou o bloqueio da migração. O retardo fará com que os neurônios jovens cheguem muito tarde aos seus alvos definitivos, prejudicando a formação dos circuitos neurais (PONTES-FILHO, 2003).

Yeh (1988) verificou redução de 30 a 40% no teor de mielina cerebral, bem como redução de outros compostos lipídicos em ratos desnutridos no aleitamento.

A supressão de nutrientes importantes para o desenvolvimento e manutenção do tecido cerebral determina um vasto conjunto de alterações morfológicas e fisiológicas, induzindo o surgimento de substratos anatômicos específicos nos diferentes tipos de estados de desnutrição (LEVITSKY e STRUPP, 1995).

Os nutrientes são necessários não só para neurônios, mas também para dar suporte às células gliais. A proteína parece ser o componente mais crítico a interferir durante o período de crescimento rápido do cérebro. Assim, a síntese de proteínas estruturais, o crescimento, a organização funcional e a produção de neurotransmissores cerebrais dependem da disponibilidade de aminoácidos essenciais contidos nas proteínas da dieta (WINGGINS, 1984).

Inúmeros estudos têm demonstrado uma estreita associação entre a ocorrência da desnutrição proteico-calórica grave e o prejuízo para o

desenvolvimento do cérebro, com a conseqüente alteração do seu funcionamento (DIXON, 1992; MORGANE, 1992; PICANÇO-DINIZ, 1998; POLLITT, 1995; RAO, 1993; RASMUSSEN, 1992; RESNICK, 1984; REZENDE, 2006; ROCHA-DE-MELO, 1997; RUIZ, 1985; SANTOS, 2000).

Para Morgane e colaboradores (1993) a desnutrição altera o ritmo de proliferação das células-tronco neurogliais. A proliferação dessas células precursoras seria reduzida devido à sua maior necessidade nutricional, uma vez que, para se multiplicarem, precisam produzir DNA em grande quantidade (MORGANE *et al*., 1993).

Não só uma desnutrição protéica severa, mas também uma desnutrição protéica moderada podem aumentar o prejuízo oxidativo para lipídios (aumentando os níveis de peroxidação lipídica) e proteínas em áreas do SNC, incluindo a coluna vertebral, por destruir seu sistema de defesa antioxidante. Desse modo, conclui-se que não só uma severa, mas também, uma moderada desnutrição protéica tem efeitos deletérios nas estruturas do SNC (TATLI, 2007).

Muitas investigações acharam alterações bioquímicas no sistema nervoso em modelos experimentais desnutridos (BONATTO *et al*., 2006; FEOLI *et al*. 2008; GARCIA *et al*., 2005), especialmente aqueles associados aos sistemas neurotransmissores, (FEOLI *et al*., 2008; ROTA *et al*., 2003; STEIGER *et al*., 2003), fosforilação das proteínas da membrana sináptica (SINGH e SHANKAR, 1999), e conexões neuronais (MORGANE *et al*., 2002; PERRY e SOUZA, 2003).

Em animais de laboratório, a desnutrição protéica em idades precoces provoca alterações no tecido nervoso, tais como: diminuição nos teores de glicogênio e glicose cerebrais; aumento na utilização de corpos cetônicos; aumento na concentração de ácido glutâmico e glutamina (GARRIGA, 1992; JOHN, 1991).

Várias linhas de pesquisa têm apresentado que a síntese de mielina é significativamente reduzida pela má nutrição (MONTANHA-ROJAS *et al*., 2005; SANTOS, 2000) e como resultado poucas fibras nervosas serão mielinizadas (PEELING e SMART, 1994 a, b). No desenvolvimento cerebral, dieta pobre também altera a distribuição da espinha dendrítica nos neurônios, com efeitos similares àqueles causados pelo álcool, toxinas e infecções (FIALA, 2002).

A desnutrição protéica produz redução do tecido cerebral acompanhada por um aumento de proteínas gliais em diferentes estruturas cerebrais (córtex, hipocampo, cerebelo) (FEOLI, 2008).

Má nutrição protéica severa provoca a longo prazo efeitos deletérios oxidativos em macromoléculas pela diminuição dos níveis da peroxidação lipídica e significativo decréscimo dos níveis de tirosina e triptofano. Dano oxidativo para lipídios e proteínas pode está associado com numerosas alterações na estrutura da membrana, parâmetros bioquímicos, e atividades funcionais, tais como, fluidez da membrana e disfunção mitocondrial (HALLIWELL, 1992).

A atividade da catalase e os níveis de triptofano e tirosina encontram-se reduzidos no cerebelo, córtex e hipocampo de animais mal nutridos (FEOLI, 2006).

Feoli *et al*. (2008) observou aumento da ativação do gene ERK 1/2 (sinal extracelular de ativação de kinases) no tecido do córtex cerebelar dos animais desnutridos no 2º. e 15º. dias de vida pós-natal. Essa elevação basal da ativação da ERK em ratos neonatos desnutridos poderia participar da alteração celular responsável por injúrias, como observado, por exemplo, em hepatócitos expostos a interleucina-6 (LING *et al*., 2004).

Bonatto (2006) reportou aumento de lipoperoxidação no cerebelo e aumento da atividade da catalase no córtex cerebral de ratos desnutridos. Também foi detectado diminuição na atividade da superóxido desmutase no cerebelo como resultado da desnutrição.

Existem no córtex visual de animais desnutridos estruturas celulares mais susceptíveis (axônios terminais reativos a biocitina), enquanto outras mostram menor sensibilidade (neurônios NADPH-d positivos) à injúria representada pela desnutrição (PICANÇO-DINIZ *et al*., 1998).

Pontes-Filho (2003) observou em seus estudos, a modificação do padrão citomorfológico do córtex cerebral em ratos aos 40 dias de vida, concluindo que a desnutrição aumenta a área do soma e a densidade de neurônios NADPH-d positivos, embora haja redução do volume encefálico.

Períodos moderados a severos de desnutrição, antes dos dois primeiros anos de vida em humanos, são associados a retardos no desenvolvimento cognitivo e ao desempenho escolar em crianças (FIACCO *et al.,* 2003).

Estudos de comportamento animal têm demonstrado que a desnutrição durante o desenvolvimento cerebral pode resultar em demora para adquirir certas habilidades, tais como o aprendizado e a atenção (LISTER *et al.*, 2005; SOTO-MOYANO *et al*., 2005).

A plasticidade é uma propriedade do SNC em resposta a um estimulo, podendo esta propriedade ser funcional ou não. A desnutrição neonatal dificulta esta

resposta fisiológica, impedindo processos de aprendizado e memória, assim como respostas a injúrias (REZENDE, 2006).

Neuroplasticidade congrega diversos processos de vital importância pelos quais o cérebro percebe, se adapta e responde à variedade de estímulos internos e externos. As manifestações da neuroplasticidade no sistema nervoso central adulto são caracterizadas como alterações na função dendrítica, reestruturação sináptica, brotamento axonal, extensão do neurônio, sinaptogênese e neuronogênese (MESULAM, 1999). A plasticidade exerce um importante papel em resposta às injúrias.

Rezende (2006) analisando a neuroplasticidade em ratos desnutridos, não encontrou diferença estatisticamente significativa no teor de proteína e DNA no hipocampo de animais, destacando que o tamanho e o número de células permaneceram inalterados por ação da desnutrição, confirmando dessa maneira, os dados de Hammer *et al*. (1980) e Villescas *et al*. (1980).

Déficits de desenvolvimento resultantes da desnutrição não levam necessariamente às disfunções cerebrais imediatas. A maior parte dos fenômenos biológicos opera com um nível de substratos além daquele necessário para encontrar a velocidade máxima ou manter as condições de equilíbrio. Portanto, as conseqüências de uma limitação anormal durante um período específico do desenvolvimento cerebral podem permanecer subliminarmente, ou podem apenas manifestar-se como uma predisposição, até que o sistema passe por situações de estresse emocional ou ambiental não usual.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a morfologia do córtex cerebral posterior de ratos adultos, submetidos à desnutrição crônica (DBR) desde o desmame até os 5º., 7º. e 9º. meses de idade.

3.2 Objetivos específicos

a) Avaliar o efeito da desnutrição crônica sobre o peso corporal e o peso úmido cerebral.

b) Realizar estudo histológico de áreas do córtex cerebral posterior, avaliando através de morfometria:

- a densidade neuronal do córtex cerebral;
- a área do corpo celular neuronal.

METODOLOGIA

4. METODOLOGIA

O presente trabalho faz parte de projeto de pesquisa executado em parceria com o Programa de Pós-graduação em Fisiologia e Farmacologia - CCB/UFPE, tendo sua metodologia sido aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal – CCB conforme o oficio nº. 008507/2007-16 (Anexo A).

4.1 Animais e dietas

Os animais utilizados na experimentação, oriundos do biotério do Departamento de Fisiologia do Centro de Ciências da Saúde/UFPE, foram mantidos em ambiente com ciclo claro-escuro de 12 horas, com temperatura de 23 ± 1°C, com sistema de exaustão, em gaiolas plásticas, com grades metálicas (33x40x17 cm) e com oferta de água filtrada *ad libitum* durante todo o experimento.

Inicialmente, as matrizes foram colocadas para o acasalamento e acompanhadas, durante as fases de gestação e aleitamento. Durante todas as fases, as matrizes foram alimentadas com a dieta padrão Labina®. As proles foram desmamadas aos 21 dias de vida, sendo selecionados, para a pesquisa, apenas os machos. Estes foram agrupados em gaiolas plásticas, com grades metálicas com proporção quatro/uma. Os animais foram separados em seis grupos experimentais com 6 animais/grupo: 3 grupos NORMONUTRIDO (N) com ratos alimentados com a dieta padrão Labina® (23% proteína) e 3 grupos DESNUTRIDO (D), submetido à DBR (8% proteína) durante todo o período de estudo. Ambos os grupos receberam a dieta e água *ad libitum*.

Grupos experimentais:

- N5: animais nutridos com Labina® durante 5 meses
- D5: animais desnutridos por DBR durante 5 meses
- N7: animais nutridos com Labina® durante 7 meses
- D7: animais desnutridos por DBR durante 7 meses
- N9: animais nutridos com Labina® durante 9 meses
- D9: animais desnutridos por DBR durante 9 meses

4.2 Preparo da DBR

O preparo da dieta foi realizado segundo Prazeres *et al* (2004). A tabela 1 apresenta a composição centesimal da dieta DBR.

Tabela 1. Composição centesimal da Dieta Básica Regional

INGREDIENTES	g (%)	COMPOSIÇÃO					
		Proteína	Carboidrato	Gordura	Sais Minerais	Fibras	Kcal
Feijão Mulatinho	18,34	3,99	10,66	0,24	0,57	1,09	60,76
Farinha de Mandioca	64,81	0,80	48,49	0,12	0,43	5,64	198,80
Charque Desengordurado	3,74	2,74	0,43	0,06	0,06		14,57
Gordura de Charque	0,35			0,35			3,15
Batata Doce	12,76	0,30	9,99	0,03	0,20	0,48	58,87
Total	100,00	7,83	69,57	0,80	1,26	7,21	336,15

Fonte: Modificado de Teodósio *et al*. (1990).

4.3 Aferição dos pesos corporal e encefálico

No dia do sacrifício, os animais foram pesados, utilizando-se balança eletrônica e anestesiados, por via intraperitonial, com solução aquosa contendo pentobarbital 25-40mg/kg. Em seguida ocorreu a abertura da calota craniana com retirada do encéfalo, excluíram-se o cerebelo e o bulbo olfatório para a aferição do seu peso úmido em balança analítica, que posteriormente foi acondicionado em formalina a 10% tamponada em PBS (Phosphate Buffered Saline - pH 7,4) durante 48 horas.

4.4 Processamento histológico

Após a fixação, o cérebro foi dividido em 3 partes através de dois cortes coronais eqüidistantes aos pólos cerebrais. Os fragmentos correspondentes ao cortéx visual foram então processados em histotécnico (processador de tecidos automático) durante 12 horas e posteriormente emblocados em parafina histológica. A seguir, os blocos parafinados foram submetidos à microtomia utilizando navalhas (Feather S35) (Figura 2) obtendo-se cortes histológicos (4µm), que foram montados em lâminas histológicas previamente albuminizadas, as quais ficaram secando em placa térmica por cerca de 2 horas. De cada bloco foram confeccionadas 3 lâminas.

Os cortes histológicos foram desparafinizanados e hidratados e em seguida corados pela técnica cresil violeta acético - coloração de Nissl (núcleo e corpúsculos de Nissl) (Figura 3) de acordo com Behmer e col. (1976) modificado. Por fim, as lâminas foram montadas, utilizando Entelan® pra fixação da lamínula.

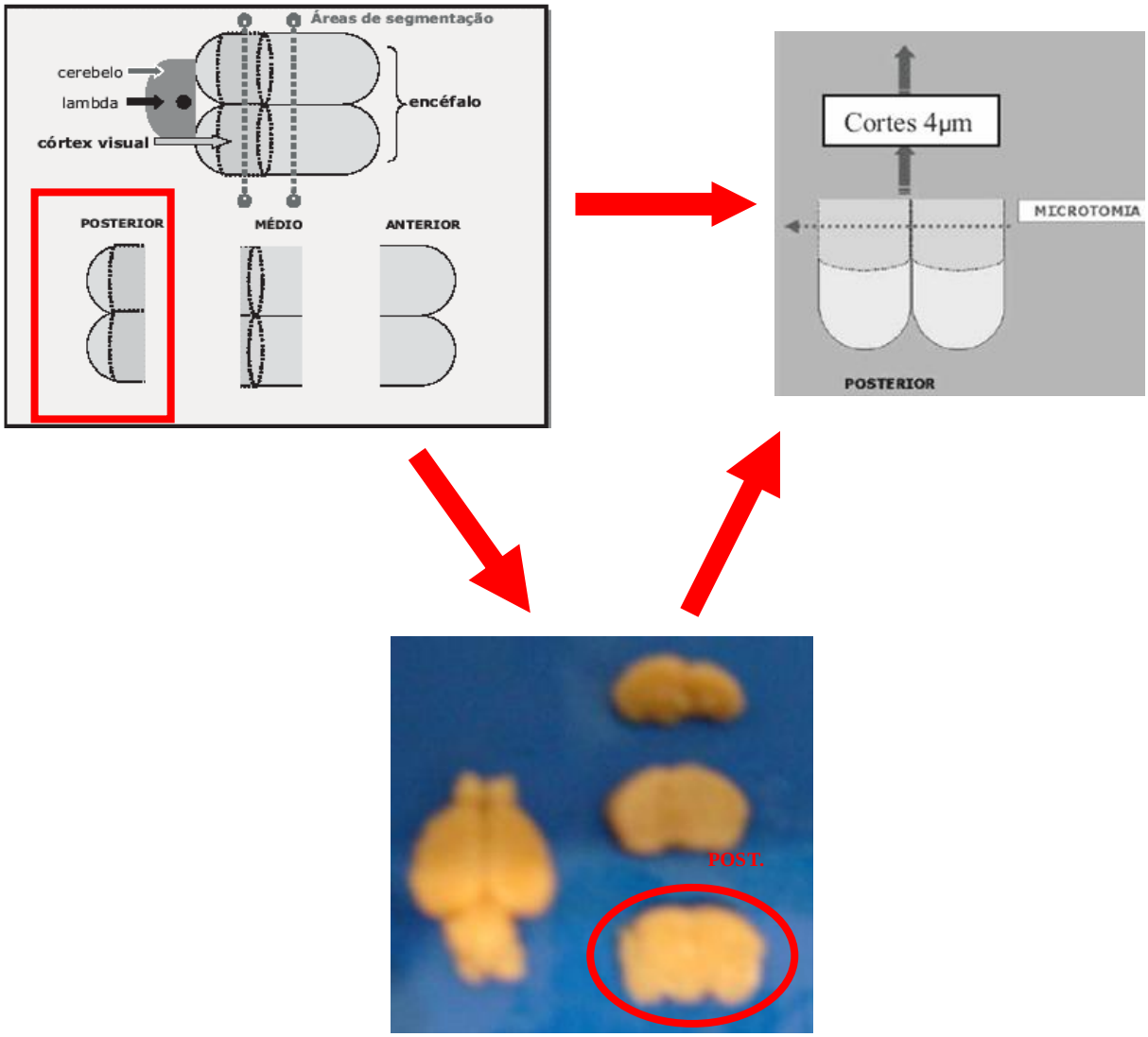

Figura 2: Esquema dos planos de microtomia. Obtenção dos cortes coronais seriados.

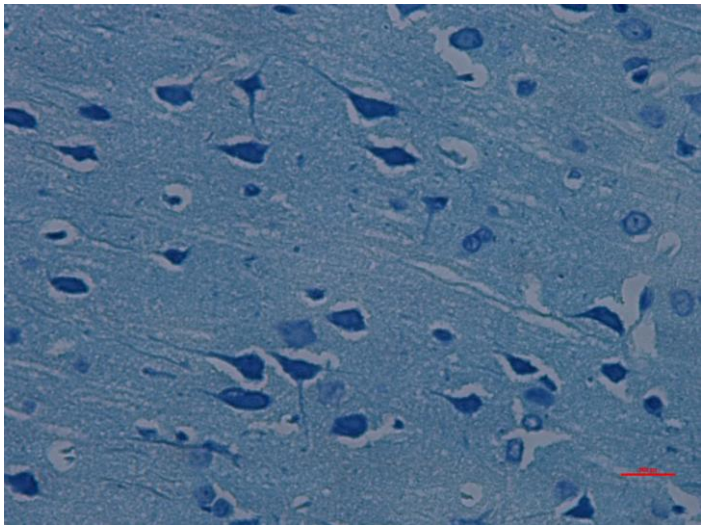

Figura 3: Fotomicrografia (400x) das células neuronais coradas pelo cresil violeta.

4.5 Análise microscópica e morfométrica

Para a análise microscópica foi feito estudo convencional utilizando-se microscópio que continha câmera digital acoplada a qual gerava a imagem digitalizada no software analisador de imagens NIS-elements F version 2.30. Em cada corte histológico captava-se, aleatoriamente, imagens (aumento de 400X) de 3 áreas do córtex, gerando que foram analisadas. No estudo morfométrico avaliou-se a densidade neuronal e a área do pericário desses neurônios da camada imediatamente inferior à camada molecular do córtex visual, para tal estudo foram utilizados os aplicativos Image J 1.40® e Mesurin_pro® .

4.6 Análise estatística

Na análise estatística utilizou-se o software GraphPad Prism 5, onde o test *t* foi empregado para comparar os pesos encefálicos e corporais entre animais de grupos diferentes. Em todos os casos, considerou-se como nível de significância para rejeição da hipótese nula um valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Peso Corporal

O peso corporal de todos os animais do estudo foi avaliado (Tabela 2 - Anexo B). Observou-se que a desnutrição induzida por DBR provocou uma redução significativa na massa corporal dos animais de todos os grupos. A redução foi decrescente ao longo da idade, pois aos 5 meses os animais DBR pesavam, em média, apenas 27,7% do peso total do animal normonutrido, aos 7 meses, 29,1% e por fim aos 9 meses de vida os animais DBR pesavam cerca de 32% do peso dos animais normonutridos.

Os animais desnutridos (D), alimentados com a dieta experimental DBR contendo apenas 8%de proteína, apresentaram uma redução de 72,3% do peso corporal em relação aos animais controle (N), aos 5 meses de idade. Este grupo apresentou a maior diferença em relação ao peso corpóreo.

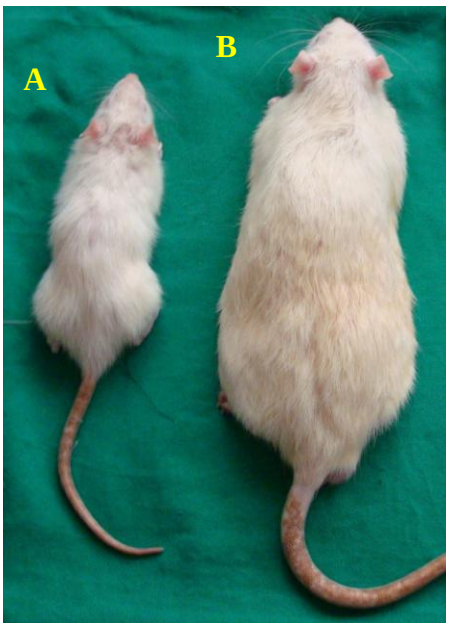

Figura 4: Comparação de ratos 9 meses: DBR (A) com um Normonutrido (B).

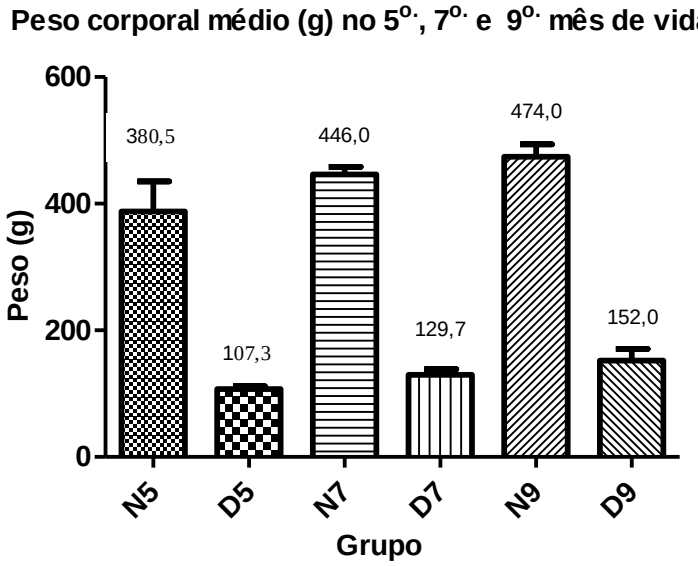

Gráfico 1: Efeito da DBR sobre o peso corporal dos ratos. Os grupos D representam os animais DBR, os N, os animais normonutridos nas diferentes idades, 5, 7 e 9 meses. Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student ($p < 0,05$).

5.2 Peso cerebral

A comparação feita entre os grupos mostrou que o peso cerebral também foi visivelmente reduzido nos animais desnutridos.

A análise dos valores médios relativos ao peso encefálico durante o 5º, 7º e 9º mês de vida pós-natal demonstrou diferença significativa (Gráfico 2 e Tabela 3 - Anexo B). A menor redução no peso cerebral foi vista nos animais D7, pois este correspondia à 87% do peso do grupo N7; enquanto que a maior redução, por sua vez, ocorreu no grupo D9 onde a média do peso dos cérebros desse grupo correspondia a 81,55% do peso cerebral do grupo N9. No 5º. mês de vida o peso cerebral dos animais DBR correspondia à 84,61% do peso médio dos animais normonutridos na mesma idade.

Todos os pesos foram comparados pareando-se os animais de ambos os grupos quanto à idade, uma vez que a faixa etária variou entre 5, 7 e 9 meses.

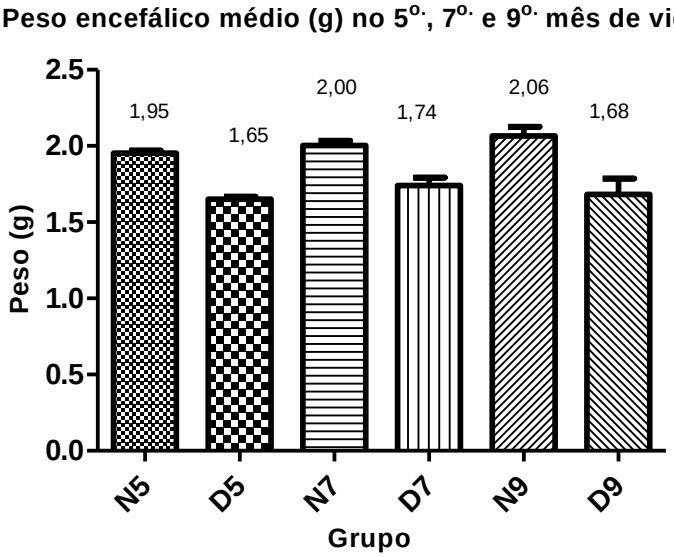

Gráfico 2: Peso cerebral (média ± desvio padrão) nas diferentes idades, 5, 7 e 9 meses dos ratos Wistar, submetidos à DBR (D5, D7, D9) e Labina® (N5, N7, N9). Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student (p< 0,05).

5.3 Estudo morfométrico

Os dados referentes ao estudo morfométrico, quantidade do numero de células e área do soma neuronal, foram submetidos ao Test *t* de Student. Essa avaliação não demonstrou significância entre os grupos tratado (desnutrido) e grupos controle (normonutrido) (Gráficos 3 e 4 e Tabela 4 - Anexo B).

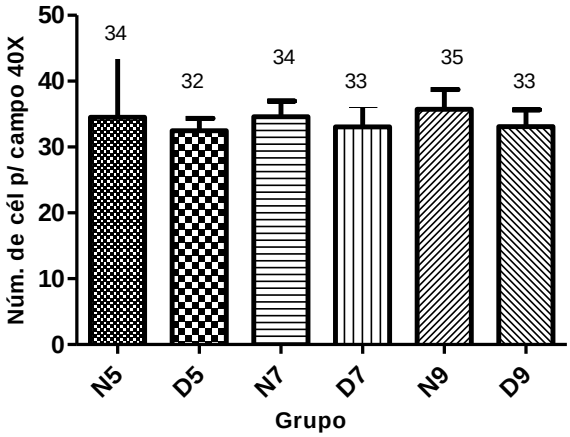

Gráfico 3: Número neurônio por campo (400X) (média ± desvio padrão) em diferentes idades, 5, 7 e 9 meses dos ratos Wistar, submetidos à DBR (D5, D7, D9) e Labina® (N5, N7, N9). Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student. (p< 0,05).

As médias da área do soma dos neurônios não apresentaram diferença significativa entre os grupos, como demonstrado no gráfico 4.

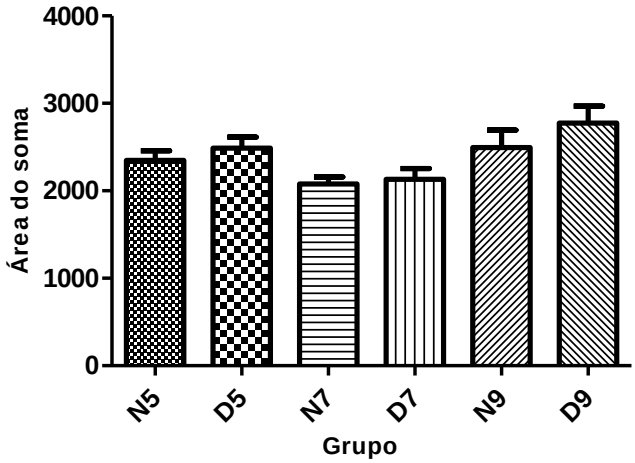

Gráfico 4: Área do soma neuronal (média ± desvio padrão) de ratos Wistar, em diferentes idades, 5, 7 e 9 meses, submetidos à DBR (D5, D7, D9) e Labina® (N5, N7, N9). Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. Teste t de Student ($p < 0.05$).

DISCUSSÃO

6. Discussão

6.1 Efeitos do tratamento nutricional sobre o peso corporal

No presente estudo, investigamos as repercussões cerebrais da má nutrição decorrente de uma dieta multideficiente hipoproteica e hipercalórica, imposta em ratos, durante seu desenvolvimento, o que caracterizou um modelo de desnutrição crônica. Este modelo avaliou, portanto, aspectos nutricionais durante o envelhecimento.

A redução do peso corporal pode ser utilizada como um indicador básico do grau de desnutrição (LUCAS, 1998), o que confirma a efetividade do modelo experimental empregado. O estudo experimental (DBR) de má nutrição utilizado neste trabalho, a partir de uma dieta multideficiente, que mimetiza a dieta utilizada pelos habitantes da região da zona da mata de Pernambuco, conforme descrito por Teódosio *et al*. (1990), difere de outras metodologias utilizadas para induzir a desnutrição que se caracterizam por redução isolada do teor protéico (6%) (OLIVEIRA *et al.*, 2004; PENITENTE *et al.*, 2007; TROPIA *et al.*, 2001) ou ainda, por utilização de dietas balanceadas, porém, com redução quantitativa (restrição de 50% na ingestão) para o grupo dos animais desnutridos (CICOGNA *et al.*, 2000; OKOSHI *et al.*, 2004; REZENDE, 2006; SUGUZAKI *et al.*, 2005).

As proteínas encontradas na DBR além de se apresentarem em quantidade muito pequenas são predominantemente de origem vegetal. Essas proteínas quando comparadas às de origem animal, são consideradas de qualidade inferior, uma vez que não fornecem teores de aminoácidos essenciais adequados ao desenvolvimento normal do organismo (TEODÓSIO *et al.*, 2000). Andrade *et al*. (1990), estudando em ratos, os efeitos da suplementação nutricional da DBR, verificaram que a redução de pesos corporal e encefálico ocorriam devido principalmente à deficiência protéica da DBR.

O protocolo de desnutrição empregado determinou uma acentuada e precoce redução no ganho de peso corporal dos ratos, a qual se manteve até o final do período estudado (nove meses). Redução do ganho ponderal também foi encontrada em outros estudos que utilizaram o rato como modelo experimental, seja por desnutrição induzida por restrição alimentar 50% (SUGIZAKI *et al*., 2005)**,** ou por

dietas hipoproteicas (6% de proteína) (OLIVEIRA *et al*., 2004; PENITENTE *et al*., 2007; PONTES-FILHO, 2003; TROPIA *et al*., 2001).

O modelo experimental utilizado causou um drástico déficit de ganho ponderal nos animais mal nutridos, sendo que os animais desse grupo exibiram, no final do experimento (9 meses), significativa redução no peso corporal que correspondia a, aproximadamente, 25% do peso corporal do grupo controle para a mesma idade. Além disso, o aspecto físico do rato do grupo DBR aos nove meses de idade era semelhante ao observado nos animais normonutridos (controle) para idade de um mês.

Além da redução dos componentes, em termos qualitativos, a dieta experimental, apresentava reduzido teor protéico (8,59%), que se caracterizou abaixo do requerimento do rato e dos teores da dieta utilizada pelos animais controle (20,5%). A redução do teor de proteínas na dieta acarreta menor *turnover* de proteínas no corpo, acarretando uma menor síntese protéica nos tecidos. Essa redução demonstra a falência do crescimento corporal dos animais expostos a dietas hipoprotéicas (WYKES *et al.*, 1996).

De acordo com o nosso desenho experimental, a DBR imposta aos ratos a partir do 21º. dia de vida pós-natal, promove uma diminuição do peso corporal ao longo do seu crescimento.

6.2 Efeitos do tratamento nutricional sobre o peso cerebral

A diferenciação e maturação do cérebro seguem uma história ontogenética característica de cada elemento celular neuronal. O desenvolvimento das células neurais inclui eventos específicos, tais como, crescimento neuronal, sinaptogênese, desenvolvimento da atividade elétrica e mielinização (TAKEUCHI *et al*., 1998).

O desenvolvimento normal do cérebro requer uma elevada síntese protéica e a presença de alguns hormônios, que são essenciais à migração celular, ao crescimento de dendritos e axônios, formação de sinapses, mielinização e gliogênese. A deficiência desses fatores debilita seriamente a organização e desenvolvimento estrutural do cérebro, afetando também a fisiologia oligodendrocítica e neuronal (PORTERFIELD, 1993).

Um dos fatores que regula a formação do SNC é a quantidade apropriada de nutrientes, portanto ao se ter diminuição do peso corporal, por falta de elementos essenciais ao organismo, advindos de uma boa nutrição, ter-se-á prejuízo na

biossíntese de proteínas com uma provável diminuição do peso cerebral, o que causará consequências na formação e desenvolvimento das estruturas (alterações do hipocampo, córtex e cerebelo; déficit de neurotransmissores) e funções cerebrais (cognitivas; memória e aprendizado; prejuízo na plasticidade sináptica, dentre outras) as quais também dependem desses elementos essenciais.

A série de eventos seqüenciais apresentada pelo sistema nervoso durante o desenvolvimento pré e pós-natal determina a composição neuroquímica e a estrutura morfofuncional definitivas, presentes no adulto (MORGANE *et al*., 1993). Entretanto, a estrutura do sistema nervoso não é homogênea. Assim, a proliferação celular varia em intensidade, de acordo com a região, o tipo celular e a etapa do desenvolvimento (MORGANE *et al*., 1993; WINICK, 1972).

No caso da desnutrição, a redução do peso encefálico, resulta provavelmente do menor número e/ou menor tamanho dos elementos celulares, bem como de alterações nos processos de maturação neuronal, levando à diminuição do desenvolvimento da arborização dendrítica, sináptica e da mielinização (MORGANE *et al*., 1992).

Em animais desnutridos, particularmente durante o aleitamento, é freqüente a ocorrência de mudanças estruturais, tais como: modificação da espessura do córtex cerebral, da arborização dendrítica e do número de seus segmentos, do calibre dendrítico, da proliferação glial, do diâmetro axonal e da mielinização (MORGANE *et al*., 1993). Há redução do peso do cérebro e do cerebelo e diminuição da biossíntese protéica neural, porém comparavelmente menor do que a redução ocorrida em outros órgãos (MORGANE *et al*., 1993). A reversão das alterações de tamanho e composição dos cérebros de animais desnutridos depende da intensidade da desnutrição (MORGANE *et al*., 1993).

Em animais de laboratório, a DBR provoca alterações clínicas e bioquímicas, associadas à redução do desenvolvimento somático (TEODÓSIO *et al*., 1981; 1983; 1990).

No rato, a desnutrição pós-natal compromete principalmente a multiplicação de células gliais, a julgar por alterações no conteúdo de DNA após o nascimento. Nessa fase, o aumento do DNA indica, sobretudo, aumento do número de células da glia. (CORDERO *et al*., 1982).

O encéfalo, apesar de ser protegido em detrimento de outras estruturas, como as vísceras, quando este está sob um insulto nutricional (HALES e BARKER, 1992), à semelhança do efeito sobre o peso corporal dos animais, apresentou diminuição

do peso encefálico ocasionada pela desnutrição pós-desmame. Assim como o peso corporal, estes dados estão de acordo com a literatura (OLIVEIRA, 1998; PONTES-FILHO, 2003; REZENDE, 2006; ROCINHOLI *et al*., 1997; SILVA, 2000).

O modelo de restrição adotado permite ainda extrapolações para o ser humano, considerando a semelhança com o que ocorre em encéfalo de crianças desnutridas na infância, com ou sem reabilitação nutricional após o período crítico de crescimento e desenvolvimento humano (DOBBING e SANDS, 1979).

Os resultados apresentados em nosso trabalho indicam que de modo geral, e nos períodos estudados houve interferência do fator nutricional nos pesos corporal e encefálico.

6.3 Efeitos do tratamento nutricional sobre o padrão morfológico do córtex cerebral

Em resposta a desnutrição, o encéfalo é menos atingido do que qualquer outro órgão. Isto é verificado quando calcula-se o peso do encéfalo como uma proporção do peso corporal. Esse fato referido por Winick e Noble (1966) demonstram que mecanismos de proteção entram em atuação para poupar o cérebro da agressão nutricional, em relação a outros órgãos.

Nossos resultados em relação à média do número de células neuronais não mostraram significância entre os grupos. No entanto, acreditamos que o que levou os animais do grupo DBR a apresentar o mesmo número de células do grupo controle (normonutrido) poder ter sido o “empacotamento”, perda de matriz cerebral e água, que o cérebro sofre ao reduzir seu tamanho. No cérebro desnutrido, a maior densidade de “empacotamento” resulta do agrupamento dos elementos celulares cerebrais de forma mais compacta porque há menos mielina entre eles. Embora em menor tamanho e número, tais elementos se encontram mais próximos, uns dos outros, do que nos animais bem nutridos, ocasionando um aumento da densidade celular cerebral (GAMBETTI *et al*., 1974; MORGANE *et al*., 1978).

Dependendo do grau da injúria nutricional, período e tempo de imposição (MORGANE *et al.* 2002) e de eventual posterior reabilitação nutricional (GRESSENS *et al*., 1997), nem alterações anatômicas ou patologias focais equivalentes a lesões microscópicas, nem mesmo retardo mental expressivo ou psicopatologias são detectáveis. No entanto, poderão resultar em condições sub-otimizadas permanentes do desenvolvimento intelectual e comportamental. Desequilíbrio no

sistema de neurotransmissores, por exemplo, mais do que lesões focais aparentes contribuem significativamente para alterações funcionais tardias (MORGANE *et al*., 2002).

O cérebro procura se adaptar a situação de agressão, na tentativa de preservar funções vitais para a sobrevivência da espécie (BORBA, 1998)

Alguns autores (FEOLI *et al*., 2008; MORGANE *et al*., 1993) afirmam que a desnutrição provoca maiores efeitos a nível cerebral quando ocorre durante a gestação e o período de lactação. Isto leva-nos a justificar também nossos achados, pois o nosso período de estudo – pós-desmame – seria um período onde o cérebro já não cresce tão intensamente como na fase de *"brain growth spurt*", tendo dessa forma uma neurogênese, glicogênese e migração neuronal menos intensa.

As medidas de área e de volume celular representam um dos desafios para o estudo da morfometria tecidual já que esses parâmetros são influenciados pelo "instante dinâmico" pelo qual o tecido está passando no momento de sua obtenção. Nossos resultados não indicaram diferença nessas medidas. Picanço-Diniz e colaboradores (1998) e Borba e colaboradores (2000) sugeriram que os neurônios da substância cinzenta cortical podem modificar sua área conforme o estímulo recebido num determinado momento, podendo posteriormente voltar a sua condição de "normalidade", significando que a variação da área celular constitui uma modificação transitória. De fato, diante de estímulos, fisiológicos ou não, um tecido pode apresentar diferentes comportamentos. Considerando que essas são condições adaptativas, supõe-se que a medida celular é diretamente correlacionada ao momento metabólico da célula (RUBIN, 1998).

Acreditamos então, que o padrão morfológico do córtex cerebral não se alterou por um conjunto de dois fatores associados: "empacotamento" e "instante dinâmico" que ocorreu o estudo, já que a média do número de células neurais dos grupos 5 meses (N5 e D5) era basicamente a mesma dos grupos 9 meses (N9 e D9), mostrando que a partir da idade estudada o cérebro já não estava mais na fase de "crescimento rápido", o período mais crítico do desenvolvimento do SNC.

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

No protocolo experimental proposto podemos observar que:

1. A dieta básica regional (DBR) interfere no desenvolvimento reduzindo os pesos corporal e encefálico.
2. A área do corpo celular neuronal não sofreu modificação.
3. Não ocorreu alteração do padrão citomorfológico do córtex cerebral de ratos.

REFERÊCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELIS, R.C. *Fisiologia da Nutrição* vol. 2. São Paulo, SP: Nobel, 1986.

ANDRADE, F.D.; GUEDES, R.C.A.; TEODÓSIO, N.R. Enhaced rate of cortical spreading depression due to malnutrition; prevention by dietary protein supplementation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 23: 889-893, 1990.

BAYER, S.C.; ALTMAN, J. Hippocampal development in the rat. *J. Comp. Neurol.,*158: 55-80, 1974 .

BALLABRIGA, A. Malnutrition and the central nervous system. The malnourished child, edited by Robert M. Suskind and Leslie Lewinter Suskind. Nestlé Nutrition Workshop Series. V. 19. Nestec Ltd. New York: Raven; 1990.

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; NETO, A.G.F. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo, SP: Editora da Universidade de São Paulo, 1976. 137p.

BENNIS-TALEB, N.; REMACLE, C.; HOET, J.J.; REUSENS, B. A low protein isocaloric diet during gestation affects brain development and alters permanently cerebral cortex blood vessels in rat offspring. *J. Nutr*. 129: 1613-1619, 1999.

BIRT, D.F; BAKER, P; HRUZA, D.S. Nutritional evaluations of three dietary levels of lactalbumin throught the lifespan of two generations of Syrian hamsters. *J. Nutr*. 112: 2657-2660, 1982.

BONNATO, F.; POLYDORO, M.; ANDRADES, M.E.; JÚNIOR, M.L.C.F.; DAL-PIZZOL, F.; ROTTA L.N.; SOUZA, D.O; PERRY, M.L.; MOREIRA, J.C.F. Effects of maternal protein malnutrition on oxidative markers in the young rat cortex and cerebellum. *Neu. Let*. 406: 281-284, 2006.

BORBA, J.M.C. Organização morfofuncional no cérebro do rato desnutrido: análise qualitativa e quantitativa de neurônios NADPH-diaforase positivos no córtex visual primário de ratos recém-desmamados, submetidos à desnutrição

perinatal. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Departamento de Nutrição-CCS, UFPE, 1998.

BORBA, J.M.C.; ARAÚJO, M.S.; PICANÇ0-DINIZ, C.W.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; GUEDES, R.C.A. Permanent and transitori morphometric changes of NADPH-diaphorase-containing neurons in the rat visual cortex after early malnutrition. *Brain Research Bulletin*, 53 (2): 193-201, 2000.

BRONZINO, J.D.; AUSTIN-LAFRANCE, R.J.; SIOK, C.J.; MORGANE, P.J. Effect of protein malnutrition on hippocampal kindling: electrographic and behavioural measures. *Brain. Res.,* 384(2):348-54, 1986.

BROWN, J.L.; POLLITT, E. Malnutrition, poverty and intellectual development. *Scientific American*, 274: 2, 1996.

CABALLERO B. Global patterns of child health: the role of nutrition. *Ann Nutr. Metab.*, 46: 3-7, 2002.

CABRAL-FILHO, J.E.; CASTRO, R.M.; TEODÓSIO, N.R. Convulsive hiperresponsiveness of rats fed the basic regional diet (DBR). In: International Symposium of nutrition, Proceedings. Recife, 27, 1986.

CHEN, J.C.; TONKISS, J.; GALLER, J.R.; VOLICER, L.; Prenatal protein malnutrition in rats enhances serotonin release from hippocampus. *J. Nutr*., 122: 2138-2143, 1992.

CICOGNA, A.C.; PADOVANI,C.R.; OKOSHI, K.; ARAGON,F.F.; OKOSHI,M.P. Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. *The American Journal of Medical Sciences*, 320 (4): 244-248, 2000.

COLINA, V,L. *et al*. Efecto de dietas lipoprotéicas ricas en aminoácidos esenciales sobre el modelo experimental de rata uninefrectomizada. *Acta Cient. Venez*., 53 (1): 21-28, 2002.

CORDERO, M.E.; ZVAIGHAFT, A.; MUZZO, S.; BRUNSER, D. Histological maturation of astroglical cells in the archiocortex of early malnourished rats. *Pediatric Research*, 16:23-33, 1982.

CURSIN, D.B. Uncernutrition and brain fuction. *Borden's Review of Nutrition Research*, 26(1): 1-16, 1965.

DESAI, M.; CROWTHER, N.J.; LUCAS, A.; HALES, C.N. Organ-seletive growth in the offspring of protein-restricted mothers. *Br. J. Nutr*. 76: 591-603, 1996.

DIXON, S.D.; LEVINE, R.A.; BRAZELTON, T.B. Malnutrition: a closer look at the problem in an East African village. *Dev. Med. Child. Neurol*. 2: 670-85, 1992.

DOBBING, J. Effects of experimental undernutrition on development of nervous system. In: Scrimshaw, N. S.; Gordon, J. E. (Eds.) Malnutrition, Learning and Behavior. Cambridge/MA: M.I.T. Press, 181-202, 1968.

DOBBING, J.; HOPEWELL, J.W. Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebelar cortex following early mild undernutrition. *Arch. Dis. Child*, 46: 736-737, 1971.

DOBBING, J.; SANDS, J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Earl Human Dev*., 3: 79-83, 1979.

DYSON, S.E.; JONES, D.G. Some effects of undernutrition on synaptic development – a quantitative ultrastructural study. *Brain Res.*, 114: 356-378, 1976.

DUNCAN GJ, BROOKS-GUNN J, KLEBANOS PK. Economic deprivation and early childhood development. *Child Dev*., 65: 296-318, 1994.

FEOLI, A.M; LEITE, M.C.; TRAMONTINA, A.C.; TRAMONTINA, F.; POSSER, T.; RODRIGUES, L.; SWAROWSKY, A.; QUINCONZES-SANTOS, A.; LEAL, R.B.; GOTTFRIED, C.; PERRY, M.L.; GONÇALVES, C.A. Developmental changes in content of glial marker proteins in rats exposed to protein malnutrition. *Brain Res.* 1187: 33-41, 2008.

FEOLI, A.M; SIQUEIRA, I.R.; ALMEIDA, L.; TRAMONTINA, A.C.; VANZELLA, C.; SBARAINI, S.; SCHWEIGERT, I.D.; NETTO, C.A.; PERRY, M.L.S;

GONÇALVES, C.A. Effects of protein malnutrition on oxidative status in rat brain. *Nutrition.* 22: 160-165, 2006.

FERNANDÉZ, V.; BRAVO, H.; SANHUEZA, M.; INZUNZA, O. NADPH-d positive neurons in the developing somatosensory cortex of the rat: effects of early and late environmental enrichment. *Developmental Brain Res*. 107: 299-307, 1998.

FERREIRA, H. da S. *et al*. Efetividade da "multimistura" como suplemento de dietas deficientes em vitaminas e/ou minerais na recuperação ponderal de ratos submetidos à desnutrição pós-natal. *Rev. Nutri*. 18 (1): 63-74, 2005.

FIALA, J.C., SPACEK, J., HARRIS, K.M. Dendritic spine pathology: cause or consequence of neurological disorders?. *Brain Res. Rev*. 39: 29-54, 2002.

FRAZÃO, M.F.; MAIA, L.M.S.S.; GUEDES, R.C.A. Early malnutrition, but not age, modulates in the rat the L-arginine facilitating effect on cortical spreading depression. *Neuroscience Letters* 447: 26-30, 2008.

GAMBETTI, P.L.A.; IZZUTO, N.N.; SHAFER, B.; PFAFF, L. Synapses and malnutrition: quantitative ultrastructural study of rat cerebral cortex. *Experimental neurology*, 43: 464-473, 1974.

GARCIA-RUIZ, M; DIAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; CORKIDI, G. Effect of protein malnutrition on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Res.*, 22: 203-212, 1993.

GARCIA, Y.J.; RODRIGUEZ-MALAVER, A.J.; PENALOZA, N. Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. *J. Neurosci. Methods*, 15: 127-135, 2005.

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

GIETZEN, D.W.; DIXON, K.D.; TRUONG, B.G.; JONES, A.C., BARRET, J.A.; WASHBURN, D.S. Indispensable amino acid deficiency and increased seizure susceptibility in rats. *Am. J. Physiol*., 271: RI-R7, 1996.

GONÇALVES, L.A.; Efeito da restrição alimentar e do envelhecimento sobre o sistema colinérgico cortical de ratos. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG. 2001. 84p. (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas).

GRANADOS-ROJAS, L.; LARRIVA-SAHD, J.; CINTRA, L.; GUTIÉRREZ-OSPINA, G.; RONDÁN, A.; DÍAZ-CINTRA, S. Prenatal protein malnutrition decreases mossy fibers-CA3 thorny excrescence asymmetrical synapses in adult rats. *Brain Res.,* 933: 164-171, 2002.

GRANTHAM-McGREGOR, S. A review of studies of the effect of severe malnutrition on mental development. *J. Nutr*., 125: 2233S-2238S, 1995.

GUEDES, R.CA. O cérebro desnutrido. *Ciência Hoje* 3: 61-65, 1985.

GUEDES, R.C.A. Estudo eletrofisiológico do cérebro em diferentes estados nutricionais associados ao envelhecimento, à estimulação ambiental, ao hipotiroidismo e ao consumo de etanol através do modelo da depressão alastrante cortical. Recife: UFPE, 1992. (Tese para concurso de Professor Titular – Departamento de Nutrição – Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco).

GUERRINI, I.; THOMSON, A.D.; GURLING, H.D. The importance of alcohol misuse, malnutrition and genetic susceptibility on brain growth and plasticity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 31: 212-220, 2007.

GUYTON & HALL. *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2002.

GUZMÁN-SILVA, M.A. *et al*. Recuperação da desnutrição em ratos mediante rações adicionadas ou não de suplemento alimentar e de vitaminas e minerais durante o período de crescimento. *Rev. Nutr*. 17 (1): 59-69, 2004.

HACCKETT, R., IYPE, T. Malnutrition and childhood epilepsy in developing countries. *Seizure* 10: 554-558, 2001.

HALES, C.N.; BARKER, D.J.P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 35: 595-601,1992.

HALLIWELL, B.H. Oxigen radicals as key mediators in neurological disease: fact or fiction?. *Ann. Neurol*., 32: 5S-10S, 1992.

HAMMER, R.P.; MATHERNS, E.V. Morphological development of the brain stem reticular core in prenatally undernourished rats. *Devel. Brain Res.,* 1: 203-212, 1980.

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

KAWAI, S.; NAKAMURA, H.; MATSUO, T. Effects of early postnatal undernutrition on brainstem auditoy potencials in wealing rats. *Biol. Neonate.*, 55: 268-274, 1989.

LAGO, E.S.; TEODÓSIO, N.R.; PESSOA D.C.N.P.; FILHO, J.E.C. Duración de la vida em ratas desnutridas, utilizando dieta básica del nordeste brasileño. *Arch. Latinoamericanos de Nutr*. 47: 338-342, 1997.

LAJTHA, A.; DUNLOP, D.; PATLAK, C.; TOTH, J. Compartments of protein metabolism in developing brain. *Biochimica et Biophysica Acta.* 561: 491-501, 1979.

LEAL, M.M.R.B.P. Efeito do teor e qualidade da proteína alimentar sobre alguns pârametros do desenvolvimento e manutenção da espécie - Estudo através de quatro gerações de ratos albinos (tese). São Luís (MA): Univ S. do Maranhão, 1976.

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

LING, P.R.; SMITH, R.J.; KIE, S.; BOYCE, P.; BISTRIAN, B.R., Effects of protein malnutrition on IL-6-mediated signaling in the liver and the systemic acute-phase response in rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 287: 801-808, 2004.

LISTER, J.P.; BLAT, G.J.; DEBASSIO, W.A.; KEMPER, T.L.; TONKISS, J.; GALLER, J.R.; ROSENE, D.L. Effect of prenatal protein malnutrition on numbers of

neuros in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. *Hippocampus* 15, 393-403, 2005.

LUCAS, A. Programming by early nutrition: an experimental approach. *J. Nutr.*, 128 (2): 401-406s. 1998.

MACHADO, A. *Neuroanatomia Funcional*. Rio de Janeiro, RJ: Atheneu, 1985.

MARCONDES, E.; LEFEVRE, A.B; MACHADO, D.V.M., 1969. Desenvolvimento neuropsicomotor da criança desnutrida. 1: Má nutrição protéica. Rev. Brás. Psiquiatr. 3, 173-219.

MARIN, M.C.; TOMÁS M.E.; SERRES, C.; MERCURI, O. Protein-energy malnutrition during gestation and lactation in rats affects growth rate, brain development and essential fatty acid metabolism. *J. Nutr*. 125: 1017-1024, 1995.

McGUIRE, M.K.; LITTETON, A.W.; SCHULZE, K.J.; RASMUSSEN, K.M. Pre- and postweaning food restrictions illteract to determine reprodutive sucess and milk volume in rats. *J. Nutr*. 125, 2400-2406, 1995.

MEDEIROS, J.M.B.; FILHO, J.E.C; SOUZA, S.L.D.; SILVA, S.R.F.; MENDES da SILVA, C.; DEIRÓ, T.C.B.J.; MONTEIRO, J.M.; GUEDES, R.C.A.; CASTRO, C.M.M.B.; MANHÃES de CASTRO, R. Early malnourished rats are no affected by anorexia induced by a selective serotonin reuptake inhibitor in adult life. *Nutr. Neurosci.* 5: 211-214, 2002.

MESULAM, M.M. Neuroplasticity failure in Alzheimer's disease: bridging the gap between plaques and tangles, *Neuron* 24: 521-529, 1999.

METRI, A.C. *et al*. Farinha de mandioca enriquecida com bioproteínas (*Saccharomyces cerevisiae*), em associação ao feijão e arroz, na dieta de ratos em crescimento. *Revista de Nutrição* 16 (1): 73-81, 2003.

MOTANHA-ROJAS, E.A.; FERRERA, A.A.; TENÓRIO, F.; BARRADAS P.C. Myelin basic protein accumulation is impaired in a model of protein deficiency during development. *Nutr. Neurosc.* 8, 49-56, 2005.

MONTEIRO, S. Desnutrição, estimulação ambiental e desenvolvimento do sistema nervosa: um estudo eletrofisiológico. Tese (Mestrado) – Departamento de Nutrição, CCS, UFPE, Recife, 1995.

MORAES-SANTOS, T. Dietary effects in vitro rat neuronal protein synthesis during growth and development. *Brain Res. Bull.,* 7: 385-389, 1981.

MORGAN, B.L.G.; WINICK, M. Pathological effects of malnutrition on the Central Nervous System. In: SIDRANSKY, H. (Ed.) *Nutritional pathology; pathobiochemistry of dietary imbalances.* New York: Marcel Dekker, 1985. 400p.

MORGANE, P.J.; AUSTIN-LAFRANCE, R.J.; BRONZINO, J.D.; TONKISS, J.; GALLER, J.R. Malnutrition and developing central nervous system. In: Isaacson RL, Jensen KF, editors. The vulnerable brain and environmental risks. *New York: Plenum* 2-42, 1992.

MORGANE, P.J.; AUSTIN-LAFRANCE, J.D.; BRONZINO, J.; TONKISS, S.; DIAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J.R. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosc. Biobehav. Rev*. 17: 91- 128, 1993.

MORGANE, P.J.; MOKLER, D.J.; GALLER, J.R. Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal formation. *Neurosc. Biobehav. Rev*. 26: 471- 483, 2002.

MOUREK, J.; HIMWICH, A.W.; MYSLIVECEK, J.; CALLISON, D.A. The role nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Res.,* 6: 241-251, 1967.

NUNES, M.L.; BATISTA, B.B.; MICHELI, F.; BATISTELLA, V. Efeitos da desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. *J. de Pediatr*. 78 (1): 39-44, 2002.

OKOSHI, K.; FIORETTO, M.P.; OKOSHI, M.P.; CICOGNA, A.C.; ARAGON, F.F.; MATSUBARA, L.S.; MATUSBARA, B.B. Foode restriction induces in vivo ventricular dysfunction in spontaneously hypertensive rats without impairement of in vitro myocardial contractility. *Braz J Med Bio Res.* 37(4): 607-613, 2004.

OLIVEIRA, A.L.G. *Efeito da restrição alimentar e do envelhecimento sobre o sistema nervoso central glutamatérgico e o compartimento fagocítico do sistema imune: um modelo experimental para o estudo da nutrição de idosos.* Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG. 1998. 97p. (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos).

OLIVEIRA, E.L.; CARDOSO, L.M.; PEDROSA,M.L.; SILVA, M.E.; DUN,N.J.; COLOMBARI, E.; MORAES, M.F.D.; CHIANCA Jr, D.A. A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean arterial pressure and heart rate in Fisher rats. *Nutr. Neurosci*., 7 (4): 201-205, 2004.

PADILHA, M.C. de S., 1970. Velocidade de condução do impulso nervoso em animais mantidos em subnutrição protéica desde a gestação. Recife, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco. p. 39.

PALMER, A.A., PRINTZ, D.J., BUTLER, P.D., DULAWA, S.C., PRINTZ, M.P. Prenatal protein deprivation in rats induces changes in prepulse inhibition and NMDA receptor binding. *Brain Res.* 996: 193-291, 2004.

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

PELLING, A.N.; SMART, J.L. Review of literature showing that undernutrition affects the growth rate of all processes in the brain to the same exent. *Met. Brain Dis.* 9, 33-42, 1994a.

PELLING, A.N.; SMART, J.L. Successful prediction of immediate effects of undernutrition throughout the brain growth spurt on capillarity and synapse-to-neuron ratio of cerebral cortex in rats. *Met. Brain Dis.* 9: 81-95, 1994b.

PEREIRA-SILVA, MS.; Oliveira, LM. Desnutrição e níveis de aminas biogênicas no sistema nervoso central. *Nutrire* 29, 2005.

PENITENTE,A.R.; FERNANDES, L.G.; CARDOSO, L.M. SILVA, M.E.; PEDROSA, M.L.; SILVA, A.L.; HAIBARA, A.S.; MORAES, M.F.D.; CHIANCA JUNIIOR, D.A. Malnutrition enhances cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats. *Life Sciences*, 81: 609–614, 2007.

PEREIRA-DA-SILVA, M.S. A depressão alastrante da atividade elétrica cortical em ratos hipotiroideus e desutridos. Tese de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 73, 1996.

PERRY, M.L., SOUZA, D.O. Effects of undernutrition on glutamatergic parameters in rat brain. *Neurochem. Res*. 28: 1181-1186, 2003.

PESSOA, D.C.N.P; LAGO, E.S.; BION, F.M.; ANTUNES, N.L.M; VARELA, R.M; TEODÓSIO, N.R. Influência do teor e qualidade de proteína dietética sobre o crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos, em três gerações sucessivas de ratos. *Nutrire* 30: 31-52, 2005.

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

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

POLLITT, E.; GORMAN, K.S.; ENGEL, P.L., RIVERA, J.A.; MARTORELL, R. Nutrition in early life and the fulfillment of intellectual potential. Supplement: The INCAP follow-up study. *J. Nutr*. 125: 1111S-8S, 1995.

PONTES-FILHO, N.T. Morfometria e histoquímica do córtex cerebral de ratos jovens submetidos ao álcool e a desnutrição. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Departamento de Nutrição-CCS, Univer. Fed. de Pernambuco, p. 50. 2003.

PORTERFIELD, S.P.; HENDRICH, C.E. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development-current perspectives. Endocrinology of Reviews, 14: 94-106, 1993.

PRAZERES, F.G., PESSOA, D.C.N.P., BION, F.M., ARNAULD, T.M.S. Exercício físico, crescimento e desenvolvimento: estudo em ratos jovens desnutridos pela dieta básica regional (DBR) e recuperados nutricionalmente. *Rev. Brás. Educ. Fís. Esp.*, 18: 7-16, 2004.

RABIN, O.; LEFAUCONNIER, J.M..; CHANEZ, C.; BERNARD, G.; BOURRE, J.M. Developmental effects of intrauterine growth retardation on cerebral amino acid transport. *Pediatr. Res*., 35: 640-648, 1994.

RANADE, S.C.; ROSE, A.; RAO, M.; GALLEGO, J.; GRESSENS, P.; MANI, S. Different types of nutritional deficiencies affect different domains os spatial memory function checked in a radial arm maze. *Neuroscience* 152: 859-866, 2008.

RAO, S., KARKHANS L. Differential patterns of malnutrition among kindergarten children in Pune city. *Indian J. Med. Res*. 98: 129-35, 1993.

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

REED, U.C. Desenvolvimento Normal do Sistema Nervoso Central. *In*: *A neurologia que todo médico deve saber*, 2ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap. 21, p. 395-400.

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

RESNICK, O.; MORGANE, P.J.; HASSON, R.; MILLER, M. Over and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosci*. 12: 55-76, 1982.

REZENDE, G.HS. Neuroplasticidade induzida pelo *status epilepticus* em ratos normonutridos e desnutridos. Tese de Mestrado. Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, Belo Horizonte, 2006.

ROCHA-DE-MELO AP, GUEDES R.C.A. Spreading depression is facilited in adult rats previously submitted to short episodes of malnutrition during the lactation period. *Braz. J. Méd. Biol. Res.* 30: 663-669, 1997.

ROCHA-DE-MELO, A.P. Modificação do estado nutricional no rato recém-nascido, por manipulação da ninhada; Estudo morfo-funcional do sistema nervoso. Tese

de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Departamento de Nutrição-CCS, Univer. Fed. de Pernambuco, p. 68, 2001.

ROCHA, J.B.; SOUZA, D.O. Effects of undernutrition during suckling and early post-weaning on the inhibition by met-enkephalin of striatal adenylate cyclase activity in adult rats. *Pharmacol. Toxicol*. 75: 321-323, 1994.

ROCINHOLI, L.F.; ALMEIDA, S.S.; DE-OLIVEIRA, L.M. Response threshold to aversive stimuli in stimulated early protein-malnourished rats. *Brazilian J. Med. Biol. Res.,* 30: 407-413, 1997.

ROTTA, L.N.; SCHIMIDT, A.P.; MELLO e SOUZA, T.; NOGUEIRA, C.W.; SOUZA, K.B.; IZQUIERDO, I.A.; PERRY, M.L.S.; SOUZA, D.O. Effects of undernutrition on glutamatergic parameters in rat brain. *Neurochem. Res.,* 28: 1181-1186, 2003.

RUBIN, E.; FARBER, J. CELL INJURY. IN: RUBIN, E.; FARBER, J. (Eds.) Pathology. Lippincott-Press Publishers-PA, pp. 1-34, 1998.

RUIZ, S.; PEREZ, H.; HERNANDEZ, H.; SOTO-MOYANO, R. Effect of early malnutrition on latencies of direct cortical responses evoked in the rat prefrontal cortex. *Nutr. Rep. Int.* 32: 533-538, 1985.

SALAS, M. ROSALES, A.; TORRERO, C.; PULIDO, S. Effects of neonatal undernutrition on the electrocortical development of the association areas in the rat. *Bol. Est. Med. Biol. Mexico,* 38: 3-9, 1990.

SANTOS-MONTEIRO, J., GUEDES, R.C.A.; CASTRO, R.M.; FILHO, J.E.C. Estimulaçãp psicossocial e plasticidade cerebral em desnutridos. *Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.* 2 (1): 15-22, 2002.

SANTOS, R.C.; MORAES-SANTOS, T. Effect of neonatal malnutrition on leucine renewal and protein biosynthesis in neurons of rats. *Brain Res. Bull.,* 4: 207-211, 1979.

SANTOS, R.S. Nutrição, hipertireoidismo precoce e desenvolvimento cerebral: estudo em ratos recém-desmamados. Tese (Mestrado) – Departamento de Nutrição, CCS, UFPE, Recife, 2000.

SILVA, A.T.; COSTA, F.B.R.; COSTA , J.A.; TEODÓSIO, N.R.; CABRAL-FILHO, JE.; GUEDES, R.C.A. Siatic nerve conduction velocity of manourished rats fed the human “basic regional diet” of the northeast of Brasil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 20: 383-392, 1987.

SILVA, V.C., ALMEIDA, S.S. Desnutrição protéica no início da vida prejudica memória social em ratos adultos. *Rev. Nutr.*, 19(2): 195-20, 2006.

SILVA, V.A. Ambiente e desenvolvimento: efeitos do álcool etílico e da desnutrição. *Mundo & Vida, 2* (1): 21-27, 2000.

SINGH, T.D., SHANKAR, R. Developmental regulation and effects of early undernutrition on phophorylation of rat cortical synaptic membrane proteins Int. *J. Dev. Neurosc.* 17: 743-751, 1999.

SMART, T.L.; DOBBING, J. Vulnerabilitty of developing brain. VI. Relative effects of fetal and early postnatal undetal and early postnatal undernutrition on refelex ontogeny and development of behaviour in the rat. *Brain Research*, 33: 303-314, 1971.

SOTO-MOYANO, R., VALLADARES, L., SIERRALTA, W., PEREZ, H., MONDACA, M., FERNADEZ, V., BURGOS, H., HERNANDEZ, A. Mild prenatal protein malnutrition increases alpha2C-adrenoceptor density in the cerebral cortex during postnatal life and impairs neocortical long-term potentiation and visuo-spatial performance in rats. *J. Neuroch.*, 93:1099-1109, 2005.

SRIVASTAVA, U.; YU, M.; GOSWANT, T. Maternal dietary deficiency and cellular development of progeny in the rat. *J. Nutr.* 104, 512-520, 1974.

STEIGER, J.L.; GALLER, J.R.; FARB, D.H.; RUSSEK, S.J. Prenatal protein malnutrition reduces beta(2), beta(3) and gamma(2L) GABA(A) receptor subunit mRNAs in the adult septum. *Eur. J. Pharmacol*., 446: 201-202, 2002.

STEIGER, J.L., ALEXANDER, M.J., GALLER, JR., FARB, D.H., RUSSEK, S.J. Effects of prenatal malnutrition on GABA-A receptor alpha-1, alpha-3 e beta-2 mRNA levels. *Neuroreceptor*, 14, 1731-1735, 2003.

SUGIZAKI, M.M.; CARVALHO, R.F.; ARAGON, F.F.; PADOVANI, C.R.; OKOSHI, K.; OKOSHI, M.P.; ZANATI, S.G.; PAI-SILVA, M.D.; NOVELLI, E.L.B.; CICOGNA, A.C. Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to morphological damage in normotensive middle-aged rats. *Journal of Biomedical Science*, 12: 641–649, 2005.

TAKEUCHI, T.; SITIZIO, K.; HARADA, E. Postnatal development of EEG patterns, catecholamine contents and myelination, and effect of hyperthyroidism in *Suncus brain*. Behavioural Brain Research, 91: 193-206, 1998.

TATLI, M.; GUZEL, A.; KIZIL, G. KAVAK, V.; YAVUZ, M.; KIZIL, M. Comparison of the effects os maternal proteon malnutrition and intrauterine growth restriction on redox state of central nervous system in offspring rats. *Brain Res*. 1156: 21-30, 2007.

TEODÓSIO, N.R.; FLORES, H.; MAYER, R.; MARTINS, F.; CAMPOS, F; RAMALHO, R.A. Efecto diferencial de las desnutricion sobre el sistema nervioso central. In: Seminario International “Desnutricion y funciones cerebrales superiors”. Resumenes de Conferências e Comunicaciones Libres”. Santiago, Universidad de las Naciones Unidas, 105, 1983.

TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E.S.; CABRAL FILHO, J.E.; CASTRO, R.M.; VARELA, R.M.; CAMPOS, F.C.; COSTA, F.B.R.; GUEDES, R.C.A.; SILVA, A.T., 1986. “Déficit” dietético e desnutrição 2: efeitos da desnutrição pela dieta básica regional (DBR) sobre o desenvolvimento e crescimento. In: Simpósio Internacional de Nutrição, 1, Recife.

TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E.S.; ROMANI, S.A.M.; GUEDES, R.C.A., 1990. A regional basic diet (RDB) from Northeast Brazil as a dietary model of experimental malnutrition. Archivos Latinoamericanos de Nutricion 4, 533-547.

TEODÓSIO, N.R; PEREZ, E.P.; ALVES, A.J.; DIMENSTEIN, W.; GUEDES, R.C.A. A new dietary supplement base don bovine blood: recovering brazilian children from malnutrition. Nutritional Neuroscience, 3: 73-86, 2000.

TEODÓSIO, N.R.; VARELA, R.M.; BIOM, F.M.; SIQUEIRA-CAMPOS, F.A.C.; LIRA, R.B.; FLORES, H. Protein deficiency and calorie deficiency in etiology or early

malnutrition in rats. In: International Congress of Nutrition, XII, San Diego, Proceedings, Abstract n. 1013, 1981.

TONKISS, J.; GALLER, J.; MORGANE, P.J.; BRONZINO, JD.; AUSTIN-LaFRANCE, RJ. Prenatal protein malnutrition and postnatal brain function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 678: 215-227, 1993.

TROPIA, F.C.; CARDOSO, M.L.; PEDROSA, M.E.; SILVA, A.S.; HAIBARA, M.F.; MORAES, M.F.D.; CRIANCA JR, D.A. Effects of Low-Protein Diet on the Baroreflex and Bezold-Jarisch Reflex in Conscious Rats. *Nutritional Neuroscience,* 4: 99-107, 2001.

VILELA, M.C.R.; MENDONÇA, J.E.F.; BITTENCOURT, H.; LAPA, R.M.; ALESSIO, M.L.M.; COSTA M.S.M.O.; GUEDES, R.C.A.; SILVA, V.L.; ANDRADE da COSTA, B.L.S. Differential vulnerability of the rat retina, suprachiasmatic nucleus and intergeniculate leaflet to malnutrition induced during brain development. Brain Research Bulletin, 64: 395-408, 2005.

VILLESCAS, R.; MARTHENS, E.V.; HAMMER Jr, R.P. Prenatal undernutrition: Effects on behavior, brain chemistry and neuroanatomy in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.,* 14: 455-462, 1981.

VITOLO, M.R. *Nutrição da gestação à adolescência*. Rio de Janeiro, RJ: Reichmann e Affonso Editores, 2003.

WALKER, S.P.; GRANTHAM-MCGREGOR, S.M.; POWELL, C.A.; CHANG, S.M. Effects of growth restriction in early childhood on growth, IQ, and cognition at 11 to 12 years and the benefits of nutritional supplementation and psychosocial stimulation. *J. Pediatr.* 137, 36-41, 2000.

WIGGINS, R.C.; FULLER, G.; ENNA, S.J. Malnutrition and the development of brain neurotransmitter systems. *Life Sci.,* 35: 2085-2094, 1984.

WINICK, M. Current Concepts in nutrition: Nutrition and brain development. John Wiley e Sons: New York. 1, 1972.

WINICK, M.; NOBLE, A. Quantitative changes in DNA, RNA and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Dev. Biol.*, 12: 451-466, 1965.

WINICK, M.; NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J. Nutr*., 89: 300-306, 1966.

WYKES, L.J.; FIOROTTO, M.; BURRIN, D.G.; DEL ROSÁRIO, M.; FRAZER, M.E.; POND, W.G.; JAHOOR, F. Chronic low protein intake reduces tissue protein synthesis in a pig modelo of protein malnutrition. *J. Nutr*. 126: 1481-1488, 1996.

ANEXOS

9. ANEXOS

ANEXO A

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 9350
www.ccb.ufpe.br

Ofício nº 84/07

Recife, 22 de agosto de 2007

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: **Prof. Carlos Peres da Costa**
Departamento de Fisiuologia e Farmacologia - UFPE
Processo nº 008507/2007-16

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 **"Estudos de Alguns Parâmetros Cardiovasculares em Ratos Normonutridos e Desnutridos durante o Processo de Envelhecimento"**.

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

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

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

Atenciosamente,

Prof. Silene Carneiro do Nascimento
Presidente CEEA

ANEXO B

Tabela 2: Média dos pesos corporais dos animais nas três idades avaliadas

Idade (meses)	Peso corporal médio (g)	
	Nutrido (Labina®)	Desnutrido (DBR)
5	387,50	107,32
7	446,00	129,76
9	474,02	152,03

Tabela 3: Média dos pesos cerebrais dos animais nas três idades avaliadas

Idade (meses)	Peso cerebral médio (g)	
	Nutrido (Labina®)	Desnutrido (DBR)
5	1,95	1,65
7	2,00	1,74
9	2,06	1,68

Tabela 4: Média do número de neurônios/campo (400X) do córtex posterior nas três idades avaliadas

Idade (meses)	Neurônios/campo (400X)	
	Nutrido (Labina®)	Desnutrido (DBR)
5	34	32
7	34	33
9	35	33

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo