

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA**

**PRESSÃO ARTERIAL, FREQUÊNCIA CARDÍACA E SUA
MODULAÇÃO AUTONÔMICA EM RATOS MALNUTRIDOS
EM DIFERENTES IDADES**

BRUNA DA ROSA MAGGI SANT'HELENA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Carlos Peres da Costa

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Denia P. Fittipaldi Duarte

Recife - PE

2008

BRUNA DA ROSA MAGGI SANT'HELENA

**PRESSÃO ARTERIAL, FREQUÊNCIA CARDÍACA E SUA
MODULAÇÃO AUTONÔMICA EM RATOS MALNUTRIDOS
EM DIFERENTES IDADES**

Dissertação apresentada para a conclusão do Curso
de Mestrado em Bioquímica e Fisiologia, Centro de
Ciências Biológicas, Universidade Federal de
Pernambuco.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Peres da Costa

Co-Orientadora: Profa. Dra. Denia P. Fittipaldi Duarte.

RECIFE
2009

Sant'Helena, Bruna da Rosa Maggi

**Pressão arterial, frequência cardíaca e sua modulação
autônômica em ratos malnutridos em diferentes idades /
Bruna da Rosa Maggi Sant'Helena. – Recife : O Autor,
2009.**

66 folhas : fig., tab.

**Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCB. Bioquímica e Fisiologia, 2009.**

Inclui bibliografia e anexos

**1. Nutrição – Desnutrição 2. Sistema cardiovascular –
Dietas hipoprotéica e hipercalórica. 3. Pressão arterial –
Frequência cardíaca. I. Título.**

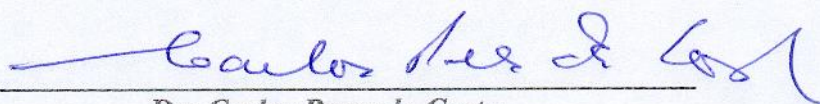
**612.39
612.3**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

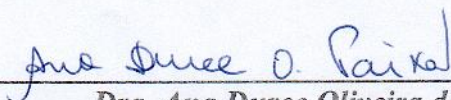
**UFPE
BC - 2009 - 149**

Bruna da Rosa Maggi Sant'Hlena

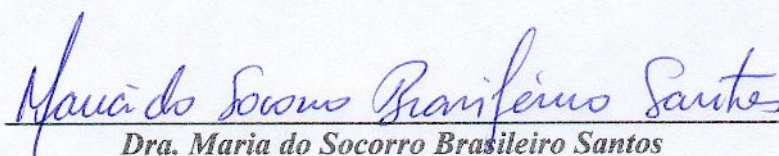
“Pressão arterial, frequência cardíaca e sua modulação autonômica em ratos malnutridos em diferentes idades”



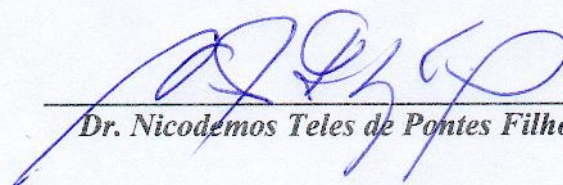
Dr. Carlos Peres da Costa
ORIENTADOR



Dra. Ana Durce Oliveira da Paixão



Dra. Maria do Socorro Brasileiro Santos



Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

Recife
2009

À minha mãe, Maria Piedade, minha maior inspiração para seguir a carreira acadêmica. Sua luta e sua garra servirão como exemplo para toda minha vida.

Ao meu pai, Antonio, grande incentivador da minha carreira. Seu apoio, compreensão, e seu carinho foram fundamentais para a conclusão desse trabalho.

Ao meu marido, Leandro, por me incentivar a ir em busca dos meus sonhos. Seu carinho, sua compreensão, e seu apoio foram muito importantes para a realização desse trabalho.

Aos meus irmãos, Cíntia e Michel, pela amizade incondicional, que levarei comigo para sempre. Seus conselhos sempre são muito importantes para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus sobrinhos, Ernesto e Helena, pela alegria que sempre encontro quando estou com eles.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Peres da Costa, pela orientação desse trabalho, oportunidade, confiança e amizade. Seus conhecimentos e conselhos contribuíram de maneira significativa para meu desenvolvimento pessoal e profissional.

A Profa. Dra. Denia Palmeira Fittipaldi Duarte, pela co-orientação desse trabalho, amizade, carinho, compreensão. Seu exemplo como professora e pessoa contribuíram muito para meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Luis Carlos Carvalho, pela ajuda e sugestões para o método de registro do ECG nos animais acordados.

Ao Prof. Dr. Nicodemos Teles Ponte Filho, pelo apoio científico, ensinamentos na área de patologia, e pela amizade.

A Profa. Maria do Socorro Brasileiro, pelas valiosas sugestões, pela ajuda e ensinamentos na área da análise espectral, e pela amizade que levarei para sempre.

Aos Professores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, pelos conhecimentos transmitidos nas disciplinas.

As alunas de iniciação científica Elis Falcão, Tatiana Vasconcelos e Cecília Veiga pela ajuda na coleta de dados e pela amizade.

Aos estagiários do laboratório Anne Polo Norte, Lais Harume, André, Jasiel, Larissa, Juliane, Daniela Assad, pela ajuda na coleta dos dados, e pela amizade e momentos de descontração.

A Carmelita, Jorge, Mário e Gabriela Guedes do Laboratório de Patologia do Lika, pela solidariedade e pela troca de conhecimentos.

As alunas do Laboratório do Lika, Juliana Nunes e Taisa Macaubas, pela dedicação, amizade, e ajuda na coleta de dados.

As colegas de laboratório Helane Tito e Daniela Bezerra, pelos conhecimentos transmitidos, pelo empenho, sempre dispostas a ajudar e pela amizade que levarei para sempre.

Aos alunos do Mestrado em Fisiologia da UFPE, em especial: Ana Paula, Herriqueta, Belisa e Leucio, pela amizade e pela troca de conhecimentos nas disciplinas, e nos Laboratórios do Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia: Edvaldo, Djalma, Nielson, Heleno, Jackson, Valdo e Valéria, pela disposição, atenção e auxílio sempre que precisei.

A toda minha família, meus pais Antonio e Maria Piedade, meu marido Leandro, meus irmãos Cíntia e Michel, meus sobrinhos Ernesto e Helena, meus cunhados Angelo e Taiana, por sempre fazerem sentido para o verdadeiro significado da palavra família. Obrigada pelo apoio, carinho, compreensão e amizade.

Aos ratos por terem contribuído com suas vidas para a realização deste trabalho.

Enfim, agradeço a todos que fizeram parte da minha vida, e que nesses dois anos, participaram de maneira direta ou indireta, para realização desse trabalho.

RESUMO

A desnutrição, durante o desenvolvimento humano, é uma das principais causas de várias alterações sistêmicas, caracterizando-se como um dos maiores problemas de saúde pública nos países subdesenvolvidos. Utilizando um modelo experimental, que reproduz em ratos um tipo de má nutrição humana encontrada no Nordeste do Brasil, utilizamos uma dieta multideficiente hipoproteica e hipercalórica, desenvolvida pelo Departamento de Nutrição da UFPE. O objetivo deste estudo foi investigar as repercussões desta dieta sobre alguns parâmetros cardiovasculares, isto é, sobre os níveis de Pressão Arterial Sistólica (PAS), de Frequência Cardíaca (FC), e sua modulação autonômica, avaliada através da análise espectral, em ratos Wistar não anestesiados do desmame aos nove meses de idade. Estudos morfológicos e histológicos do coração também foram realizados. Os animais foram separados em dois grupos experimentais: um Grupo Controle (GC) com ratos alimentados com a dieta Labina®, e um Grupo Malnutrido (GM), submetido à esta dieta multideficiente. A partir do terceiro mês de vida e até a idade dos nove meses, os ratos, de ambos os grupos, foram submetidos, semanalmente, a avaliação do peso corporal, registro da PAS (indiretamente, via pletismografia da artéria caudal), e do ECG (por método não invasivo desenvolvido no nosso Laboratório). A partir do sinal da FC, obtido pelo ECG, foi realizada a análise espectral, através do método autoregressivo, com a finalidade de determinar o grau de modulação autonômica cardíaca. A partir do terceiro mês de vida, foram selecionados oito ratos, de cada grupo, idades de três, cinco, sete e nove meses, sendo três animais para o estudo morfológico e cinco para o estudo histológico. Análise estatística foi realizada através de ANOVA, uma via, pós-teste de Tukey, e do teste *t de Student* não pareado ($p < 0.05$). Os resultados demonstraram que o GM em relação ao GC apresentou: peso corporal significativamente menor ($p < 0,001$), em todas as idades; FC maior ($p < 0,05$), nas idades de três, quatro e cinco meses, e menor do sexto ao nono mês; PAS sem diferenças significativas entre os grupos, para cada idade, porém, reduzindo-se, à proporção que o rato do GM envelhecia; análise espectral com aumento significativo dos componentes LF, a partir do terceiro mês ($p < 0,05$), evidenciando predominância simpática; e, maior balanço autonômico cardíaco, mostrando que, embora o envelhecimento influencie o comportamento autonômico do coração, ele pode ser também alterado pela nutrição. Morfolologicamente, foi encontrado no GM aumento na relação peso dos ventrículos/peso corporal e, na histologia dos ventrículos, presença de apoptose, necrose, células inflamatórias e processos de cicatrização alterados. No conjunto, estes resultados mostram que, o coração do GM, não foi poupado pela má nutrição e que os achados histofisiológicos se aproximam aos sinais clínicos encontrados em pacientes com Insuficiência Cardíaca Congestiva avançada. Assim, este modelo de má nutrição apresenta-se como uma importante ferramenta que pode ser utilizada para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos nesta síndrome.

Palavras Chaves: Malnutrição Crônica, Pressão Arterial e Modulação Autonômica da Frequência Cardíaca.

ABSTRACT

Undernutrition during human development is one of the principal causes of various systemic alterations and is characterized as one of the greatest public health problems in underdeveloped countries. Using an experimental model that reproduces in rats a type of human malnutrition found in the Northeast of Brazil, we use a multideficient hypoproteic and hypercaloric diet developed by the Nutrition Department of the UFPE (Federal University of Pernambuco). The objective of this study was to investigate the effects of this diet on some cardiovascular parameters, that is, on the levels of Systole Blood Pressure (SBP), on Heart Rate (HR), and its autonomic modulation, evaluated through spectral analysis in non-anesthetized Wistar rats from weaning to nine months of age. Morphological and histological studies of the heart were also undertaken. The animals were separated into two experimental groups: one Control Group (CG) with rats fed the Labina® diet, and one Malnourished Group (MG), submitted to the multideficient diet. From the third month of life up to the age of nine months, the rats from both groups were submitted on a weekly basis to an evaluation of body weight, record of SBP (indirectly, via plethysmography of the caudal artery) and of the ECG (by a non-invasive method developed in our Laboratory). From the HR signal, obtained by the ECG, spectral analysis of the HR was performed through the autoregressive method for the purpose of determining the degree of cardiac autonomic modulation. Beginning in the third month of life, eight rats were selected from each group, with ages of three, five, seven and nine months, with three animals for the morphological study and five for the histological study. Statistical analysis was undertaken through one-way ANOVA, Tukey post hoc test and of the unpaired Student's t-test ($p < 0.05$). The results showed that the MG in relation to the CG presented: significantly less body weight ($p < 0.001$), at all ages; greater HR ($p < 0.05$) at the ages of three, four and five months, and lower from the sixth to the ninth month; SBP without significant differences between the groups, for each age, however with a reduction in the proportion that the rat from the MG grew older; spectral analysis with significant increase of the LF components from the third month on ($p < 0.05$), giving evidence of sympathetic predominance; and greater autonomic cardiac balance showing that, although aging influences the autonomic behavior of the heart, it may also be altered by nutrition. Morphologically, an increase in the ventricle weight/body weight ratio was found in the MG and, in the histology of the ventricles, the presence of apoptosis, necrosis, inflammatory cells and altered healing processes. Together, these results show that the heart of the MG was not spared from malnutrition and that the histophysiological findings draw near to the clinical signs found in patients with advanced Congestive Heart Failure. Thus, this model of malnutrition presents itself as an important tool that may be used to elucidate the molecular mechanisms involved in this syndrome.

KEY WORDS: Chronic malnutrition, blood pressure and autonomic modulation of heart rate.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO: BLOOD PRESSURE, HEART RATE AND ITS AUTONOMIC MODULATION IN MALNOURISHED RATS AT DIFFERENT AGES

- Figure 1. (Left) Schema of the model of recording of the Electrocardiogram (ECG) of the rat. (1) represents the acrylic chamber with the electrodes for signal pick up, (2) electrode commutator, (3) amplifier and (4) BioMed system. (Right) Position of the animal in the system of containment during the recording of the ECG. 42
- Figure 2. Evolution of weight gain of Control Group and malnourished Group with age. 43
- Figure 3. Bodily aspect of Control (A) and Malnourished rats (B), at 9 months of age. 44
- Figure 4. Evolution of Systolic Blood Pressure (SBP) with age in Control Group (CG) and Malnourished Group (MG). 45
- Figure 5. Evolution of Heart Rate (HR) with age in Control Group (CG) and Malnourished Group (MG). 46
- Figure 6. Photomicrography of the myocardium of the rat. A – Control Group (CG). B – Malnourished Group (MG). Age of 3 months (Magnification 100x, H.E). 47
- Figure 7. Photomicrography of the myocardium of rats of the Malnourished Group, at the age of 3 months. (A) myolysis showing cells with picnotic nuclei, degeneration of the cardiac fibers and apoptotic cells (Magnification 400x, H.E). (B) Areas of necrosis (Magnification 400x, H.E). (C) Inflammatory infiltrate (Magnification 400x, H.E). (D) Areas of interstitial fibrosis (Magnification 100x, Picrosirius red). 48

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1. Alguns modelos experimentais de desnutrição utilizados	13
---	----

ARTIGO: BLOOD PRESSURE, HEART RATE AND ITS AUTONOMIC MODULATION IN MALNOURISHED RATS AT DIFFERENT AGES

Table 1. Diet composition (g/g%), Control (LABINA) and Multideficient.	49
--	----

Table 2. Baseline cardiac autonomic modulation of the Heart Rate during the 3rd, 5th, 7th and 9th months, in Control Group (CG) and Malnourished Group (MG).	50
--	----

Table 3. Ratio between ventricular wet weight/body weight (vwW/bW) and ventricle dry weight/ventricle wet weight (vdW/vwW) in Control Group (CG) and Malnourished Group (MG).	51
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	09
1.1. Importância da nutrição	09
1.2. Desnutrição: conceito e tipos	10
1.3. Modelos para estudo da desnutrição	12
1.4. Desnutrição e Sistema Cardiovascular	15
1.5. Análise espectral para estudo da atividade autonômica	18
1.6. Proposta deste trabalho	19
2. OBJETIVOS	20
2.1 Geral	20
2.2 Específicos	20
3. ARTIGO PARA SER SUBMETIDO AO PERIÓDICO EXPERIMENTAL PHYSIOLOGY	21
4. CONCLUSÕES	52
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
6. ANEXOS	63

1. INTRODUÇÃO

1.1. IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO

A nutrição pode ser definida como um grupo de processos pelo qual um indivíduo obtém, ingere, absorve e metaboliza as substâncias essenciais para a vida sob as mais variadas condições ambientais (SERAPÍÃO, 1986).

A alimentação e a nutrição constituem requisitos básicos para a promoção e a proteção da saúde, possibilitando a capacidade plena do potencial de crescimento e desenvolvimento humano, com qualidade de vida e cidadania (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003).

O estado nutricional dos indivíduos é caracterizado por grande dinamismo e decorre essencialmente do equilíbrio entre três fatores: composição da alimentação (tipo e quantidade dos alimentos ingeridos), necessidades do organismo em energia e nutrientes, e eficiência do aproveitamento biológico dos alimentos (ou da nutrição propriamente dita). Combinações ótimas desses três fatores, comportando razoáveis margens de variação para cada fator, propiciam ao indivíduo um estado nutricional ótimo, compatível com o pleno exercício de todas as suas funções vitais. Combinações não equilibradas da ingestão alimentar, deficiências nutricionais e baixo aproveitamento biológico dos alimentos, podem produzir a má-nutrição ou a desnutrição (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

Os termos má-nutrição e desnutrição são freqüentemente usados imprecisamente e de maneira intercambiável (SHETTY, 2006). O termo “má-nutrição” se refere a todos os desvios do adequado e ótimo *status* nutricional (SHETTY, 2006), e assim implica que um ou mais nutrientes essenciais estão faltando ou que podem estar presentes, mas, em proporções erradas (MORGANE et al, 2002). Desta forma, tanto a desnutrição quanto a obesidade são exemplos de má-nutrição. O termo “desnutrição” é usado geralmente para *status* nutricional pobre (SHETTY, 2006), e indica que embora os nutrientes necessários para a espécie estejam disponíveis na dieta durante todo o tempo, estão em quantidades insuficientes (MORGANE et al, 2002). Suas principais manifestações são: o baixo

peso, a baixa estatura e, em casos mais graves, caracterizam condições conhecidas como *Kwashiorkor* e marasmo.

1.2. DESNUTRIÇÃO: CONCEITO E TIPOS

A desnutrição, especialmente a desnutrição energético-proteíca permanece como um dos maiores problemas de saúde pública de países em desenvolvimento (SESSO et al, 2004). Em humanos, possui como causa principal, as condições sócio-econômicas, embora, possa também surgir pela falta de nutrição adequada, em termos qualitativos, ou associada a doenças como fibrose cística, doença renal crônica, AIDS e alcoolismo entre outras (OLIVARES et al, 2005), ou ainda devido a uma redução voluntária da dieta por várias razões, inclusive psicológicas, como por exemplo, a anorexia nervosa (SHETTY, 2006).

No adulto, a desnutrição crônica é um risco para a saúde e prejudica várias funções, incluindo a redução da habilidade para o trabalho e disponibilidade para atividades físicas, acarretando prejuízo na função imune e aumento na predisposição para infecções (SHETTY, 2006).

A desnutrição, especialmente a protéico-energética, tem sido um problema para grande parte da humanidade e, freqüentemente, aparece como causa de várias alterações no desenvolvimento humano (SILVA; ALMEIDA, 2006). Para Lucas (1998), a desnutrição quando ocorre nos períodos críticos ou sensíveis do desenvolvimento, pode programar por toda a vida a estrutura e função do organismo.

A desnutrição pode aparecer em qualquer etapa da vida e, na criança ela se manifesta pelo baixo peso e baixa estatura e, mais severamente, com sintomas e sinais que caracterizam as condições conhecidas como *Kwashiorkor*, marasmus e *kwashiorkor* marasmático (SHETTY, 2006).

Kwashiorkor é o nome dado para a severa desnutrição protéica (CASTIGLIA, 1996). Suas principais características são retardo no crescimento, perda de gordura subcutânea e muscular menos intensa que no marasmo, edema depressível que se localiza, principalmente, nas pernas, das crianças que caminham, mas que pode atingir todo o corpo, hepatomegalia acentuada devido a esteatose hepática, e

alterações mentais e de humor. Podem ocorrer lesões de cabelos (textura, cor, sem brilho, queda) generalizadas ou localizadas (sinal da bandeira), e também lesões de pele, tais como: despigmentação, dermatose de áreas de fricção, descamação, etc. (MONTE, 2000).

O marasmo é o resultado da privação calórica (CASTIGLIA, 1996), e decorre do aporte alimentar insuficiente para suprir as necessidades energéticas e protéicas do indivíduo, processo que se acompanha de emagrecimento progressivo, com diminuição do peso corporal e das reservas de gordura e de massa muscular (CUNHA et al., 1998). Os principais sinais clínicos são peso muito baixo (peso por idade inferior a 60% do peso previsto para a idade), retardo no crescimento (baixa estatura para a idade) e gordura cutânea escassa ou ausente. Diarréia, infecção respiratória, parasitoses e tuberculose comumente estão presentes, bem como sinais de carências de micronutrientes, como xeroftalmia, deficiência de vitamina B, anemia ferropriva e outras (MONTE, 2000). Uma proporção das crianças desnutridas pode apresentar ainda uma forma de desnutrição mista, o *Kwashiorkor-marasmático*, com características mistas em relação às duas outras formas clínicas (MONTE, 2000; SHETTY, 2006).

Desde a década de 40, Josué de Castro já alertava sobre o problema da desnutrição em crianças no Brasil. A partir de estudos pioneiros desse pesquisador, foi possível consolidar e sistematizar as informações nutricionais no Brasil. Em um de seus livros intitulado “O Livro Negro da Fome”, Josué de Castro ressaltou as deficiências protéicas encontradas no Brasil, especialmente, entre as populações de baixo poder aquisitivo. Ele demonstrou ainda a existência de casos de distrofia pluricarenal, alguns com quadro clínico completo de *kwashiorkor*, os quais foram observados com frequência na região metropolitana de Recife, no estado de Pernambuco.

Atualmente, embora os casos de *kwashiorkor* venham se tornando menos freqüente, em ocorrência no Brasil, a característica epidemiológica marcante no problema da desnutrição em crianças brasileiras, passou a ser representado pelo retardo na estatura, traduzindo assim, o efeito lento, gradual e cumulativo do estresse nutricional (BATISTA-FILHO; RISSIN, 2003).

Apesar da constatação de que a prevalência da desnutrição em crianças brasileiras vem diminuindo, ela ainda representa um grave problema de saúde pública. As regiões Norte e Nordeste são especialmente afetadas (EICKMANN et al.,

2003), sendo, no Brasil, a prevalência da desnutrição estimada em 10,5%. Em crianças que habitam áreas rurais do nordeste do Brasil, o índice alcança 39.8% (FERREIRA et al., 1996), e o percentual de óbitos, por desnutrição grave em nível hospitalar, se mantém em torno de 20%, portanto, muito acima dos valores recomendados pela Organização Mundial de Saúde, que são inferiores a 5% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). Assim, o estado nutricional das crianças do estado de Pernambuco reflete a privação energética e protéica e micronutrientes, sobretudo no interior rural, a qual estas estão submetidas e onde as prevalências são mais elevadas (MENEZES; OSÓRIO, 2007; FIDÉLIS; OSÓRIO, 2007).

1.3. MODELOS PARA ESTUDO DA DESNUTRIÇÃO

Para um melhor entendimento dos efeitos da desnutrição no organismo humano, estudos experimentais vêm utilizando animais de laboratório. O uso destes, especialmente, ratos, permite avaliar um grande número de variáveis fisiológicas, além de possibilitar tempo mais restrito de investigação.

Variadas formas e modelos de indução de desnutrição experimental têm sido propostos (PESSOA et al., 2005), e os desenhos experimentais são os mais diversos, conforme mostra a Tabela 1.

Em alguns destes estudos apresentados na Tabela 1, os animais são submetidos a dietas inadequadas (hipoproteica/hipocalórica) durante a gestação e/ou lactação (TONKISS et al., 1998; WOODS et al., 2005; PAIXÃO et al., 2005), ou o número da ninhada aleitada é variado (BELL; SLOTKIN, 1988) e/ou, em outros, somente a partir do desmame os animais recebem dietas deficientes (TROPIA et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2004; PENITENTE et al., 2007). Algumas vezes, duas ou mais técnicas são usadas (FIORETTO et al., 2001; LAHLOU et al., 2004).

Além do pioneiro trabalho do Dr. Josué de Castro, que descreveu a distribuição da desnutrição no Brasil e suas repercussões sociais, o Prof. Dr Nelson Chaves, em 1956, fundou o Instituto de Nutrição, atualmente Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Ele advogava o fortalecimento do tripé nutrição/saúde/educação, objetivando compreender a realidade social nordestina e encontrar soluções para a reconstrução dessa realidade (ARRUDA; ARRUDA, 2007). Segundo Chaves (1948), os nordestinos são autênticos

representantes da fome, e nas regiões sertanejas, nas grandes secas, observava-se um verdadeiro desfile de rostos humanos consumidos pela doença e pela fome.

Tabela 1 - Alguns modelos experimentais de desnutrição em animais de pequeno porte.

ANIMAL	MODELO PROPOSTO	AUTORES
	Desnutrição Intra-uterina	
Rato	- (6% de caseína)	<i>Tonkinss et al, 1998.</i>
Rato	- (8,5% de caseína)	<i>Woods et al, 2005.</i>
Rato	- Dieta Básica Regional-DBR	<i>Paixão et al, 2005.</i>
	Desnutrição da prole durante o Aleitamento	
Rato	- Desnutrição da fêmea nutriz.	<i>Rocha-de-Melo & Guedes, 1997; Barros et al, 2006.</i>
Rato	- Aumento do numero filhotes por ninhada (competição ao leite materno).	<i>Bell & Slotkin, 1988.</i>
Rato	- Limitação da lactação (separação da fêmea nutriz da ninhada) por períodos pré-determinados.	<i>Nunes et al, 2002.</i>
Rato	Desnutrição da prole intra-uterina e durante aleitamento	<i>Lahlou et al, 2004.</i>
	Desnutrição da prole após o desmame	
Porco	<i>Dieta Hipoproteica</i>	<i>Wykes et al, 1996.</i>
Rato	(3% de proteína)	<i>Tropia et al, 2001; Oliveira et al, 2004; Penitente et al, 2007.</i>
	(6% de proteína)	
	Desnutrição no aleitamento e após desmame	<i>Fioretto et al, 2001.</i>
Rato	- Restrição do tempo de mamadas diárias associada a restrição alimentar de 50% após o desmame.	
	Desnutrição durante o a idade adulta e/ou envelhecimento	
	<i>Restrição Alimentar</i>	
Rato	- Alimentação em dias alternados	<i>Chang et al, 2001.</i>
Rato	- 50% da ração controle	<i>Cicogna et al, 2000; Okoshi et al, 2004; Okoshi et al, 2006, Suguzaki et al, 2005</i>
Rato	- 40% da ração controle	<i>Kelley & Herlihy, 1998.</i>
Rato	Desnutrição em gerações sucessivas (efeito cumulativo)	<i>Pessoa et al, 2005.</i>

Para Pessoa *et al* (2005), é pertinente e relevante investigar, em animais de laboratório, estados de desnutrição desencadeados pelo padrão alimentar básico de comunidades-alvo empregando dietas que reproduzam esse padrão em teor e qualidade dos alimentos componentes.

No Nordeste, estudos nutricionais, realizados pelo Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, a partir de enquête alimentar com a população da zona da Mata do Estado de Pernambuco, permitiram que Teodósio *et al* (1990) desenvolvessem um modelo experimental que reproduz no rato quadro clínico muito semelhante ao da desnutrição infantil protéico-energética prevalente no Nordeste brasileiro (TEODÓSIO *et al.*, 1990; PESSOA *et al.*, 2005). Dentre essas semelhanças destaca-se o debilitado crescimento, similar ao nanismo nutricional encontrado nessas crianças (TEODÓSIO *et al.*, 1990).

O modelo experimental de dieta multideficiente foi preparado, para o rato, de acordo com quatro alimentos mais consumidos no regime alimentar dessa população, sendo similar, em termos de qualidade e quantidade, no teor de proteínas. Ainda segundo Teodosio *et al.* (1990), trata-se de uma dieta não balanceada e pobre em certos nutrientes, principalmente, proteínas. Os aminoácidos, tanto essenciais como não essenciais, são extremamente limitados, além de calorias, gordura, vitaminas e minerais em proporções inadequadas (PRAZERES *et al.*, 2004).

Lago *et al.* (1997), a partir de um estudo sobre a duração do tempo de vida de ratas desnutridas, utilizando esta dieta multideficiente, observaram diminuição na curva de crescimento e encurtamento na sobrevida dos animais mal nutridos, quando comparados com os normonutridos. Pessoa *et al.* (2005), estudaram em 159 ratos e em três gerações sucessivas, os efeitos cumulativos do consumo desta dieta sobre o crescimento corporal e o desenvolvimento dos órgãos. Nesse estudo observaram redução acentuada da curva ponderal, do ganho de peso, do comprimento da cauda e do consumo alimentar desses animais quando comparados com os normonutridos.

Outros estudos também foram realizados utilizando o modelo multideficiente para avaliar o efeito das repercussões da desnutrição intra-uterina, sobre a hemodinâmica renal e a morfometria do glomérulo (PAIXÃO *et al.*, 2001); o efeito do exercício físico sobre o crescimento corporal e o desenvolvimento de órgãos em ratos jovens mal nutridos (PRAZERES *et al.*, 2004), o efeito do uso prolongado desta

dieta sobre a velocidade de condução do nervo ciático (DA SILVA et al., 1987), entre outros. Desse modo, o uso da dieta multideficiente, como modelo experimental de má-nutrição, possibilita o conhecimento de alguns aspectos biológicos da nutrição na população nordestina (TEODÓSIO et al., 1990), uma vez que, permite reproduzir no rato, alguns sinais clínicos encontrados no marasmo.

1.4 DESNUTRIÇÃO E SISTEMA CARDIOVASCULAR

A desnutrição engloba um complexo fenômeno causado por várias etiologias que produzem alterações na composição corporal, com importante perda de massa muscular esquelética e cardíaca, complicada por desordens eletrolíticas, minerais e/ou pela deficiência de vitaminas (OLIVARES et al., 2005). Conceitos de que o coração seria preservado na desnutrição tem sido demonstrado serem incorretos (WEBB et al., 1986).

As manifestações cardiovasculares que envolvem a forma marasmo, evidentes na infância, incluem pulso arterial periférico fraco e hipotermia secundária ao baixo rendimento cardíaco, além de diminuição do metabolismo total (TALNER, 1990).

A desnutrição protéico-energética pode causar sérios efeitos na estrutura e função cardiovascular. Vários autores reportam a associação entre desnutrição, induzida no período pré-natal, e o surgimento de doenças na vida adulta, tais como doenças coronarianas, hipertensão arterial e Diabetes tipo II tanto em humanos (BARKER, 1998; BARKER, 2004), quanto em animais (LANGLEY-EVANS; JACKSON, 1994; TONKISS et al., 1998).

Langley-Evans e Jackson, (1994) observaram que ratas submetidos a dietas hipoproteicas, durante a gestação, apresentavam alterações na placenta, no crescimento e desenvolvimento fetal e, posteriormente, a prole desenvolveram significativa hipertensão arterial. Entretanto, o aumento da pressão arterial (PA) também foi encontrado em animais submetidos à desnutrição em outros períodos do desenvolvimento (OLIVEIRA et al., 2004).

Estudos realizados por Sesso et al. (2004), em crianças desnutridas com idades entre 2 a 7 anos, oriundas de regiões carentes de São Paulo, com o objetivo de avaliar os níveis de PA, demonstraram que essas apresentavam níveis

pressóricos elevados, principalmente, na PA diastólica (PAD). Neste estudo, estes autores não encontraram diferenças significativas na relação do peso ao nascer com os aumentos nos níveis de PA, demonstrando assim, que não só a desnutrição intra-uterina, mas também a desnutrição na infância pode ser um fator de risco para o aumento da PA na idade adulta.

Pissaia et al. (1980), estudando os efeitos experimentais da desnutrição calórico-protéica, sobre o coração de ratos, concluíram que esta induz alterações morfológicas e eletrofisiológicas, havendo também aumento dos níveis de catecolaminas que têm importantes efeitos inotrópicos e metabólicos sobre o coração. Assim como em modelos experimentais, importantes achados clínicos tem reportado as alterações eletrofisiológicas observadas no coração de humanos desnutridos.

Estudos eletrocardiográficos, realizados por Saraiva et al. (1992), em crianças procedentes de comunidades recifenses ou da Zona da Mata de Pernambuco com desnutrição calórico-protéica, demonstraram que 95% destas apresentavam alteração na repolarização ventricular e baixa voltagem no QRS no plano frontal e, no estudo ecocardiográfico, diminuição da massa estimada para o ventrículo esquerdo.

Olivares et al. (2005), estudaram crianças desnutridas que apresentaram ao nascer, peso normal, e também descreveram alterações eletrocardiográficas e ecocardiográficas tais como: aumento dos valores relacionados a dispersão do QT e do QT corrigido, sugerindo um prolongamento do intervalo QT.

Segundo Toscano et al. (2008) a desnutrição pode programar alterações na morfologia do coração. A forma e a estrutura do sistema cardiovascular, tanto microscópica quanto macroscópica, podem estar prejudicadas em decorrência da desnutrição. Em humanos adultos desnutridos e normonutridos, necropsiados, Cunha et al. (1998), estudaram os efeitos da desnutrição energético-protéica sobre a morfologia do miocárdio e observaram menor espessura dos cardiomiócitos.

Em animais desnutridos, foram observados alterações na ultraestrutura das fibras dos músculos papilares (SUGIZAKI et al., 2005) e aumento do espaço entre as fibras cardíacas (PISSAIA et al., 1980). Segundo Mann (1999), numerosos estudos têm sugerido que as falhas encontradas nos miócitos cardíacos humanos necropsiados sugerem que estas mudanças devem conduzir a uma perda progressiva da função contrátil do coração.

Estudos realizados por Cicogna et al. (1999), para avaliar o efeito da restrição calórica-proteica por 30 dias sobre a função mecânica dos músculos cardíacos hipertrofiados em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) com 60 dias de idade, constataram restrição do ganho do peso corporal e do peso do ventrículo esquerdo, além de retardo no tempo de contração dos músculos cardíacos hipertrofiados.

É conhecido que alterações na ingestão de nutrientes exercem uma importante influência no sistema nervoso central (SNC), repercutindo na regulação do sistema cardiovascular (TROPIA et al., 2001), uma vez que, invariavelmente, ele é modulado por sistemas neurais, além de influências hormonais (PENITENTE et al., 2007).

As informações provenientes de diferentes sensores do sistema cardiovascular são integradas no SNC que, através dos nervos autonômicos periféricos e da liberação de diferentes hormônios, modulam a atividade cardíaca e vascular (MICHELINI, 1999). As alterações na ingestão de nutrientes afetam a atividade do Sistema Nervoso Simpático (SNS) (KAUFMAN; YOUNG; LANDSBERG, 1986). Young et al (1985), a partir de estudo com ratos alimentados por dietas hipoproteicas (7%), observaram um aumento da atividade do SNS nesses animais.

Estudos realizados por Oliveira et al (2004), mostraram que ratos Fisher com desnutrição induzida por uma dieta hipoproteica (6% de proteína) apresentaram maior variabilidade da Frequência Cardíaca (FC) e da PA média (PAM) quando comparados com os animais normonutridos, sugerindo um aumento do tônus simpático.

As respostas reflexas do SNS e do Sistema Nervoso Parassimpático (SNP), importantes para os ajustes do débito cardíaco e da resistência vascular periférica, são modificados pela desnutrição. Penitente et al. (2007), em um estudo com ratos desnutridos por dieta hipoproteica (6% de proteína), demonstraram um desequilíbrio autonômico que afeta o mecanismo neural de resposta dos quimiorreceptores. Segundo esses autores, essa desregulação autonômica modifica a relação entre os barorreceptores e os quimiorreceptores que levam ao aumento na atividade do SNS, servindo como fator de risco para o surgimento de efeitos deletéricos no sistema cardiovascular.

1.5. ANÁLISE ESPECTRAL PARA ESTUDO DA ATIVIDADE AUTÔNOMICA

A resposta da FC e da PA às alterações fisiológicas tem sido usada para avaliar a função do sistema nervoso autônomo (SNA) em condições de saúde, em certas doenças, e, no envelhecimento (LIPSITZ et al., 1990). As mensurações das mudanças batimento-batimento nos valores de FC, PA entre outras variáveis, em ambas as condições estacionárias e em resposta a estímulos externos normais, podem constituir um objetivo e um método não invasivo de quantificar o estado do SNA, em ambas as condições, fisiológicas e/ou patológicas (CERUTTI et al., 1995). Essas oscilações batimento-batimento refletem as interações que existem entre as atividades regulatórias dos SNS e do SNP (PAGANI et al., 1986). Mudanças na FC podem ser mensuradas por várias técnicas, e desde que essas são mediadas pelo SNA, essas mensurações refletem o atividade autonômico (KLEIGER et al., 1995).

A análise da variabilidade da FC pelo método de domínio no tempo baseia-se em métodos geométricos e estatísticos. Esse método calcula a representação estatística dos intervalos RR (RRi) ou a avaliação numérica da forma geométrica da distribuição dos intervalos RRi da FC (DESPRES et al., 2002). As variáveis que podem ser calculadas incluem a média do intervalo NN (que são todos os intervalos adjacentes do complexo QRS), a média da FC, a diferença entre os maiores e menores intervalos NN, a diferença entre a FC para o dia e para noite, entre outras. (TASK FORCE, 1996).

O estudo da variabilidade no domínio da frequência ou a análise espectral tem alcançado considerável interesse por ser um método não-invasivo que estima a modulação neural e não neural para oscilações a curto e longo prazo da FC e de outros (DE ANGELIS et al., 2004). Segundo Malliani et al. (1991), este método pode ser descrito como a soma dos componentes oscilatórios elementares, definidos pela frequência e amplitude. Para a estimativa da potência espectral, utiliza-se a Transformada Rápida de Fourier ou método autoregressivo (DESPRES et al., 2002).

Com esse tipo de análise podemos obter os espectros de frequência com suas respectivas potências determinadas a partir de bandas com frequência pré-determinadas (DE ANGELIS et al., 2004). Akselrod et al (1985) foram os primeiros a propor a análise do espectro de potência da variabilidade da FC para avaliar a influência do SNA sobre o sistema cardiovascular. Usualmente, o espectro é dividido

em várias bandas de frequência. As mais estudadas bandas são as: Bandas de alta frequência (AF) e de baixa frequência (BF) (DESPRES et al., 2002).

A banda AF é considerada o reflexo do controle vagal do coração, modulado pela respiração, ao passo que a banda BF depende na mesma extensão da modulação barorreflexa e de ambos os tônus vagais e simpáticos (DESPRES et al., 2002). Segundo Cerutti et al (1995), é aceito por muitos autores que o aumento da banda BF ocorre pelo aumento na atividade do SNS, sendo esta considerada um marcador simpático.

Os componentes das bandas de BF e AF são medidos em unidades absolutas de potência (milissegundos ao quadrado -ms²) e, podem também ser representados em unidades normalizadas (UN). Para a normalização dos componentes BF e AF se utiliza a fórmula: BF ou AF normalizado (NU)= BF ou AF (ms²)/potência total (ms²) – MBF (ms²) x 100 (SZTAJZEL, 2004).

A razão entre os componentes de baixa e alta frequência tem sido proposta como forma de estimar o balanço entre as duas atividades neurais (DE ANGELIS et al., 2004). A relação BF/AF é considerada por alguns investigadores refletindo o balanço simpato/vagal (TASK FORCE, 1996).

Em ratos, as bandas de frequência utilizadas são: AF entre 0.75 a 3 Hz, BF entre 0.20 a 0.75 Hz, e muito baixa frequência (MBF) abaixo de 0.20 Hz (PAGANI; MALLIANI, 1994).

1.6 – PROPOSTA DESTE TRABALHO

Sabemos que a desnutrição é uma das principais causas de várias alterações que aparecem quando humanos são submetidos a ela durante seu desenvolvimento. Estudos publicados vêm demonstrando que quando a desnutrição ocorre durante o período pré-natal, pode ser a causa de alterações cardíacas e vasculares encontradas em adultos (VIJAYAKUMAR et al., 1995; BARKER, 1998; BARKER, 2004)

São escassos os trabalhos que relacionam a má nutrição induzida por uma dieta multideficiente com as alterações cardiovasculares em ratos de diferentes idades. Além disso, o envelhecimento também provoca alterações estruturais e

funcionais no sistema cardiovascular, como por exemplo, perda de elasticidade das artérias e aumento nos níveis pressóricos. O modelo de dieta multideficiente que foi utilizado neste trabalho reproduz, no rato, o tipo de nutrição humana adotada por grande parte da população da região nordeste do Brasil.

Desse modo, utilizando ratos não anestesiados e mal nutridos cronicamente, pela dieta multideficiente (do desmame até o nono mês de vida), foi avaliado, neste trabalho, as repercussões da má nutrição sobre a evolução do peso corporal e sobre alguns parâmetros do sistema cardiovascular, especificamente, sobre os níveis de PA, sobre a FC, obtida a partir do Eletrocardiograma (ECG) e sobre sua modulação autonômica, avaliada, não invasivamente, pela análise espectral, e sobre as alterações morfológicas e histológicas dos ventrículos. Além disso, a partir do ECG foi possível acompanhar a evolução da FC, no mesmo animal, semanalmente, por vários meses, isto é, durante todo o período de crescimento, ao qual o animal estava sendo submetido a má nutrição. Os resultados foram comparados com ratos normonutridos ao longo deste processo.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Estudar os efeitos da má nutrição, utilizando modelo de uma dieta multideficiente, sobre alguns parâmetros do sistema cardiovascular em ratos Wistar não anestesiados e em diferentes idades.

2.2. ESPECÍFICOS

Avaliar, em ratos, com diferentes idades, as repercussões da má nutrição, comparando-as com ratos normonutridos, nos seguintes parâmetros:

- Evolução do ganho ponderal;
- Níveis de Pressão Arterial Sistólica;
- Níveis de Frequência Cardíaca (FC);
- Modulação autonômica da FC;
- Morfo-histologia dos ventrículos.

**3. ARTIGO PARA SER SUBMETIDO AO PERÍODICO EXPERIMENTAL
PHYSIOLOGY**

**BLOOD PRESSURE, HEART RATE AND ITS AUTONOMIC
MODULATION IN MALNOURISHED RATS AT DIFFERENT AGES**

Bruna da Rosa Maggi Sant'Helena, Maria do Socorro Brasileiro-Santos; Nicodemos Teles de Pontes Filho, Denia Palmeira Fittipaldi Duarte; Carlos Peres Da Costa

BLOOD PRESSURE, HEART RATE AND ITS AUTONOMIC MODULATION IN MALNOURISHED RATS AT DIFFERENT AGES

Bruna da Rosa Maggi Sant'Helena¹, Denia Palmeira Fittipaldi Duarte¹, Maria do Socorro Brasileiro-Santos¹, Nicodemos Teles de Pontes Filho², Carlos Peres DaCosta¹

¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia; ² Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami – LIKA; Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

ABSTRACT

The objective of this work was to investigate the consequences of malnutrition on the levels of systolic blood pressure (SBP), measured by caudal plethysmography, heart rate (HR), by electrocardiogram and the autonomic modulation of the HR, through the spectral analysis by the autoregressive method. In addition a morphohistological study of the ventricles in rats at different ages (21 days to 9 months) was carried out. Malnutrition was induced by a hypoproteic and hypercaloric multideficient diet. Male Wistar rats were separated into two experimental groups: the Control Group (CG) fed with the Labina® diet, and the Malnourished Group (MG), submitted to a multideficient diet. Statistical analysis was undertaken through one-way ANOVA, Tukey post hoc test, and unpaired Student's t-test ($p < 0.05$). The results showed that the MG in relation to the CG presented: significantly less body weight ($p < 0.001$), at all ages; greater HR ($p < 0.05$) at the ages of 3, 4 and 5 months, and lower from the 6th to the 9th month; SBP without significant differences between the groups, for each age, however with a reduction in the proportion that the MG grew older; spectral analysis with significant increase of the LF components from the third month on ($p < 0.05$), giving evidence of sympathetic predominance; greater autonomic cardiac balance showing that, although aging influences the autonomic behavior, it may also be altered by nutrition. Morphologically, an increase in the ventricle weight/body weight ratio was found in the MG and, in the histology of the ventricles, the presence of apoptosis, necrosis, inflammatory cells and altered healing processes. Together, these results show that the heart of the MG was not spared from malnutrition with ageing and that the histophysiological findings draw near to the clinical signs found in patients with advanced Congestive Heart Failure. Thus, this model of malnutrition presents itself as an important tool that may be used to elucidate the molecular mechanisms involved in this syndrome.

Key words: Chronic malnutrition, autonomic modulation of heart rate, blood pressure

INTRODUCTION

Malnutrition is a complex phenomenon caused by various etiologies (Olivares *et al.* 2005); it is responsible for various alterations that occur in the organism, including alterations in the cardiovascular system. Various authors report the association between undernutrition induced in the pre-natal period and the appearance of cardiovascular diseases in adult life, whether in humans (Vijayakumar *et al.* 1995; Barker, 1998; Barker, 2004) or in animals under experimentation (Langley-Evans & Jackson, 1994; Tonkiss *et al.* 1998). Diverse studies have shown that, not only in the fetal period, but also undernutrition induced in other periods of development may be responsible for alterations in the cardiovascular system, such as: increase in blood pressure (Sesso *et al.* 2004; Oliveira *et al.* 2004) and heart rate (Oliveira *et al.* 2004), electrophysiological alterations (Pissaia *et al.* 1980; Saraiva *et al.* 1992; Olivares *et al.* 2005), morphological and histological modifications of the heart (Cunha *et al.* 1998; Pissaia *et al.* 1980), change in the contractile function of the myocardium (Nutter *et al.* 1979; Cicogna *et al.* 1999) and may even be responsible for alterations in the mechanisms of regulation of the cardiovascular system as, for example, in the autonomic nervous system (Tropia *et al.* 2001; Penitente *et al.* 2007). Chronic undernutrition has, as a principal cause, the socioeconomic conditions of an individual; however, it may also arise within an adequate nutrition in qualitative terms as it may be associated with some diseases like cystic fibrosis, chronic kidney disease, AIDS and alcoholism, among others (Oliveira *et al.* 2004) or even due to a voluntary reduction in diet for various reasons, including psychological reasons, such as anorexia nervosa (Shetty, 2006). Few studies use a protocol of undernutrition for prolonged periods. Thus, our work has the objective of studying heart rate (HR), Systole Blood Pressure (SBP), spectral analysis of the HR, and the morphology and histology of the ventricular myocardium of rats submitted to malnutrition from 21 days to 9 months of age, seeking to compare the effects of malnutrition on the process of aging and mechanism of cardiovascular disease.

Methods

Animals

Male rats of the Wistar strain were used and maintained in cages in a room with ambient temperature of $\pm 21^{\circ}\text{C}$, which has adequate experimental conditions available: controlled climate, air circulation system and a photoperiod that provides 12 h of light and 12 h of darkness. Initially the female breeding rats were placed for mating and accompanied daily throughout the phases of gestation and suckling. During all the phases, the female breeding rats were fed with the standard diet Labina®. The offspring were weaned at 21 days of life, with only the males being chosen for the research. They were separated into two experimental groups: one with rats fed the standard diet Labina®, Control Group (CG, n=32), and another submitted to a multideficient diet, from 21 days (weaning) up until 9 months of age, Malnourished Group (MG, n=32). Both groups received their diet and water *ad libitum*.

Weekly, the rats of both groups were submitted for determination of the following parameters: body weight, SBP (recorded indirectly), and electrocardiogram (ECG), in accordance with the procedures described below.

Studies of the behavior of the SBP, of the variability of the HR, through spectral analysis, and of the morphological and histological aspects of the heart were undertaken.

Ethical considerations

All experimental procedures involving animals in this study were approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation of the Centro de Ciências Biológicas of the Universidade Federal de Pernambuco, and were carried out in accordance with the Committee's guidelines.

Diet

Malnutrition was induced through a deficient diet as previously described by Teodósio *et al.* (1990). The ingredients of the diet (g/g%) comprised beans - *Phaseolus vulgaris* (18,34), manioc flour-*Manihot esculenta* (64,81), jerked beef

(3,74) and sweet potato-*Ipomea batatas* (12,76), which were cooked, dehydrated at 60° C and pulverized. All components were mixed with water. Meat fat (0,35) was added and the mixture was shaped into balls that were dehydrated at 60° C for 24 h. The content of main dietary nutrients is shown in Table 1.

Measurement of Systolic Blood Pressure

The measurement of SBP by the indirect method was undertaken weekly by means of a tail-cuff plethysmograph (Model IITC 31, Woodland Hills, CA - USA) using proprietary software supplied by the manufacturer. For this purpose, the animals were acclimated to containment and simultaneously warm for 3 to 5 minutes (through a 100W bulb placed in the upper part of a plastic box in which the animal remained) at a temperature of 37°C. The previously calibrated sensor was placed in the region near the tail, obtaining the values of SBP. The instantaneous values of this parameter were recorded in files and later analyzed. On average, 3 measurements/animal/week were performed, taken 5 minutes after heating and at an interval of every 3 minutes, giving a total of 3 measurements/animal. The individual values of each animal were calculated through the mathematical average of the measurements made.

Electrocardiogram and Heart Rate

The recording of the ECG was undertaken in a non-invasive manner in accordance with a methodology developed in our laboratory (Falcão *et al.* 2008). In it, the non-anesthetized animal remained in a polyethylene box in a resting position, supporting its paws on the electrodes (silver rods) located on the floor of the box in which the animal was maintained (figure 1). The ECG signal was picked up, amplified and recorded in the computer using the BioMed® (João Pessoa – Brazil) data acquisition software system. After placement of the animal in the box, there was a waiting period of around 5 minutes for adaptation of the animal, and then 3 records of the ECG were carried out, in the DI derivation, for 1 minute, at intervals of 2 minutes, for around 10 minutes, totaling 3 records per animal. Records of at least 20 consecutive cycles were considered for the analysis. The HR was quantified through

the analysis of the RR interval (RRi). In these studies, the animals of both groups were evaluated at the ages of 3, 5, 7 and 9 months.

Spectral analysis of the HR

The good quality of the signal obtained in the ECG, made possible for us to study the variability of the HR in these animals to evaluate the role of the Autonomic Nervous System (ANS) in the modulation of the cardiac autonomic tonus.

To undertake spectral analysis, we used software developed in the Pre-Clinical Science Department, Università Di Milano - Italy, which uses the autoregressive model for analysis in the frequency domain of the spectral components desired. Each heart beat was identified through the use of algorithm implemented in the BioMed® system which automatically undertook the detection of the RRi of the ECG. After the automatic reading, a check was undertaken through visual inspection of the recording, to identify and/or correct any incorrect marking. Then, the temporal series of the cardiac interval (tachogram) was created. When necessary, we used the interpolation of the tachogram series to remove the undesired distortions. The data was stored in files and used later in the determination of the spectral analysis. The band of frequency of interest for spectral analysis in the rat is found in the interval from 0 to 3Hz.

The spectral power was integrated in three frequency bands of interest: high frequencies (HF) between 0.8 and 3 Hz, low frequencies (LF) between 0.2 and 0.8 Hz, and very low frequencies (VLF), less than 0.2 Hz. The sympathetic-vagal or autonomic balance was also calculated, determined by the ratio between the components of LF and HF (PAGANI *et al.* 1986). In these studies, the animals of both groups were evaluated at the ages of 3, 5, 7 and 9 months.

Morphology and Histology

Animals were anesthetized with 60 mg/Kg, sodium pentobarbital (Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos, Itapira, SP, Brazil) ip. The right femoral vein was dissected and the animal were perfused with saline solution (0.9%) and after wards killed by overdose of anesthetic. The heart was removed and washed with saline solution, dried on filter paper and weighed for calculation of wet Weight (wW), using a

digital scale (model AL204, METTLER-TOLEDO GmbH, Greifensee, Switzerland) with precision of 0.1mg. For the measurement of dry weight (dW) the ventricles (v) were dehydrated in a laboratory drying and sterilizing oven (FANEM- Model 315SE, São Paulo, Brazil), maintained at 70°C for 48 hours. The coefficient wW of the ventricle (g)/body weight (g) x 100 (wW/bW x 100) was calculated in all cases. The water content of the tissues was evaluated by the dW/wW ratio of the ventricles. For each reading three animals of each group (CG and MG) were used.

For the histology, five animals from each age range of each group (CG and MG) were used. The hearts were removed and two transversal cuts at the ventricle level were performed, dividing the ventricles into three fragments. These were fixed in 10% buffered formalin and incubated for at least 48 hours. Next they were embedded in paraffin and from these, histological sections were obtained with a thickness of 4µm using the horizontal microtome Yamato KoKi (Japan). The sections were exposed to histological procedures and marking by Hematoxylin-Eosin (HE) coloring. After mounting the slides with synthetic resin (Entellan-Merck), the general histological characteristics were observed in the microscope. In these studies, the animals of both groups were evaluated at the ages of 3, 5, 7 and 9 months.

Statistical Analysis

Statistical analysis of the weight gain of the rats in the two experimental groups (CG and MG), throughout the ages studied and comparative analysis of the cardiovascular parameters was performed through one-way ANOVA, Tukey post hoc test, and the Student's t-test for unpaired data. The results are expressed in mean±SEM. Statistically significant differences were considered for a level of $p < 0.05$.

RESULTS

Weight gain

The analysis of the evolution of weight gain showed that, with the exception of weaning, the MG presented significantly less weight (Student's t-test, $p < 0.001$), at all

ages, when compared to the CG (figure 2). This reduction in weight gain is reflected in the bodily aspects of the animals, as shown by figure 3.

Systolic Blood Pressure and Heart Rate

The values of the levels of SBP and HR are shown in figures 4 and 5, respectively. The levels of SBP did not present any statistically significant difference between the groups (Student's t-test, $p>0.05$); however, the MG presented a significant reduction of the SBP with the advance of age (ANOVA, one way, $p<0.05$).

The HR proved to be significantly greater in the MG in relation to the CG at the ages of 3, 4 and 5 months (Student's t-test, $p<0.05$). Similar to that observed in the SBP, the MG presented a significant reduction of HR with the advance of age (ANOVA, one way, $p<0.05$).

Spectral Analysis

The values of the components of spectral analysis are shown in Table 2. The LF component, in absolute units (ms^2), was significantly greater in the MG in relation to the CG at the ages of 3, 5 and 7 months, while in the 9th month, there was a significant reduction in this component of this group. The normalized LF component (un) was significantly greater ($p<0.05$) in the MG, at the ages of 3, 5 and 7 months. In addition to that, for both the CG and MG, the values of the normalized LF presented an increase with the advance of age, although a significant difference was not observed between the ages of 7 and 9 months.

The normalized HF component was significantly less in the MG ($p<0.05$) in the 3rd, 5th, and 7th months. The CG and MG presented a reduction of the normalized HF with the advance of age (ANOVA, one way, $p<0.05$).

With the exception of the 9th month, the autonomic balance (LF/HF) was significantly greater in the MG for the ages of 3, 5 and 7 months in relation to the CG (Student's t-test, $p<0.05$), showing predominance in the cardiac sympathetic tonus.

Morphological analysis of the heart

The vwW/bW relation was significantly greater in the MG, at all ages (Table 3, Student's t-test, $p < 0.05$). In the ventricles, the vdW/vwW relation was not statistically different between the groups and at the various ages.

Histological analysis of the heart

The CG, at all ages, presented normal histological organization with cardiomyocytes, cardiac fibers and collagen distribution without any changes (Figure 6A). In the MG, alterations in the histological organization were observed. They proved to be present starting the third month, and were found in all the ages studied, without improvement or aggravation of these alterations. The alterations in the histological organization found in the MG were: a looser and more disorganized arrangement of the cardiac fibers (Figure 6B), vacuolization and picnosis in the cardiomyocytes with myolysis and cells in apoptosis (Figure 7A). Occasional areas of necrosis (Figure 7B), the presence of inflammatory cells (Figure 7C) were also observed. These being diffused throughout the entire pericardium, and healing process with areas of interstitial fibrosis, replacing the injured cardiac tissue (Figure 7D) were also present.

DISCUSSION

In this work we investigated the cardiovascular effects of malnutrition arising from a multideficient, hypoproteic/hypercaloric diet that was imposed on rats during their **development**, which was characterized as a model of chronic malnutrition. This model evaluated the nutritional aspects during aging on some cardiovascular parameters.

The reduction of body weight may be used as a basic indicator of the degree of undernutrition (Lucas, 1998), which confirms the effectiveness of the experimental model employed. The experimental model of malnutrition used in this work, based on a multideficient diet (Table 1), differs from other methodologies used to induce

undernutrition which are characterized by isolated reduction of protein content (6%) (Tropia *et al.* 2001; Oliveira *et al.* 2004; Penitente *et al.* 2007) or even through the use of balanced diets but with a quantitative reduction (restriction of 50% in ingestion) for the group of undernourished animals (Cicogna *et al.* 2000; Okoshi *et al.* 2004; Sugizaki *et al.* 2005). **The proposed diet model imitates the diet of the workers of the forest region of Pernambuco, as described by Teódosio *et al.* (1990).**

The protocol of malnutrition used established an accentuated and early reduction in body weight gain of the rats of the MG, which continued until the end of the period studied. Reduction in weight gain was also found in other studies that used the rat as an experimental model, whether for undernutrition induced by food restriction of 50% (Sugizaki *et al.* 2005), or for hypoproteic diets (6% protein) (Tropia *et al.* 2001; Oliveira *et al.* 2004; Penitente *et al.* 2007).

Observing figure 2, the experimental model used caused a drastic deficit in weight gain in the malnourished animals, with the animals of this group exhibiting, at the end of the experiment (9 months), significant reduction in body weight, which corresponded to approximately $\frac{1}{4}$ of the body weight of the CG for the same age. In addition, the aspect of the rat of the MG at nine months of age was similar to that observed in the animals of the CG at the age of one month. In addition to the reduction of the components in qualitative terms, the experimental diet presented a reduced protein content (8.59%), which is characterized as below the requirements of the rat and below the content of the diet used by the animals of the CG (20,5%). The reduction of the protein content in the diet leads to less turnover of proteins in the body, leading to less protein synthesis in the tissues. This reduction shows the failure of bodily growth in animals exposed to hypoproteic diets (Wykes *et al.* 1996).

There is a great deal of evidence from epidemiological data to experimental studies regarding the involvement of fetal undernutrition in the origin of various cardiovascular disease, like hypertension in adult life (Barker, 1990; Barker, 1992; Langley-Evans & Jackson, 1994; Tonkiss *et al.* 1998), suggesting that the alterations found in the cardiovascular system may be related to the stage of development in which undernutrition occurs.

In this study, no significant difference was observed in relation to the levels of SBP between the groups, although it presented a significant reduction with aging in the MG. A study undertaken by Benade *et al.* (1993) also did not find a difference in

the baseline levels of mean arterial pressure (MAP) between the undernourished and normally nourished animals.

In relation to HR, it may be observed that it differed in two aspects, presenting a more elevated level in relation to the CG at the ages of 3, 4, and 5 months, and being significantly reduced in the MG in the measure that the malnourished rat grew older (ages of 6, 7 and 8 months).

Clinical and experimental studies that investigate the effects of post-natal undernutrition on hemodynamic variables are controversial. Rats submitted to undernutrition after weaning showed that the levels of BP and HR did not differ between those that were undernourished and those that were normally nourished (Benabe *et al.* 1993; Tropia *et al.* 2001; Fioretto *et al.* 2002; Okoshi *et al.* 2004). These results were also found in studies with humans (Olivares *et al.* 2005). In these, nevertheless, in undernutrition of the chronic type, represented by the clinical state of *Kwashiokor* and marasmus, hypotension and bradycardia were found (Viart, 1977; Talner, 1990). Thus, the malnutrition model, which occurred throughout the life of the animal (9 months), suggests that the chronic nature of it caused modifications in the behavior of the SBP and HR due to age, seeing that they were not found in the CG. Although the reduction of the SBP and HR dependent on age may not be characterized as a hypotension and bradycardia state, as seen in cases of *Kwashiokor* and marasmus, it showed an involvement in the same direction, i.e., reduction in the values of these variables. Thus, as these parameters reflect cardiac function, in all probability, this diet significantly influenced performance of the heart. In the CG, however, there was no difference in the levels of HR and SBP among the ages. These results are in agreement with those of Irigoyen *et al.* (2000), that did not observe differences between the levels of MAP and HR between young rats (70 days) and old rats (24 months).

Tropia *et al.* (2001), did not observe any difference in the levels of MAP and HR between undernourished animals after weaning (using a hypoproteic diet, for thirty five days) and normally nourished animals. Benade *et al.* (1993) also did not find a difference in the levels of MAP between the undernourished and normally nourished animals. Nevertheless, an increase in the sympathetic component of these animals was observed in these two studies. Benade *et al.* (1993) suggested down-regulation of the alpha-adrenoceptors in the peripheral resistance vassels of the undernourished animals.

Other works also support evidence that undernutrition may be associated with an increase in sympathetic activity (Rossi & Zucoloto, 1982; Ransnas *et al.* 1989; Hilderman *et al.* 1996; Oliveira *et al.* 2004).

In our study, from the spectral analysis of the HR, we find, in the MG, greater sympathetic activity at the ages of 3, 5 and 7 months due to the increase in the LF component, as well as an increase in the autonomic balance in this group at these ages. This increase was significantly greater at all ages as compared to the CG (between the groups for the same ages). However, for the age of 9 months in the animals of the MG, a significant reduction in the LF component in absolute units (ms^2) was found. This reduction is also found in states of advanced Congestive Heart Failure (CHF) in humans, and is even often times used as a predictor of the worsening of the disease and the risk of death (Galinier *et al.* 2000).

Through these results, it was to be expected that with the increase of sympathetic activity, the values of SBP and HR would be more elevated in the MG when compared to the CG. However, as the HR only increased in the age range of 3rd to the 5th month, decreasing afterwards together with the falling in the SBP. A response of the adrenergic receptors to the increase of sympathetic activity may have occurred in the 3rd to the 5th month since some studies with undernourished animals showed that the cardiac beta-adrenergic receptors presented sensibility that was preserved (Sugizaki *et al.* 2005) or increased (Drott *et al.* 1986; Ransnas *et al.* 1989; Klebanov *et al.* 1997) in response to the circulating catecholamines. In a general way, this information gives evidence that the levels of SBP and HR might not show the influence of the autonomic regulation as a consequence of modifications either in the expression or in the sensitivity of the adrenergic receptors as a result of the nutritional state. These findings suggest that in the MG, in addition to modifications arising from aging, malnutrition also had an influence on the cardiac autonomic behavior.

In the CG, modifications in the autonomic modulation of these animals were also observed. An increase in the LF component as a function of age was observed; however, these modifications are similar to those found in the aging process, in accordance with a study from Narkiewicz *et al.* (2005). However, many times the increase in the LF component is not perceived by alterations in the SBP and HR since, for Kelley & Herlihy (1998), the response to stimuli in the beta-adrenergic receptor in the heart decreases with age.

A state of CHF in malnourished animals is not strange, once that some studies on the effects of undernutrition in humans reported CHF and cardiomyopathies in undernourished children (Webb *et al.* 1986; Talner, 1990; Maisch *et al.* 2002).

According to Notarius & Floras (2001), the predominance of the LF component in the spectral analysis of the HR has been observed in patients with class II CHF (NYHA), but it diminishes or becomes absent in classes III and IV. This reduction, however, does not necessarily represent a reduction in sympathetic activity for, in advanced CHF, is accompanied by sympathetic hyperactivity, as observed by Negrão *et al.* (2001), through the microneurography of the peroneal nerve, and by high levels of circulating catecholamines found in these patients by La Rovere *et al.* (2003).

In our data, the reduction of the LF component on the 9th month may also suggest that the sympathetic activity remained high, seeing that both the normalized LF component as well as the autonomic balance continued elevated. In addition, when we observed the HF component (parasympathetic index), it proved to be reduced. Thus, the behavior of the sympathetic activity, through the spectral analysis of the HR in malnourished animals in the present study, is similar to the autonomic state found in advanced CHF.

Data in the literature in relation to the preservation of the cardiac muscle in malnutrition are conflicting. According to Fioretto *et al.* (2002), the heart weight/body weight ratio may vary in accordance with the duration and with the model of undernutrition adopted. Thus, for a normal individual submitted to a period of food privation for a short time, the heart may be spared, relatively speaking, from undernutrition due to the catabolism which occurs in other tissues, such as the adipose tissue and the glycogen reserves; whereas in chronic caloric-proteic undernutrition, due to the inhibited growth of the animal, the heart will never reach its normal size.

For other authors, the heart weight/body weight ratio reflects a cardiac function; for Talner (1990), if the demand is increased, as occurs in severe anemia or in the overloading of volume, the size of the heart might increase and, according to Nutter *et al.* (1979), the cardiac atrophy observed in undernutrition probably occurs as a result of the decrease in the work of the heart. Both arguments are important, for the cardiac muscle is composed of a complex mixture of intracellular and extracellular proteins that have a relatively long lifetime (Samarel *et al.* 1987) and

include structural, enzymatic and nuclear functions, as well as contractile functions which are principally responsible for its pumping function (Schreiber *et al.* 1981).

According to Manson & Rosenberg (1995), heart mass in caloric-proteic undernutrition is reduced, even though the reduction is proportionally less than the loss of body weight.

In our study, the ventricle weight/body weight ratio was greater in the MG, characterizing a greater reduction in body weight in relation to the weight of the ventricles. This data was also obtained by other authors in studies with rats (Sugizaki *et al.* 2005; Cicogna *et al.* 2000; Rossi & Zucoloto, 1982; Nutter *et al.* 1979), and with humans (Cunha *et al.* 2002; Kothari *et al.* 1992; Saraiva *et al.* 1992), and even when both ventricles (right and left) were weighed separately (Sugizaki *et al.* 2005).

Studies undertaken by Cicogna *et al.* (2000) with spontaneously hypertense rats and normotense rats, both submitted to quantitative food restriction of 50%, showed a greater left ventricle weight/body weight ratio in undernourished normotense animals. Thus, our results are in accordance with other studies showing that the use of the chronically multideficient diet resulted in a relative preservation in heart weight in relation to the intensity of loss of body weight.

On the other hand, the relative preservation of ventricle weight found in our study cannot be explained by edema in the myocardium, for there were no significant differences in the dry weight/wet weight ratio of the ventricles in either of the groups (CG and MG) nor at any specific age. Similar results were found by Nutter *et al.* (1979), who investigated, through the dry weight/wet weight ratio of the heart, the effects of caloric/proteic undernutrition after weaning in rats. They found reduced heart weight in undernourished animals and, in the histological study, they did not observe pathological alterations, nor edema, in the left ventricle.

In contrast to Nutter *et al.* (1979), who did not observe differences in the histology of the ventricles of undernourished animals, other studies have shown histological and structural alterations of the cardiac muscle in animals (Pissaia *et al.* 1980; Okoshi *et al.* 2001; Sugizaki *et al.* 2005) and humans (Talner, 1990; Cunha *et al.* 1998) submitted to undernutrition.

Okoshi *et al.* (2001) observed that the chronic quantitative (50%) dietary restriction for 3 months in Wistar-Kyoto rats caused large alterations in the heart microstructure, such as: reduction of the sarcoplasmatic content, absence and lack of

organization of the myofilaments and Z-lines, among others; however, minimum alteration in mechanical heart function.

In our model, malnutrition also caused alterations in the structure of the myocardium of the animals of the MG, such as: looser and more disorganized cardiac fibers, the presence of vacuolization and picnosis in the cardiomyocytes, myolysis, cells in apoptosis, areas of necrosis and the presence of inflammatory cells. The histological alterations (figures 6B, 7A, 7B, 7C and 7D) found are similar to those obtained in rats by Pissaia *et al.* (1980), Okoshi *et al.* (2001) and Sugizaki *et al.* (2005), as well as in humans (Talner, 1990).

The CG, at all ages, presented normal histological organization, with cardiomyocytes, cardiac fibers and collagen distribution without modifications (Figure 6A). In rats, studies undertaken by Sugizaki *et al.* (2005) also did not find histological and morphological alterations in the myocardium of normally nourished animals at 12 months of age. This data shows that the advance of age, in itself, is not characterized as a determining factor for the appearance of histological alterations in the cardiac muscle, since there was no worsening nor increase of histological modifications found throughout the aging of the animal, that is, from the 3rd to 9th months of age. These results suggest that the alterations observed appear to be directly related to the nutritional state to which the MG was submitted.

In the MG, at all ages, cells with apoptosis and regions with necrosis were found in the myocardium. Both processes characterize morphological expressions of cellular death. However, apoptosis is a physiological mechanism of cellular deletion that regulates the cellular mass in many tissues, whereas necrosis is characterized as a non-regulated and non-physiological form of cell death (Fortuño *et al.*, 2001).

It has traditionally been accepted that the cardiomyocytes in adult life are not capable of proliferating and are therefore resistant to the unleashing of apoptosis (Fortuño *et al.* 2003). Nevertheless, studies have shown that the apoptosis of cardiomyocytes may be provoked by various pathological conditions (Fortuño *et al.* 2001) with it being the principal cause of the loss of cardiomyocytes. When it occurs, apoptosis leads to important physiopathological consequences (Fortuño *et al.* 2003), such as deterioration of the systolic function (Pons-Llado *et al.* 2000) and the appearance of some diseases, such as CHF (Kang & Izumo, 2000).

Diverse evidence has been accumulating, both for animals and humans, that apoptosis may be an important mode of cellular death in CHF. These concepts

suggest that the apoptosis found in this study, in the animals of the MG, at all ages, could result in a state of injury to the myocytes similar to that found in CHF.

Rossi & Zucolloto (1982), studying rats fed with hypoproteic diets for 6 months, postulated that the prolonged nutritional stress, upon increasing the levels of catecholamines in the myocardium, could be related to the development of myopathic processes.

Studies undertaken by Shizukuda *et al.* (1998) showed that continual beta-adrenergic stimulation for a period of 12 hours to 7 days, using the administration of isoproterenol, significantly induced apoptosis in the cardiomyocytes of normotense rats. They also observed points of necrosis and fibrosis in the hearts of these animals. These findings lead us to suggest that both the apoptosis and the necrosis found in the myocardium of the MG could be consequences of the increase of activity of the sympathetic nervous system as observed in these animals through the increase of the LF component determined by the spectral analysis of the HR.

Areas of the myocardium in an inflammatory process and areas of scarring were also found in the MG, at all ages, characterized by the presence of fibroblastic tissue and irregular collagen deposition. These findings confirm the presence of cellular death by necrosis. In addition, the disproportional increase of the interstitial collagen matrix may lead to myocardial mechanical dysfunction due to the decrease of ventricular compliance in terms of modification in the cardiac geometry (Janicki, 1992). Thus, this work shows that the heart morphology, when submitted to a model of chronic malnutrition, is not spared from its adverse effects.

The process of aging, considered by our study from 21 days to 9 months of age, apparently affected the autonomic behavior of the heart in both groups, shown by the increase in the sympathetic vagal balance (table 2); however, it did not give rise to worsening or modifications, in terms of age, in the morphological and histological characteristics of the heart of the animals of the MG.

There are various factors that limit the similarity of experimental studies to the medical clinic. Nevertheless, even with awareness of these limitations, we observe that the results obtained in the MG showed that the alterations found (reduction in the levels of SBP and HR in terms of age; predominance of the sympathetic cardiac activity; and the presence of apoptosis, necrosis and inflammatory infiltrates in the ventricular myocardium) approach the findings encountered in humans with advanced CHF (Galinier *et al.* 2000; Notarius & Floras, 2001; La Rovere *et al.* 2003).

Thus, this model of malnutrition presents itself as a possible tool that could be also used to elucidate the molecular mechanisms involved in this syndrome.

FINANCIAL ASSISTANCE

This research was supported by grants from the Brazilian Research Council (MCT/CNPq/ 474429/ 2007-5), and the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE)

REFERENCES

- Barker DJP (1998). In utero programming of chronic disease. *Clin Sci* **95**, 115–128.
- Barker DJP (2004). The Developmental Origins of Adult Disease. *J Am Coll Nutr* **23** (6), 588S–595S.
- Benabe JE, Fernandez-Repollet E, Tapia E, Luo C & Martinez-Maldonado M (1993). Angiotensin II and catecholamines interaction in short-term low protein feeding. *Kidney Int* **44**, 285—293.
- Cicogna AC, Padovani CR, Georgette JC, Aragon MH & Okoshi MP. Efeito da restrição proteica-calórica sobre a função mecânica dos músculos cardíacos hipertrofiados. *Arq Bras Cardiol*, **72** (4), 431-435, 1999.
- Cicogna AC, Padovani CR, Okoshi K, Aragon FF & Okoshi MP (2000) Myocardial function during chronic food restriction in isolated hypertrophied cardiac muscle. *Am J Med Sci* **320** (4), 244-248.
- Colugnati DB, Gomes PAP, Arida RM, Albuquerque M, Cysneiros RM, Cavaleiro EA & Scorza FA (2005). Avaliação de parâmetros cardíacos em animais com epilepsia. *Arq Neuropsiquiatr* **63**(4), 1035-1041.
- Cunha DF, Pedrini CH, Sousa JC, Reis MA, Ramos SG, Cunha SFC & Teixeira VPA (1998) Estudo Morfométrico do Miocárdio em Adultos com Subnutrição Protéico Energética. *Arq Bras Cardiol*, **71** (5), 677-680.
- Drott C, Ekman L, Holm S, Waldenstrom A & Lundholm K (1986) Effects of tumor-load and malnutrition on myocardial function in the isolated working rat heart. *J Mol Cell Cardiol* **18** (11), 1165-1176.
- Falcão EP, Sant'Helena BRM, Nogueira ASPN, Cerqueira TV, Pessoa CRV, Bezerra DS, Oliveira HST, Duarte DPF & Costa CJEDP (2008). Método não invasivo para registro do eletrocardiograma em ratos não anestesiados. RESUMO: Anais da III Reunião Regional da FeSBE , Fortaleza, 2008.

Fioretto JR, Queiroz SS, Padovani CR, Matsubara LS, Okoshi K & Matsubara BB (2002). Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **282**, H1327–H1333.

Fortuño MA, Ravassa S, Fortuño A, Zalba G & Díez J (2001) Cardiomyocyte Apoptotic Cell Death in Arterial Hypertension: Mechanisms and Potential Management. *Hypertension* **38**, 1406-1412.

Fortuño MA, Gonzalez A, Ravassa S, López B & Díez J (2003). Clinical implications of apoptosis in hypertensive heart disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **284**, H1495-H1506.

Galinier M, Pathak A, Fourcade J, Androdias C, Curnier D, Varnous S, Boveda S, Massabuau P, Fauvel M, Senard JM & Bounhoure JP (2000). Depressed low frequency power of heart rate variability as an independent predictor of sudden death in chronic heart failure *Eur Heart J* **21** (6),474-482.

Hilderman T, Mcknight K, Dhalla KS, Rupp & Dhalla NS (1996). Effects of long-term dietary restriction on cardiovascular function and plasma catecholamines in the rat. *Cardiovasc Drugs Ther* **10** (1), 247-250

Irigoyen MC, Moreira ED, Werner A, Ida F, Pires MD, Cestari IA & Krieger EM (2000) Aging and baroreflex control of RSNA and heart rate in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **279**, R1865-R1871.

Kang MP & Izumo S (2000). Apoptosis and Heart Failure: A Critical Review of the Literature. *Circ Res* **86**, 1107-1113.

Kelley GR & Herlihy JT (1998). Food restriction alters the age-related decline in cardiac β -adrenergic responsiveness. *Mech Ageing Dev* **103** (1),1-12.

Klebanov S, Herlihy JT & Freeman GL (1997). Effect of long-term restriction on cardiac mechanics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **273**, 2333-2342.

Kothari SS, Patel TM, Shetalwad AN & Patel TK (1992). Left ventricular mass and function in children with severe protein energy malnutrition. *Int J Cardiol* **35**(1),19-25.

Janicki JS (1992). Myocardial Collagen remodeling and left ventricular diastolic function. *Braz J Med Biol Res* **25**, 975-982.

La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, Mortara A, Capomolla S, Febo O, Ferrari R, Franchini M, Gnemmi M, Opasich C, Riccardi PG, Traversi E & Cobelli F (2003). Short-Term Heart Rate Variability Strongly Predicts Sudden Cardiac Death in Chronic Heart Failure Patients *Circulation* **107**,565-570.

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

Maisch B, Ristic Ad, Hufnagel G, Funck R, Alter P, Tontsch D & Pakuweit S (2002). Dilated Cardiomyopathies as a Cause of Congestive Heart Failure. *Herz* **27**,113–134.

Mason JB & Rosenberg IH (1995). Desnutrição Proteíco-Calórica. In: Harrison Medicina Interna. Vol1. 13 ed. KURT, I.J.; Eugene, B.; Wilson, J.D.; Martin, J.B.; Fauci, A.S.; Kaspas, D.L. pp. 460-466, Mc Grau-Hill, Rio de Janeiro.

Narkiewicz K, Phillips B G, Kato M, Hering D, Bieniaszewski L & Somers VK (2005). Gender-Selective Interaction Between Aging, Blood Pressure, and Sympathetic Nerve Activity. *Hypertension* **45**, 522-525.

Negrão CE, Rondon MUPB, Tinucci T, Alves MJN, Roveda F, Braga AMW, Reis SF, Nastari L, Barreto ACP, Krieger EM & Middlekauff HR (2001) Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H1286-H1292.

Notarius CF & Floras JS (2001). Limitations of the use of spectral analysis of heart rate variability for the estimation of cardiac sympathetic activity in heart failure *Europace* **3**, 29–38.

Nutter DO, Murray TG, Heymsfield SB & Fuller EO (1979). The effect of chronic protein-calorie undernutrition in the rat on myocardial function and cardiac function. *Circ. Res* **45**, 144-152.

Okoshi K, Fioretto MP, Okoshi MP, Cicogna AC, Aragon FF, Matsubara LS & Matsubara BB (2004). Food restriction induces in vivo ventricular dysfunction in spontaneously hypertensive rats without impairment of in vitro myocardial contractility. *Braz J Med Bio Res* **37**(4), 607-613.

Okoshi MP, Okoshi K, Dal Pai V, Dal Pai-Silva M, Matsubara S & Cicogna AC (2001). Mechanical, biochemical, and morphological changes in the heart from chronic food-restricted rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **79**(9): 754–760.

Olivares JL, Vázquez M, Rodrigues G, Samper P & Jesus F. Eletrocardiographic and Echocardiographic Findings in Malnourished Children. *J Am Coll Nutr* **24** (1): 38-43, 2005.

Oliveira EI, Cardoso LM, Pedrosa MI, Silva ME, Dun NJ, Colombari E, Moraes MFD, & Chianca Jr DA (2004). 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.

Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'orto S, Piccaluga E, Turiel M, Baselli G, Cerutti S & Malliani A (1986). Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res* **59**, 178-193.

Penitente AR, Fernandes LG, Cardoso LM, Silva ME, Pedrosa MI, Silva AI, Haibara AS, Moraes MFD & Chianca Junior DA (2007). Malnutrition enhances cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats. *Life Sci* **81**, 609–614.

Pissaia O, Rossi MA & Oliveira JSM (1980). The hearth in protein-calorie malnutrition in rats: Morphological, Eletrophysiological and Biochemical changes. *J Nutr* **110** (10), 2035-44.

Pons-Llado G, Ballester M, Borra SX, Carreras F, Carrio I, Lopez-Contreras J, Roca-Cusachs A, Marrugat J & Narula J (2000). Myocardial Cell Damage in Human Hypertension. *JACC*, **36** (7):2198-2204.

Ransnas L, Drott C, Lundholm K, Hjalmarson A & Jacobsson B, Effects of malnutrition on rat myocardial beta-adrenergic and muscarinic receptors. *Circ. Res* **64**, 949-956.

Rossi MA & Zucoloto S (1982). Ultrastructural changes in nutritional cardiomyopathy of protein-calorie malnourished rats. *Br J Exp Pathol* **63**(3), 242-253.

Samarel, AM, Parmacek MS, Magid NM, Decker RS & Lesch M (1987). Protein synthesis and degradation during starvation-induced cardiac atrophy in rabbits. *Circ. Res* **60**,933-941.

Saraiva LR, Brindeiro Filho D & Nora AD (1992). O coração na criança portadora de desnutrição calórico-proteica. *Arq Bras Cardiol* **58** (5), 345-351.

Sesso R, Barreto GP, Neves J & Sawaya AL (2004). Malnutrition is associated with increase blood pressure in childhood. *Nephron. Clin. Pract.* **97**, c61- c66.

Schreiber SS, Evans CD, Oratz M & Rothschild MA (1981). Protein synthesis and degradation in cardiac stress. *Circ Res* **48**, 601-611.

Shetty P (2006). Malnutrition and Undernutrition. *Medicine* **34** (12), 524-529.

Shizukuda Y, Buttrick PM, Geenen DL, Borczuk AC, Kitsis RN & Sonnenblick EH (1998). β -Adrenergic stimulation causes cardiocyte apoptosis: influence of tachycardia and hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **275**, 961-968.

Sugizaki MM, Carvalho RF, Aragon FF, Padovani CR, Okoshi K, Okoshi MP, Zanati SG, Pai-Silva MD, Novelli ELB & Cicogna AC (2005). Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to morphological damage in normotensive middle-aged rats. *J Biomed Sci* **12**, 641–649.

Talner NS (1990). Cardiac changes in the malnourished child *Nestlé Nutrition*. **10**, 229-244.

Teodósio NR, Lago ES, Romani A S & Guedes RC (1990). A regional basic diet from northeast Brazil as dietary model of experimental malnutrition. *Ach. Latinoam. Nutr* **40**(4), 533-547.

Tonkiss J, Trzcinska M, Galler JR, Ruiz-Opazo N & Herrera VLM (1998). Prenatal Malnutrition-Induced Changes in Blood Pressure : Dissociation of Stress and Nonstress Responses Using Radiotelemetry. *Hypertension* **32**, 108-114.

Tropia FC, Cardoso MI, Pedrosa ME, Silva AS, Haibara MF, Moraes MFD & Chianca Jr DA (2001). Effects of Low-Protein Diet on the Baroreflex and Bezold-Jarisch Reflex in Conscious Rats. *Nutr Neurosci* **4**, 99-107.

Via P (1977). Hemodynamic findings in severe protein-calorie malnutrition. *Am J Clin Nutr* **30**, 334-348.

Vijayakumar M, Fall CHD, Osmond C & Barker DJP (1995). Birth weight, weight at one year, and left ventricular mass in adult life. *Br Heart j* **73**, 363-367.

Webb JG, Kiess MC & Chan-Yan CC (1986). Malnutrition and the heart. *CMAJ* **135**, 753-758.

Wykes LJ, Fiorotto M, Burrin DG, Del Rosário M, Frazer ME Pond WG & Jahoor F (1996). Chronic low protein intake reduces tissue protein Synthesis in a Pig Model of protein malnutrition. *J.Nutr.* **126**, 1481-1488.

Young JB, Kaufman LN & Saville ME, Landsberg,L (1985). Increased sympathetic nervous system activity in rats fed a low-protein diet. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **248**, R627-R637.

FIGURES AND LEGENDS

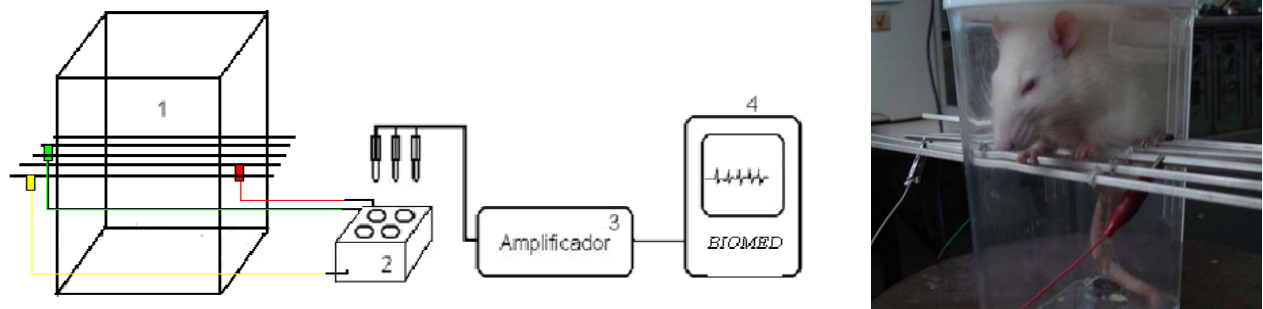


Figure 1– (Left) Schema of the model of recording of the Electrocardiogram (ECG) of the rat. (1) represents the acrylic chamber with the electrodes for signal pick up, (2) electrode commutator, (3) amplifier and (4) BioMed system. Source: Colugnati *et al.* (2005) modified. (Right) Position of the animal in the system of containment during the recording of the ECG.

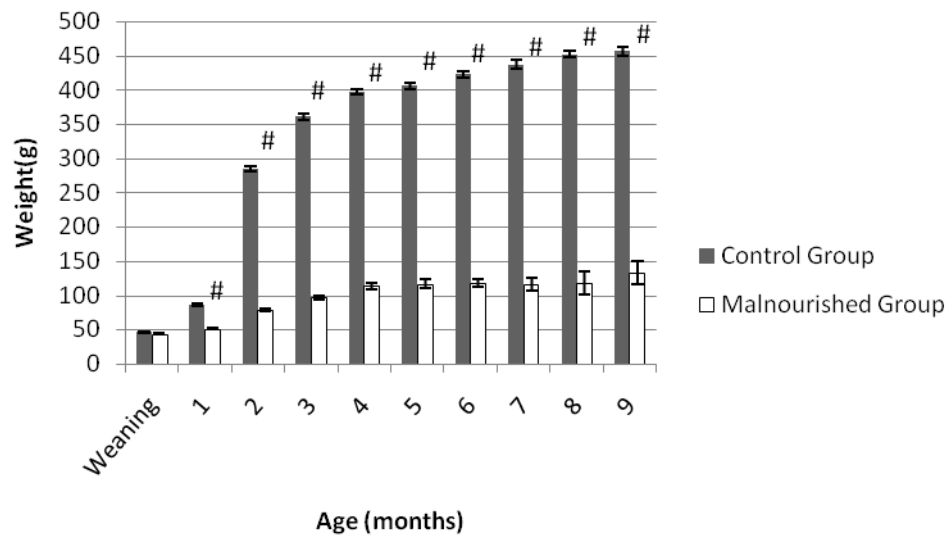


Figure 2 - Evolution of weight gain of Control Group and Malnourished Group with age. Values are $X \pm \text{SEM}$, $p < 0.001$. # vs. 3 (n=32), 4 (n=24), 5 (n=24), 6 (n=16), 7 (n=16), 8 (n=8) and 9 (n=8) months ($p < 0.05$, Student's t-test)

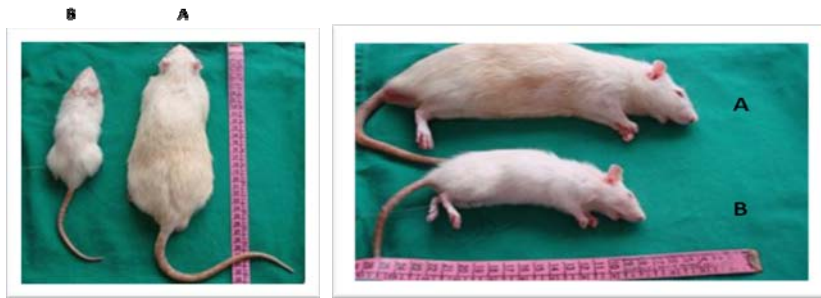


Figure 3 - Bodily aspect of Control (A) and Malnourished rats (B), at 9 months of age.

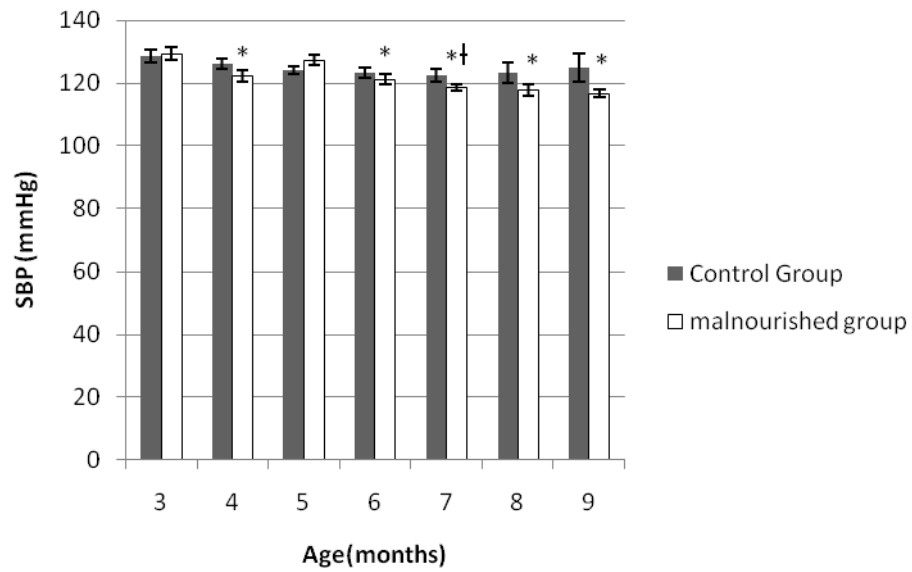


Figure 4- Evolution of Systolic Blood Pressure (SBP) with age in Control Group and Malnourished Group. The values are $\bar{X} \pm \text{SEM}$. $p < 0.05$ * vs. 3 (n=32) months, $\square$ vs. 5 (n=24) months, (one-way ANOVA in accordance with Tukey test), Control Group and Malnourished: 3 (n=32), 4 (n=24), 5 (n=24), 6 (n=16), 7 (n=16), 8 (n=8) and 9 (n=8) months

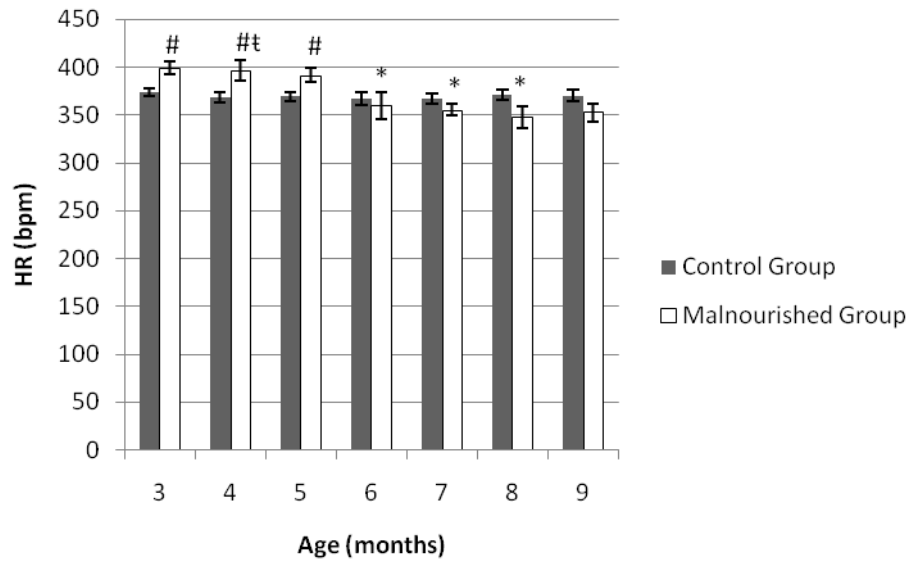


Figure 5- Evolution of Heart Rate (HR) with age in Control Group (n=32) and Malnourished Group (n=32). The values are $X \pm \text{SEM}$. $p < 0.05$, * vs. 3 months, $\square$ vs. 5 months, $\dagger$ vs. 7 months (one-way ANOVA in accordance with Tukey test), $\#$ vs. 3, 4, 5, 6, 7, 8 and 9 (n=8) months (Student's t-test). Control Group and Malnourished: 3 (n=32), 4 (n=24), 5 (n=24), 6 (n=16), 7(n=16), 8 (n=8) months and 9 months (n=8) e (n=07), respectively.

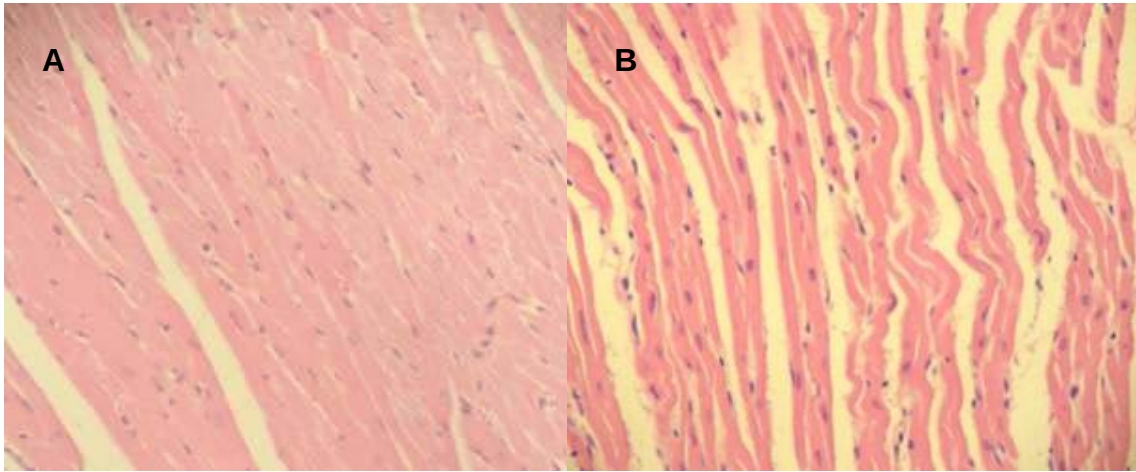


Figure 6 - Photomicrography of the myocardium of the rat. A – Control Group B – Malnourished Group. Age of 3 months (Magnification 100x, H.E).

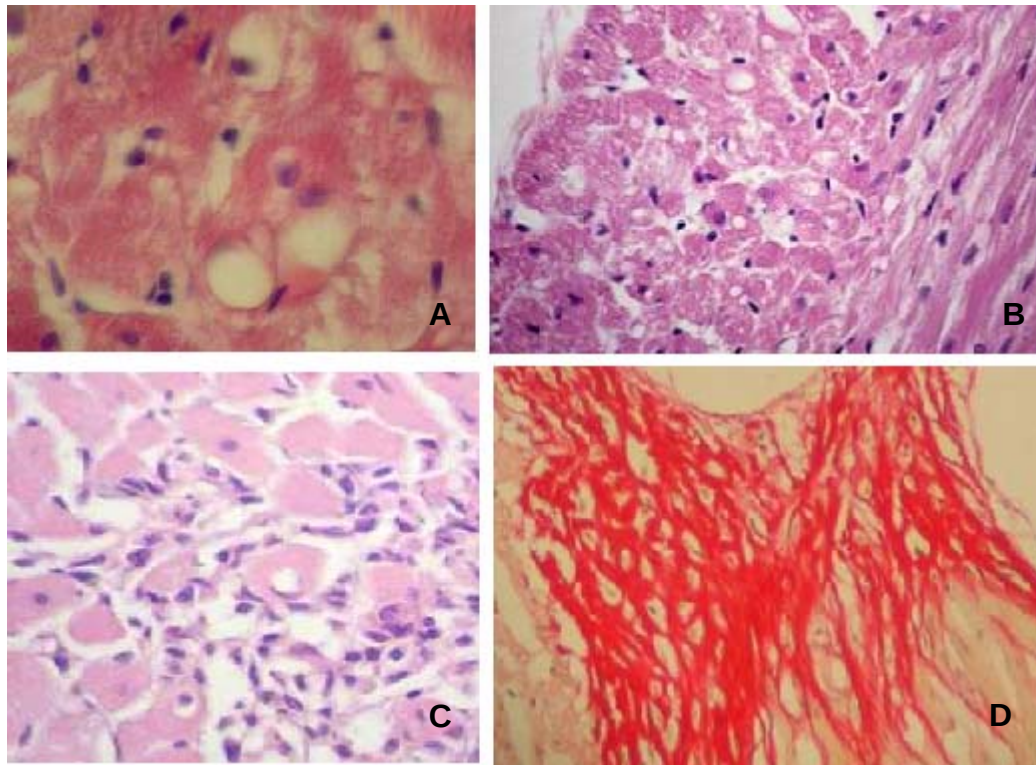


Figure 7. Photomicrography of the myocardium of rats of the Malnourished Group, at the age of 3 months. (A) myolysis showing cells with picnotic nuclei, degeneration of the cardiac fibers and apoptotic cells (Magnification 400x, H.E). (B) Areas of necrosis (Magnification 400x, H.E). (C) Inflammatory infiltrate (Magnification 400x, H.E). (D) Areas of interstitial fibrosis (Magnification 100x, Picrosirius red).

TABLES

Table 1. Diet composition (g/g%).

	LABINA	Multideficient
Protein	20,5	8,59
Carbohydrates	56,35	81,52
Lipids	6,18	1,72
Vitamin supplement	Yes	No
Sodium	0,110	0,109
Ash	7,09	1,68
Kcal	363,02	375,00

According to the Laboratório Experimental de Análise de Alimentos (LEAAL), of Departamento de Nutrição of the Universidade Federal de Pernambuco.

Table 2 – Baseline cardiac autonomic modulation of the Heart Rate during the 3rd, 5th, 7th and 9th months, in Control Group (CG) and Malnourished Group (MG).

Groups Ranges	CG	MG
$LF_{R-R} ms^2$ AGE (months) 3 5 7 9	0.32±0.04 (n=4) 0.49±0.05* (n=5) 0.65±0.03* □ (n=5) 0.85±0.04* □ ‡ (n=5)	0.51±0.01 # (n=4) 0.70±0.01 ## (n=8) 0.91±0.02 #* □ (n=7) 0.34±0.04 #* □ ‡ (n=6)
$LF_{R-R} un$ AGE (months) 3 5 7 9	18.7±2.5 28.1±1.5 39.9±2.0* □ 59.7±2.15* □ ‡	32.8±0.2# 41.4±1.5# 52.8±1.2##* □ 53.5±3.6* □
$HF_{R-R} ms^2$ AGE (months) 3 5 7 9	1.39±0.14 1.30±0.09 0.99±0.05* 0.60±0.06* □ ‡	1.04±0.03 1.01±0.06# 0.82±0.04##* □ 0.29±0.03##* □ ‡
$HF_{R-R} un$ AGE (months) 3 5 7 9	81.3±2.5 71.9±1.5 60.1±2.0* □ 40.3±2.15* □ ‡	67.2±0.2 # 58.6±1.5 # 47.2±1.2 ##* □ 46.5±3.6* □ ‡
LF/HF AGE (months) 3 5 7 9	0.23 ±0.04 0.38±0.03 0.67±0.06* 1.5±0.13* □ ‡	0.49 ±0.00 # 0.71±0.04 # 1.13±0.05 #* □ 1.15±0.19* □

LF: Low Frequency; HF: High Frequency; R-R: Cardiac Interval; un: normalized unit; ms²: millisecond squared. * vs. 3 months, □ vs. 5 months, ‡ vs. 7 months (one-way ANOVA in accordance with Tukey test); # vs. 3rd, 5th, 7th, and 9th months (Student's t-test) (p<0.05).

Table 3 - Ratio between ventricular wet weight/body weight (vwW/bW) and ventricle dry weight/ventricle wet weight (vdW/vwW) in Control Group (CG) and Malnourished Group (MG).

Age (months)	CG (n=3)		MG (n=3)	
	vwW/bWx100	vdW/vwW	vwW/bWx100	vdW/vwW
3	0.244±0.0247	0.228±0.0038	0.318±0.0053#	0.227±0.0045
5	0.202±0.0127	0.212±0.0034	0.387±0.0345#	0.198±0.0042
7	0.202±0.0070	0.212±0.0024	0.347±0.0047#	0.204±0.0032
9	0.243±0.0167	0.2141±0.006	0.327±0.0093#	0.200±0.0071

p<0.05 versus CG (Student's t-test)

4. CONCLUSÕES

Comparado com ratos normonutridos, o modelo de desnutrição protéica, induzida em ratos Wistar, durante seu desenvolvimento, isto é, do desmame até os nove meses de idade:

- causou severa redução no peso corporal, em todas as idades estudadas;
- embora não tenha apresentado níveis de PAS diferentes entre os grupos, mostrou redução, nesta variável, em relação à idade;
- apresentou FC maior nas idades de três, quatro e cinco meses e redução nos demais meses;
- demonstrou alterações autonômicas, caracterizadas por aumento na atividade simpática cardíaca, a partir do terceiro mês;
- embora tenha preservado morfollogicamente os ventrículos, promoveu alterações histológicas nestes, caracterizadas por células em apoptose, necrose, e sinais de processo inflamatório e de reparo (tecido fibroblástico e deposição irregular de colágeno), a partir do terceiro mês, que mimetizam a ICC;
- pode servir como modelo para estudo dos mecanismos moleculares de ICC, em função dos achados histo-fisiológicos encontrados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSELROD, S.; GORDON, D. MADWED, J.B.; SNIDMAN, N.C.; SHANNON, D.C.; COHEN, R.J. Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. **Am J Physiol**, v.249, n.4, p.H867- H875, 1985.

ARRUDA, B.K.G.; ARRUDA I.K.G.; Marcos referenciais da trajetória das políticas de alimentação e nutrição no Brasil. **Rev Bras Saúde Matern Infant**, v.7, n.3, p.319-326, 2007.

BARKER,D.J.P. In utero programming of chronic disease. **Clin Sci**, v.95, p. 115–128, 1998.

BARKER, D.J.P. The Developmental Origins of Adult Disease. **J Am Coll Nutr**, v.23, n.6, p.588S–595S, 2004.

BATISTA-FILHO, M.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cad. Saúde Pública**, v.19, sup.1, p.S181-S191, 2003.

BELL, K.M.; SLOTKIN,T.A. Postnatal nutritional status influences development of cardiac adrenergic receptor binding sites. **Brain Res Bull**, v.21, n.6, p.893-896, 1988.

BENABE,J.E.; FERNANDEZ-REPOLLET, E.; TAPIA, E.; LUO, C.; MARTINEZ-MALDONADO, M. Angiotensin II and catecholamines interaction in short-term low protein feeding. **Kidney Int**, v.44, p.285—293, 1993.

CASTIGLIA, P.T. Protein-Energy Malnutrition (Kwashiorkor and Marasmus). **J of Pediat Health Care**, v.10, p.28-30, 1996.

CASTRO, J. **A Geografia da Fome: O dilema brasileiro: pão ou aço**. 9 ed. São Paulo: Ed Brasiliense, 1965.

CASTRO, J. **O livro Negro da Fome**. 3 ed. São Paulo: Ed. Brasiliense, 1968.

CERUTTI,S.; BIANCHI, A.M.;MAINARDI, L.T. Spectral Analysis of heart Rate Variability Signal. In: MALIK,M. & CAMM, A.J. **Heart Rate Variability**. New York: Futura Publishing Company, 1995.

CICOGNA, A.C.; PADOVANI, C.R.; GEORGETTE, J.C.; ARAGON, M.H.; OKOSHI, M. P.; Efeito da restrição proteica-calórica sobre a função mecânica dos músculos cardíacos hipertrofiados. **Arq Bras Cardiol**, v.72, n.4, p. 431-435, 1999.

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. **Am J Med Sci**, v.320, n.4, p.244-248, 2000.

COLUGNATI, D.B.; GOMES, P.A. P.; ARIDA, R. M.; ALBUQUERQUE, M.; CYSNEIROS, R. M.; CAVALHEIRO, E.A.; SCORZA F.A.; Avaliação de parâmetros cardíacos em animais com epilepsia. **Arq Neuropsiquiatr**, v.63, n.4, p.1035-1041, 2005.

CUNHA, D. F.; PEDRINI, C.H.; SOUSA, J.C.; REIS, M.A.; RAMOS, S. G.; CUNHA, S. F. C.; TEIXEIRA, V. P. A.; Estudo Morfométrico do Miocárdio em Adultos com Subnutrição Protéico Energética. **Arq Bras Cardiol**, v.71, n. 5, p. 677-680, 1998.

DA SILVA, A.T.; COSTA, F.B.R.; COSTA, J.A.; TEODÓSIO, N.R.; CABRAL-FILHO, J.E.; GUEDES, R.C.A. Sciatic nerve conduction velocity of malnourished rats fed the human "Basic Regional Diet" of the northeast of Brazil. **Braz J Med Bio Res**, 20: 383-392, 1987.

DE ANGELIS, K.; SANTOS, M.S.B.; IRIGOYEN, M.C. Sistema Nervoso Autônomo e Doença Cardiovascular. **Rev Soc De Card Do Rio Grande do Sul**, v.XIII, n.3, p.1-7, 2004.

DESPRÉS, G.; VEISSIER, I.; BOISSY, A. Effect of Autonomic Blockers on Heart Period Variability in Calves: Evaluation of the Sympatho-Vagal Balance. **Physiol Res**, v.51, p.347-353, 2002.

DROTT, C.; EKMAN, L.; HOLM, S.; WALDENSTROM, A.; LUNDHOLM, K. Effects of tumor-load and malnutrition on myocardial function in the isolated working rat heart. **J Mol Cell Cardiol**, v.18, n.11, p.1165-1176, 1986.

EICKMANN, S. H; LIMA, A.C.V.; GUERRA, M.Q.; LIMA, M.C.; LIRA, P.I.C.; HUTTLY, S.R.A.; ASHWORTH, A. Improved cognitive and motor development in a community-based intervention of psychosocial stimulation in Northeast Brazil. **Dev Méd Child Neurol**, v. 45, p. 536-541, 2003

FALCÃO, E.P.; SANT'HELENA, B.R.M.; NOGUEIRA, A.S.P.N., CERQUEIRA TV, PESSÔA CRV, BEZERRA DS, OLIVEIRA HST, DUARTE DPF, COSTA CJEDP

(2008).Método não invasivo para registro do eletrocardiograma em ratos não anestesiados.RESUMO: Anais da III Reunião Regional da FeSBE , Fortaleza, 2008.

FIDÉLIS, C.M.F.; OSÓRIO, M.M. Consumo alimentar de macro e micronutrientes de crianças menores de cinco anos no Estado de Pernambuco, Brasil. **Rev Bras Saúde Matern Infant**, v.7, n.1,p.63-74, 2007.

FIORETTO, J.R.; QUEIROZ, S.S.; PADOVANI, C.R.; MATSUBARA, L.S.; OKOSHI, K.; MATSUBARA, B.B. Ventricular remodeling and diastolic myocardial dysfunction in rats submitted to protein-calorie malnutrition. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.282, p.H1327–H1333, 2002.

FORTUÑO, M.A.; RAVASSA, S.; FORTUÑO,A.; ZALBA, G.; DÍEZ, J. Cardiomyocyte Apoptotic Cell Death in Arterial Hypertension: Mechanisms and Potential Management. **Hypertension**, v.38, p.1406-1412, 2001.

FORTUÑO, M.A.; GONZALEZ, A.; RAVASSA, S.; LÓPEZ, B.; DÍEZ, J. Clinical implications of apoptosis in hypertensive heart disease. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.284, p.H1495-H1506, 2003.

GALINIER, M.; PATHAK, A.; FOURCADE, J.; ANDRODIAS, C.; CURNIER, D.; VARNOUS, S.; BOVEDA, S.; MASSABUAU, P.; FAUVEL, M.; SENARD, J.M.; BOUNHOURE, J.P. Depressed low frequency power of heart rate variability as an independent predictor of sudden death in chronic heart failure **Eur Heart J**, v.21, n.6, p.474-482, 2000.

HILDERMAN,T.; MCKNIGHT, K.; DHALLA, K.S.; RUPP,.; DHALLA, N.S. Effects of long-term dietary restriction on cardiovascular function and plasma catecholamines in the rat. **Cardiovasc Drugs Ther**,v.10,n.1,p. 247-250,1996.

IRIGOYEN, M.C.; MOREIRA, E.D.; WERNER, A.; IDA, F.; PIRES, M.D.; CESTARI, I.A.; KRIEGER, E.M. Aging and baroreflex controlo f RSNA and heart rate in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, n.279, p.R1865-R1871,2000.

JANICKI, J. S. Myocardial Collagen remodeling and left ventricular diastolic function. **Braz J Med Biol Res**, v. 25, p. 975-982, 1992.

KANG, M.P.;IZUMO, S.Apoptosis and Heart Failure: A Critical Review of the Literature. **Circ Res**, v.86, p.1107-1113, 2000.

KAUFMAN, L.N.; YOUNG, J.B.; LANDSBERG, L. Effect of Protein on Sympathetic Nervous System Activity in the Rat: Evidence for Nutrient-specific Responses. **J Clin Invest**, v.77,p.551-558, 1986.

KELLEY, G.R.; HERLIHY, J.T. Food restriction alters the age-related decline in cardiac β -adrenergic responsiveness. **Mech Ageing Dev**,v.103, n.1,p.1-12, 1998.

KLEBANOV, S.; HERLIHY, J.T.; FREEMAN, G.L. Effect of long-term restriction on cardiac mechanics. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.273,p. 2333-2342, 1997.

KLEIGER, R.E.; STEIN, P.K.; BOSNER, M.S.; ROTTMAN, J.N.; Time-Domain Measurements of Heart Rate Variability. In: MALIK,M. & CAMM, A.J. **Heart Rate Variability**. New York: Futura Publishing Company, 1995.

KOTHARI, S.S.; PATEL, T.M.; SHETALWAD, A.N. PATEL, T.K. Left ventricular mass and function in children with severe protein energy malnutrition. **Int J Cardiol**, v.35, n.1,p.19-25, 1992.

LAGO,E. S. TEODÓSIO, N.R.; PESSOA, D.C.N.; CABRAL FILHO,J.E. Duración de la vida en ratas desnutridas, utilizando dieta básica del Nordeste Brasileño. **Ach Latinoam Nutr**, v.47,n.4, p.338-42,1997.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, L. F.L.; FIGUEIREDO, A.F.; DUARTE, G.P. Pressor Responsiveness to Intravenous Quinpirole is Blunted in Malnourished, Conscious Rats: Central vs. Peripheral and Spinal Mechanisms.**J Cardiovasc Pharmacol**, v.44, n.1,p.16-25,2004.

LANGLEY-EVANS, S.C.; JACKSON, A A; Increased Systolic blood pressure in adults rats induced by fetal exposure to maternal low protein diet. **Clin Sci**, v.86,p.217-222, 1994.

LA ROVERE M.T.; PINNA, G.D.; MAESTRI, R.; MORTARA, A.; CAPOMOLLA, S.; FEBBO, O.; FERRARI, R.; FRANCHINI, M.; GNEMMI, M.; OPASICH, C.; RICCARDI, P.G.; TRAVERSI, E.; COBELLI, F. Short-Term Heart Rate Variability Strongly Predicts Sudden Cardiac Death in Chronic Heart Failure Patients. **Circulation**, v.107, p.565-570, 2003.

LIPSITZ, L.A.; MIETUS, J.; MOODY, G.B.; GOLDBERGER, A.L.; Spectral Characteristics of Heart Rate Variability Before and During Postural Tilt: Relations to Aging and Risk of Syncope. **Circulation**, v.81,p.1803-1810, 1990.

LUCAS, A; Programming by early nutrition: an experimental approach. **J Nutr**, v.128, n.2,p.401-406s, 1998.

MAISCH, B.; RISTIC, A.D.; HUFNAGEL, G.; FUNCK, R. ALTER, P.; TONTSCH, D.; PAKUWEIT, S. Dilated Cardiomyopathies as a Cause of Congestive Heart Failure. **Herz**, v.27, p.113–134, 2002.

MALLIANI, A.; PAGANI, M.; LOMBARDI, F.; CERUTTI, S. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. **Circulation**, v.84, p.482-492, 1991.

MANN, D.L. Mechanisms and Models in Heart Failure: A Combinatorial Approach. **Circulation**, V.100, p.999-1008, 1999.

MASON, J.B.; ROSENBERG, I.H. Desnutrição Proteíco-Calórica. In: KURT, I.J.; EUGENE, B.; WILSON, J.D.; MARTIN,J.B.; FAUCI, A.S.; KASPES, D.L. Harrison Medicina Interna. Vol1. 13 ed. Rio de Janeiro: Mc Grau-Hill, 1995.

MENEZES, R.C.E.; OSÓRIO, M.M. Consumo energético-protéico e estado nutricional de crianças menores de cinco anos, no estado de Pernambuco, Brasil. **Rev Nutr**, v.20, n.4, p.337-347, 2007.

MICHELINI, L.C. Regulação da pressão arterial: mecanismo neuro-humorais. In: AIRES, M.M. Fisiologia.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2003) *Política nacional de alimentação e nutrição*. 2. ed. rev. Ed. Brasília: Ministério da Saúde.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Saúde no Brasil: Contribuições para a Agenda de Prioridades de Pesquisa. 1 ed. Ed Brasília: Ministério da Saúde. 2004.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual de atendimento da criança com desnutrição grave em nível hospitalar.1ed. Ed Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

MONTE, C.M.G. Desnutrição: um desafio secular à nutrição infantil. **J Pediatr**, v.76, Supl.3, p. S285-S297, 2000.

MORGANE, P.J.; MOKLER, D.J.; GALLER, J.R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev**, v.26, p.471–483,2002.

NARKIEWICZ, K.; PHILLIPS, B.G.; KATO, M.; HERING, D.; BIENIASZEWSKI, L.; SOMERS, V.K. Gender-Selective Interaction Between Aging, Blood Pressure, and Sympathetic Nerve Activity. **Hypertension**, v.45, p.522-525, 2005.

NEGRÃO, C.E.; RONDON, M.U.P.B.; TINUCCI, T.; ALVES, M.J.N.; ROVEDA, F.; BRAGA, A.M.W.; REIS, S.F.; NASTARI, L.; BARRETO, A.C.P.; KRIEGER, E.M.; MIDDLEKAUFF, H.R. Abnormal neurovascular control during exercise is linked to heart failure severity. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 280, p. H1286-H1292, 2001.

NOTARIUS, C.F.; FLORAS, J.S. Limitations of the use of spectral analysis of heart rate variability for the estimation of cardiac sympathetic activity in heart failure *Europace* v.3, p. 29–38, 2001.

NUTTER, D.O.; MURRAY, T.G.; HEYMSFIELD, S.B.; FULLER, E.O. The effect of chronic protein-calorie undernutrition in the rat on myocardial function and cardiac function. **Circ Res**, v.45, p.144-152, 1979.

OKOSHI, K.; FIORETTO, M.P.; OKOSHI, M.P.; CICOONA, A.C.; ARAGON, F.F.; MATSUBARA, L.S.; MATSUBARA, B.B. Food restriction induces in vivo ventricular dysfunction in spontaneously hypertensive rats without impairment of in vitro myocardial contractility. **Braz J Med Bio Res**, v.37, n.4, p.607-613, 2004.

OKOSHI, M.P.; OKOSHI, K. DAL PAI, V.; DAL PAI-SILVA, M.; MATSUBARA, S.; CICOONA, A.C. Mechanical, biochemical, and morphological changes in the heart from chronic food-restricted rats. **Can J Physiol Pharmacol**, v. 79, n.9, p. 754–760, 2001.

OLIVARES, J.L.; VÁZQUEZ, M.; RODRIGUES, G.; SAMPER, P.; JESUS, F. Eletrocardiographic and Echocardiographic Findings in Malnourished Children. **J Am Coll Nutr**, v. 24, n.1, p.38-43, 2005.

OLIVEIRA, E.L.; CARDOSO, L.M.; PEDROSA, M.L.; SILVA, M.E.; DUNN, 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**, v.7, n.4, p. 201-205, 2004.

PAGANI M, LOMBARDI F, GUZZETI S, RIMOLDI O, FURLAN R, PIZZINELLI P, SANDRONE G, Malfatto G, DELL'ORTO S, PICCALUGA E, TURIEL M, BASELLI G, CERUTTI S, MALLIANI A. Power spectral analysis of heart rate and

arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. **Circ Res**, v.59, p.178-193,1986.

PAGANI, M.; MALLIANI, A. Power spectral analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. **Circulation**,v.90, p.1826-1831,1994.

PAIXÃO, A.D.O.; ALÉSSIO, M.L.M.; MARTINS, J.P.C.; LÉGER, C.L.; MONNIER, L.; PARÉS-HERBUTÉ. Regional Brazilian diet-induced pre-natal malnutrition in rats is correlated with the proliferation of cultured vascular smooth muscle cells. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**, v.15, p.302-309, 2005.

PAIXÃO, A .D.O.; MACIEL,C.R.; TELES, M.B.B.; SILVA, J.F. Regional Brazilian Diet-induced low birth weights is correlated with changes in renal hemodynamics an glomerular morphometry in adult age. **Biol Neonate**, v.80, p.239-246, 2001.

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 Sci**, v.81, p.609–614, 2007.

PESSOA,D.C.N.P.;LAGO,E.S.;BION,F.M.;ANTUNES,N.L.M.;VARELA,R.M;TEODÓSI O,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**, v.30, p.31-52, 2005.

PISSAIA, O; ROSSI, M.A;OLIVEIRA,J.S.M.; The hearth in protein-calorie malnutrition in rats: Morphological, Eletrophysiological and Biochemical changes. **J Nutr**, v.110, n.10, p 2035-44, 1980.

PONS-LLADO, G.; BALLESTER, M.; BORRA’S, X.; CARRERAS,F; CARRIO,I.; LOPEZ-CONTRERAS, J.; ROCA-CUSACHS, A.; MARRUGAT,J.; NARULA,J. Myocardial Cell Damage in Human Hypertension. **JACC**, v.36, n.7, p.2198-2204, 2000.

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 Bras Ed Fís Esp**, v.18, n.01, p.7-16, 2004.

RANSNAS, L.; DROTT, C.; LUNDHOLM, K.; HJALMARSON A.; JACOBSSON, B. Effects of malnutrition on rat myocardial beta-adrenergic and muscarinic receptors. **Circ Res**, v.64, p.949-956, 1989.

ROSSI, M.A.; ZUCOLOTO, S. Ultrastructural changes in nutritional cardiomyopathy of protein-calorie malnourished rats. **Br J Exp Pathol**, v.63, n.3, p.242-253, 1982.

SAMAREL, A.M.; PARMACEK, M.S.; MAGID, N.M.; DECKER, R.S.; LESCH, M. Protein synthesis and degradation during starvation-induced cardiac atrophy in rabbits. **Circ Res**, v.60, p.933-941, 1987.

SARAIVA, L.R.; BRINDEIRO FILHO, D.; NORA, A.D. O coração na criança portadora de desnutrição calórico-proteíca. **Arq Bras Cardiol**, v.58, n.5, p.345-351, 1992.

SERAPIÃO, C.J. Repercussões Morfológicas da desnutrição protéico calórica. In: NÓBREGA, F.J. **Desnutrição: Intra-uterina e pós-natal**. 2ªed. Panamed, 1986.

SESSO, R.; BARRETO, G.P.; NEVES, J.; SAWAYA, A.L. Malnutrition is associated with increase blood pressure in childhood. **Nephron Clin Pract**, v.97, p.c61- c66, 2004.

SCHREIBER, S.S.; EVANS, C.D.; ORATZ, M.; ROTHCHILD, M.A.; Protein synthesis and degradation in cardiac stress. **Circ Res**, v.48, p.601-611, 1981.

SHETTY, P. Malnutrition and Undernutrition. **Medicine**, v.34, n.12, p.524-529, 2006.

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. **J Biomed Sci**, v.12, p.641-649, 2005.

SZTAJZEL, J. Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. **Swiss Med Wkly**, n.134, p.514-522, 2004.

TALNER, N.S.; Cardiac changes in the malnourished child. **Nestlé Nutrition**, v.10, p.229-244, 1990.

TASK FORCE of The European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology: Heart rate variability Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. **Eur Heart J**, v.17, p.354-381, 1996.

TEODÓSIO, N.R; LAGO, E.S; ROMANI, A .S; GUEDES,R.C. A regional basic diet from northeast Brazil as dietary model of experimental malnutrition. **Ach Latinoam Nutr**, v.40, n.4, p.533-547,1990.

TONKISS, J.; TRZCINSKA, M.; GALLER, J.R.; RUIZ-OPAZO, N.;HERRERA, V.L.M. Prenatal Malnutrition-Induced Changes in Blood Pressure : Dissociation of Stress and Nonstress Responses Using Radiotelemetry. **Hypertension**, v.32, p.108-114, 1998.

TOSCANO, A.E.; AMORIM, M.A.F.; CARVALHO FILHO, E.V.; ARAGÃO,R. S.; CABRAL-FILHO, J.E.; MORAES,S.R.A.; MANHAES-DE-CASTRO,R. Do malnutrition and fluoxetine neonatal treatment program alterations in heart morphology?. **Life Sci**, v.82, n.21-22, p.1131-1136, 2008.

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. **Nutr Neurosci**,v.4, p.99-107, 2001.

VIART,P. Hemodynamic findings in severe protein-calorie malnutrition. **Am J Clin Nutr**, v.30, p.334-348, 1977.

VIJAYAKUMAR,M.; FALL,C.H.D.;OSMOND,C.;BARKER, D.J.P. Birth weight, weight at one year, and left ventricular mass in adult life. **Br Heart j**,v.73, p.363-367, 1995.

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

WOODS, L.L.; INGELFINGER, J.R. RASCH, R. Modest maternal protein restriction fails to program adult hypertension in female rats. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.289, p.1131-1136, 2005.

WYKES, L.J.; FIOROTTO, M.; BURRIN, D.G.;DEL ROSÁRIO,M.; FRAZER, M.E.; POND,W.G.; JAHOOOR, F.; Chronic low protein intake reduces tissue protein Synthesis in a Pig Modelo f protein malnutrition. **J Nutr**, v.126, p.1481-1488, 1996.

YOUNG, J.B.; KAUFMAN, L.N.; SAVILLE, M.E.; LANDSBERG,L. Increased sympathetic nervous system activity in rats fed a low-protein diet. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.248, p.R627-R637, 1985.

ANEXOS

ANEXO A - Frequência cardíaca (FC) e Pressão Arterial Sistólica (PAS) em ratos normonutridos (GN) e Desnutridos (GD) em diferentes idades.

Grupos	GN		GD	
Idade (meses)	PAS (mmHg)	FC (bpm)	PAS (mmHg)	FC (bpm)
3	128.6±1.89 (n=32)	373.3±4.06(n=32)	129.5±2.17(n=32)	399.1±7.1(n=32)#
4	126.2±1.51(n=24)	368.4±5.95(n=24)	122.2±1.84(n=24)*	396.5±10.38(n=24)# †
5	124.0±1.35(n=24)	368.8±4.24(n=24)	127.2±1.6(n=24)	391.2±7.34(n=24)#
6	123.4±1.35(n=16)	366.9±6.23(n=16)	121.3±1.61(n=16)*	360.2±14.08(n=16)*
7	122.5±1.96(n=16)	366.8±5.17(n=16)	118.5±0.95(n=16)* □	355.1±5.91(n=16)*
8	123.4±3.28(n=08)	371.4±5.22(n=08)	117.8±1.8(n=08)*	347.6±11.18(n=08)*
9	125.0±4.54(n=08)	370.1±5.83(n=08)	116.7±1.1(n=08)*	352.7±9.23(n=07)

Valores são X±EPM. p<0,05, * vs. 3 meses, □ vs. 5 meses, † vs. 7 meses (ANOVA one-way de acordo com test Tukey), # vs. 3, 4, 5, 6, 7,8 e 9 meses (Test t Student).

ANEXO B - Trabalhos apresentados na III Reunião Regional da FeSBE, Fortaleza-CE, 2008.

11.002 - MÉTODO NÃO INVASIVO PARA REGISTRO DO ELETROCARDIOGRAMA EM RATOS NÃO ANESTESIADOS ¹Falcão, E. P. ; ²Sant'Helena, B. da R. M. ; ³Nogueira, A. S. P. N. ; ⁴Cerqueira, T. V. ; ⁵Pessoa, C. R. da V. ; ⁶Bezerra, D. S. ; ⁷Oliveira, H. S. T. de ; ⁸Duarte, D. P. F. ; ⁹Costa, C. J. E. das D. P. da ; ^{1,6}Departamento de Fisiologia e Farmacologia, CCB - UFPE.

Objetivos

O registro do Eletrocardiograma (ECG) em ratos não anestesiados exige, devido a sua movimentação, a implantação de eletrodos que, além de induzir estresse e alterar a Frequência Cardíaca (FC), pode reduzir sua sobrevivência, limitando a coleta do ECG a longo prazo. O objetivo deste foi desenvolver um método não invasivo para registro do ECG em ratos em repouso e não anestesiados.

Métodos e resultados

Ratos Wistar machos (n=20, 3 meses) não anestesiados foram mantidos em uma caixa de polietileno padronizada, com as quatro patas apoiadas no assoalho através de hastes de prata, que funcionavam como os eletrodos. O ECG foi captado, amplificado, registrado e filtrado (frequências: passa alta 1Hz, passa baixa 70 Hz, e rejeitando 60, 180 e 300Hz) pelo sistema BioMed® (João Pessoa – PB). Esperou-se cerca de 5 minutos, para adaptação do animal à caixa e procedeu-se a coleta do ECG, em DII. Foram considerados, para análise, no mínimo, 20 ciclos consecutivos. A FC foi medida pelo intervalo RR (RRi). A duração da onda P, do complexo QRS, do segmento PR (PRs), e do intervalo QT (QTi), foi determinada.

A FC média ($X \pm DP$) obtida foi $356,81 \pm 34,76$ bpm (n= 20); a duração média da onda P foi $25,83 \pm 4,78$ ms; do complexo QRS $44,28 \pm 6,46$ ms; do PRs $16,60 \pm 5,55$ ms, e do QTi $59,06 \pm 13,60$ ms. Esses resultados foram similares aos obtidos por autores com métodos invasivos.

Conclusões

O método forneceu um sinal eletrocardiográfico de boa qualidade que permitiu a análise dos componentes do ECG de ratos em repouso e não anestesiados. Além disso, por ser de baixo custo e não traumático abre a possibilidade para coleta do ECG, em um mesmo animal, por períodos prolongados, permitindo acompanhar a evolução dos sinais deste parâmetro em animais, durante seu desenvolvimento.

Apoio Financeiro:
CNPq

11.004 - NÍVEIS DE PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO POR DIETA MULTIDEFICIENTE. ¹Cerqueira, T. V. ; ²Falcão, E. P. ; ³Pessoa, C. R. da V. ; ⁴Sant'Helena, B. da R. M. ; ⁵Oliveira, H. S. T. de ; ⁶Bezerra, D. S. ; ⁷Nogueira, A. S. P. N. ; ⁸Costa, C. J. E. das D. P. da ; ⁹Duarte, D. P. F. ; ^{2,6} Departamento de Fisiologia e Farmacologia, CCB - UFPE.

Objetivos

As alterações cardiovasculares (CV) induzidas pela desnutrição intrauterina são bem estabelecidas. As repercussões CV da má nutrição, após o nascimento, não tem sido elucidadas. O objetivo deste foi avaliar os níveis da Pressão Arterial Média (PAM) e da Frequência Cardíaca (FC) em ratos *Wistar*, nascidos de mães normonutridas, submetidos à desnutrição, pós-desmame, por uma dieta multideficiente – Dieta Básica Regional (DBR, teor proteico 7,3%) mantida até os 6 meses.

Métodos e Resultados

A PAM foi medida em ratos machos não anestesiados, idades 3, 4, 5 e 6 meses, através do plestimógrafo de cauda (Modelo IITC 31, Woodland Hills, CA - USA) e *software* WINDAQ. Dois grupos (G) foram estudados normonutridos (GN), dieta Labina® (teor proteico 23%), e desnutridos, com a DBR (GD) após pesagem semanal. Medidas (3/ rato) das PA Sistólica (PAS), Diastólica e da PAM foram obtidas com o sensor de PA, previamente calibrado, colocado na cauda após aquecimento (37°C, 5min) do animal. Os níveis de PAM não diferiram com a idade (GN, $p>0,05$, ANOVA, e GD $p>0,05$, ANOVA), nem em relação aos grupos (GD *versus* GN, $p>0,05$, *t* não pareado). No 6º mês a FC apresentou níveis mais elevados no GD em relação ao GN ($*p<0,05$, *t* não pareado).

GRUPO	PAM (mmHg) Idade (meses)				FC (bpm) Idade (meses)			
	3	4	5	6	3	4	5	6
GN (n=20)	119,2±3,4	112,7± 4,5	103,5±3,8	114,3±5,3	389,9±11,5	378,9± 10	370,70± 5,6	374,4±6,7
GD (n=18)	114,5± 3,6	117,5± 4,1	105,4±2,7	105,9±3,7	390,7± 7,6	370,02±9,7	383,7± 8,9	400,7±12,1

Conclusões

A DBR não alterou os níveis de PAM, no entanto, os níveis da FC aumentaram no 6º mês. Esses resultados sugerem que com o envelhecimento a desnutrição leva a alterações autonômicas no coração.

Apoio Financeiro: CNPq