UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

Desnutrição e exercício físico no início da vida: Estudo de alguns parâmetros cardiovasculares em ratos adultos.

Francine Iane Gomes de Sá

ORIENTADOR: Prof. Dr. Carlos José Eduardo das Dores Peres da Costa

Recife – 2011

FRANCINE IANE GOMES DE SÁ

Desnutrição e exercício físico no início da vida: Estudo de alguns parâmetros cardiovasculares em ratos adultos.

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

Orientador: Carlos José Eduardo das Dores Peres da Costa.

Recife

2011

Sá, Francine Iane Gomes de

Desnutrição e exercício físico no início da vida: estudos de alguns parâmetros cardiovasculares em ratos adultos / Francine Iane Gomes de Sá. – Recife: O Autor, 2011.

58 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Carlos José Eduardo das Dores Peres da Costa.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Bioquímica e Fisiologia, 2011.

Inclui bibliografia.

1. Desnutrição fetal 2. Ratos 3. Treinamento físico I. Título.

571 CDD (22.ed.) UFPE/CCB-2011-168

Ata da defesa de dissertação da mestranda **Francine Iane Gomes de Sá,** realizada em 24 de fevereiro de 2011, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Às 14:00 horas, do dia 24 de fevereiro de 2011, foi aberto no Sala de Aula 1 do Depto. de Fisiologia e Farmacologia/CCB/UFPE, o ato de defesa de dissertação da mestranda **Francine Iane Gomes de Sá**, aluna do Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia/CCB/UFPE. Iniciando os trabalhos a Profª Drª Gloria Isilina Boente Pinto Duarte, Vice coordenadora do Programa, fez a apresentação da aluna e da Banca Examinadora composta pelos professores doutores: Carlos José Eduardo das Dores Peres da Costa, na qualidade de Presidente, Ana Durce Oliveira da Paixão, Fabiano Elias Xavier, ambos do Depto. de Fisiologia e Farmacologia/CCB/UFPE e Maria do Socorro Brasileiro Santos, do Depto. de Educação Física da UFPB. Após as apresentações, o Sr. Presidente convidou a aluna para a apresentação de sua dissertação intitulada: **"Desnutrição e exercício físico no início da vida: estudo de alguns parâmetros cardiovasculares em ratos adultos"**, e informou que de acordo com o Regimento Interno do Programa, o candidato dispõe de até 50 (cinqüenta) minutos para apresentação do trabalho e o tempo de argüição para cada examinador, juntamente com o tempo gasto pelo aluno para responder às perguntas será de 30 (trinta) minutos. A aluna procedeu a explanação e comentários acerca do tema em 40 (quarenta) minutos. Após a apresentação da mestranda, o Sr. Presidente convidou a Banca Examinadora para ocupar seus lugares e passou a palavra para a Profa. Dra. Maria do Socorro Brasileiro Santos, que agradeceu ao convite, fez alguns comentários, deu algumas sugestões e iniciou sua argüição. Ao final, a referida professora deu-se por satisfeita. Daí o Sr. Presidente passou a palavra para o Profº Fabiano Elias Xavier, que agradeceu ao convite, fez alguns comentários, deu algumas sugestões e iniciou sua argüição. Ao final, o referido professor deu-se por satisfeito. Em seguida, o Sr. Presidente passou a palavra para a Profa. Dra. Ana Durce Oliveira da Paixão, que agradeceu ao convite, fez alguns comentários, deu algumas sugestões e iniciou sua argüição. Ao final, a referida professora deu-se por satisfeito. Continuando os trabalhos, o Sr. Presidente na qualidade de orientador, usou da palavra para tecer alguns comentários a respeito do trabalho da aluna, agradeceu a colaboração da Banca Examinadora. Finalmente a sessão foi suspensa para o julgamento pela Banca Examinadora. Após alguns comentários, a Banca decidiu, por unanimidade, "aprovar" com a exigência da candidata incorporar na sua dissertação as sugestões dadas pela Banca num prazo de 60 (sessenta) dias, para fazer jus a declaração. Nada mais havendo a tratar, lavrei a presente ata que vai assinada por mim, Djalma Gomes da Silva - Secretário, e demais membros da Banca Examinadora. Recife, 24 de fevereiro de 2011.

Fabiano Elias Xavier

Ana Durce O. Paixão

Maria do Socorro Brasileiro Santos

Carlos José Eduardo da Costa

*Dedico essa vitória à **Deus**, pela dádiva da vida*
*e aos **meus pais** por me tornarem quem eu sou.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Carlos José Eduardo das Dores Peres da Costa pela oportunidade, confiança e paciência. Muito obrigado por ter aberto as portas do seu laboratório no momento em que mais ninguém o fez. Obrigado também pela ajuda nos momentos difíceis que enfrentei com a minha família nesse tempo. Seu apoio foi fundamental para que eu pudesse continuar minha jornada. Saiba que foi uma honra trabalhar com o senhor e tê-lo como meu orientador.

À profª Dênia Palmeira Fittipaldi Duarte pela ajuda nos momentos mais difíceis deste trabalho. Sua compreensão, paciência, carinho e dedicação como professora e pessoa é um exemplo a ser seguido.

À profª Ana Durce Oliveira da Paixão pelas valiosas sugestões, ensinamentos e pela amizade.

Ao Prof. Dalton Valentim Vassalo por ter me orientado em Vitória/ES e por ter aberto as portas do seu laboratório para que eu pudesse fazer meus experimentos.

À profª Alessandra Padilha pelos conhecimentos transmitidos na minha estadia em Vitória/ES e pela ajuda nos resultados.

Ao Prof. Eduardo Garcia que gentilmente se dispôs a me receber em seu laboratório e pelos ensinamentos para a aquisição dos dados de pressão arterial.

Ao Prof. Nicodemos Teles pelos ensinamentos na área de patologia e pela amizade.

Aos Professores do Departamento de Fisiologia e Bioquímica pelos ensinamentos, em especial à Profª Belmira Lara e à Profª Ângela Amancio.

À Profª Carol Leandro pela disponibilidade, conhecimentos e pelo excelente suporte técnico.

A aluna de Iniciação Científica, Tarciana Maria pela ajuda no treinamento dos animais, coleta dos dados e pela amizade.

Aos estagiários do laboratório João Eduardo, Dante Ytsan, Rafaela, Donato e Andrei pela ajuda na coleta dos dados, pela amizade e pelos momentos de descontração.

A colega de laboratório Cristina Belchior pela troca de conhecimentos e ajuda em Vitória/ES.

Aos amigos do mestrado pela amizade e pelos momentos de alegria, em especial: Fernanda Alves, Henriqueta, Rafaela Barreto, Fabiana Tito, Leucio Duarte e Edjair Cabral.

Aos meus amigos e grandes companheiros Patrícia Lopes, Flávia Valéria, Marília Coriolano, Laíse Carvalho, Rafael Machado, Priscila Pinto e André Machado que sempre estiveram comigo e, mesmo quando a distância era grande, tiveram paciência e sempre uma palavra amiga quando o sufoco apertava. É um privilégio ter a amizade de vocês.

Aos alunos do Laboratório de Eletromecânica Cardíaca que gentilmente dispuseram do seu tempo para me ajudar nos meus experimentos. Muito Obrigada!!!

Aos amigos que Vitória/ES trouxe: Rogério Faustino e Janaína. Definitivamente, com vocês enfrentei com mais leveza as dificuldades.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia: Edvaldo, Djalma, Nielson, Heleno, Jackson, Valdo e a médica veterinária Claudia.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

Ao Professor Fabiano Elias, pelos conselhos e conhecimentos transmitidos na área de reatividade vascular, pelas palavras de apoio e amizade, além da ajuda inestimável nos momentos finais deste trabalho.

À Caíque Fonseca, pela ajuda nos momentos finais. Você ficará para sempre guardado em meu coração.

Aos meus ratinhos, que através de suas vidas contribuíram para a realização deste trabalho.

Palavras faltam para agradecer aos meus pais. Obrigada pelo carinho, amor, e, sobretudo, por todo o apoio. Mais que tudo isso, obrigada por compreenderem e suportarem a ausência e as dificuldades, sempre me cercando de conforto e coragem.

A Deus, por todas as graças e bênçãos que tenho recebido ao longo da minha vida.

“Aquele que tiver fé fará as obras que eu faço e fará obras maiores ainda do que essas”

Jo. 14,12.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO: PHYSICAL EXERCISE REPERCUTES POSITIVELY ON CARDIOVASCULAR FUNCTION OF RATS SUBMITTED TO PERINATAL UNDERNUTRITION.

Table 1: Composition of diets (g/g%) 41

Table 2: Training protocol for exercise groups 42

Table 3: RRi and HR values of all groups 43

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO: PHYSICAL EXERCISE REPERCUTES POSITIVELY ON CARDIOVASCULAR FUNCTION OF RATS SUBMITTED TO PERINATAL UNDERNUTRITION.

Figure 1: Body Weight of Standard and Undernutrition Groups during lactation (A) and exercise training period (B) Values are expressed as mean ± SEM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni test. *****p<0,05 compared with Standard groups (A) or NC (B); +p<0,05 compared with EU; at the same time. 44

Figure 2: Systolic Blood Pressure (mmHg) measured after exercise training period (14th wk). Data expressed as mean ± SEM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni test; *****p <0.05 for all other groups. 45

Figure 3: Concentration-effect curves for Phenyleprine in aortic rings from NC (○), EC (□) (A), and NU (●), EU (■) (B). The responses are expressed as percentage of contraction relative to the contractions induced by KCl (75 mM). Each point represents the mean ± SEM. ***** p<0.05 for EU versus NU. 46

Figure 4: (A-D) Concentration-effect curves for phenylephrine in aortic rings with or without endothelium from NC (A, n=8), NU (B, n=9), EC (C, n=11), and EU (D, n=11). The responses are expressed as percentage of contraction relative to the contractions induced by KCl (75 mM). Each point represents the mean ± SEM, *p<0.05 for E+ versus E-. (E) Percentage of Area Under Curve (dAUC %) from concentration-effect curves of all groups.; #p<0.05 for EU E+ x E- versus NU E+ x E-. 47

Figure 5: (A-D) Concentration-effect curves for phenylephrine in aortic rings before and after incubation with L-NAME (LNA, 100mM) from NC (A, n=8), NU (B, n=9), EC (C, n=11), and EU (D, n=11). The responses are expressed as percentage of contraction relative to the contractions induced by KCl (75 mM). Each point represents the mean ± SEM. *p<0.05 for before versus after incubation with L-NAME. (E) Percentage of Area Under Curve (dAUC %) from concentration-effect curves of all groups. #p<0.05 for EU versus NU. 48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO **13**

Desnutrição:

1.1 Conceitos e classificação

1.2 Alterações cardiovasculares

1.3 Exercício Físico

2. OBJETIVOS **27**

2.1. Objetivo Geral

2.2. Objetivos Específicos

3. ARTIGO A SER SUBMETIDO AO PERIÓDICO *International Journal of Sports Medicine (IJSM)* **28**

3.1 Introdução

3.2 Material e Métodos

3.3 Resultados

3.4 Discussão

4. CONCLUSÕES **49**

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **50**

ANEXOS **58**

RESUMO

A desnutrição nas fases iniciais da vida afeta o desenvolvimento fetal. Além disso, a disfunção endotelial resultante pode causar aumento na susceptibilidade a doenças cardiovasculares na vida adulta. O treinamento físico aumenta a produção de óxido nítrico e, portanto, melhora a função endotelial. Foram utilizados ratos submetidos à desnutrição durante o período perinatal, investigamos: (i) a influência da reatividade da aorta torácica nos níveis de pressão arterial, e (ii) a influência do exercício aeróbico sobre esses parâmetros. Ratas Wistar foram alimentados com uma dieta padrão ou multideficiente durante a gestação e aleitamento. A prole masculina foi submetida a treinamento aeróbio moderado (VOMAX 70%) durante 8 semanas. No final do período de treinamento, foi avaliada a pressão arterial sistólica, freqüência cardíaca e reatividade vascular. A desnutrição no período perinatal aumentou os níveis da pressão arterial em 19 mmHg ($p < 0,05$). O treinamento físico reverteu este efeito. As aortas de animais desnutridos submetidos a treinamento físico apresentaram menor reatividade vascular à fenilefrina ($p < 0,05$), maior reatividade à FE na ausência do endotélio, e maior capacidade de resposta à FE na presença de L-NAME (um inibidor de NO sintase). A hipertensão arterial causada pela desnutrição perinatal pode ser revertida pelo treinamento físico aeróbio, através de um aumento na produção de NO endotelial.

Palavras-chave: Desnutrição perinatal, Hipertensão, Endotélio, Treinamento Físico

ABSTRACT

Malnutrition during the initial stages of life affects fetal development. Moreover, the resultant endothelial dysfunction may cause susceptibility to cardiovascular disorders during adulthood. Exercise training increases the production of nitric oxide (NO) and thus improves endothelial function. Using rats subjected to malnutrition during the perinatal period, we investigated: (i) the influence of thoracic aorta reactivity on blood pressure levels; and (ii) the influence of aerobic exercise on these parameters. Female Wistar rats were fed a standard or multideficient diet during mating, pregnancy and lactation. Male offspring underwent moderate aerobic training (VO_{MAX} 70%) for 8 weeks. At the end of the training period, we evaluated the systolic blood pressure, heart rate, and vascular reactivity. Malnutrition during the perinatal period increased the blood pressure levels by 19 mmHg ($p < 0.05$). Exercise training reversed this effect. The aortas of malnourished animals subjected to physical training showed lower ($p < 0.05$) reactivity to phenylephrine (PHE), higher reactivity to PHE in the absence of endothelium, and greater responsiveness to PHE in the presence of L-NAME (an inhibitor of NO synthase). It appears that the hypertension caused by perinatal malnutrition can be reversed by aerobic exercise, through an increase in endothelial NO production.

Key-words: perinatal undernutrition, Hypertension, endothelium, Physical Training.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Desnutrição: Conceitos e Classificação

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a desnutrição caracteriza-se por um desequilíbrio celular entre o aporte nutricional e a demanda necessária para a manutenção das atividades basais e o crescimento corporal, freqüentemente acontece devido à pobreza. Fatores fisiológicos, elementos políticos, sociais, econômicos e culturais estão envolvidos. Apesar de estar sendo combatida há vários anos, a desnutrição ainda persiste e mostra não responder às tentativas de erradicação pelas políticas públicas (De onis e cols., 1993; OMS, 1999).

O estado nutricional é definido por alguns indicadores antropométricos que verificam o crescimento e, indiretamente, o estado nutricional (Hoffman, 1995). O desenvolvimento e a manutenção das dimensões corporais apropriadas necessitam de condições viáveis, principalmente em relação à ingestão e utilização biológica de calorias e proteínas pelo corpo. De modo geral, a má nutrição deve ser considerada em todo o seu contexto e não apenas com enfoque na desnutrição energético-protéica, isto é, aquela decorrente da carência de calorias e proteínas por falta exclusiva de alimento. O conceito de má-nutrição se refere a todos os desvios no *status* nutricional em relação ao adequado e ótimo. O organismo desnutrido se torna mais susceptível a doenças, como infecções e problemas crônicos, tais como, doenças cardíacas de origem congênita, fibrose cística, falência renal crônica e doenças neuromusculares (Grover e Ee., 2009).

Estudos descrevendo a prevalência de desnutrição são bastante conflitantes e possuem prevalências bastante distintas. Acredita-se que isto ocorre devido à falta de critérios médicos padronizados para a classificação da desnutrição (Joosten e Hulst., 2010), além da dificuldade em caracterizar e classificar a totalidade de síndromes relacionadas à desnutrição e ainda, correlacionar o diagnóstico clínico com medidas antropométricas adequadas para o crescimento infantil (Das e cols., 2009). Em todo mundo, cerca de 50% da totalidade de mortes infantis acontece em decorrência da desnutrição (Pelletier e cols., 2003). Em crianças hospitalizadas na França, Estados Unidos

e Reino Unido, a desnutrição grave variou entre 6 e 14%, enquanto que na Alemanha 1,7% dos pacientes encontravam-se gravemente malnutridos. No Brasil representavam cerca de 10% da população estudada (Hendricks e cols., 1995; Marteletti e cols., 2005; Moy e cols., 1990; Pawellek e cols., 2008; Waitzberg e cols., 2001).

Quando se analisou 53 países através de 28 estudos epidemiológicos, observou-se que o risco de mortalidade era de 8,4% para as crianças que se encontram em estado de desnutrição severa, 4,6% e 2,5% para desnutrição moderada e leve, respectivamente. Além disso, de 16 a 80% da mortalidade infantil esteve relacionada à desnutrição, mesmo aquela considerada leve ou moderada é responsável por 46-80% da mortalidade na população estudada (Pelletier e cols.,1993).

Com relação à idade, o maior risco de desnutrição foi observado em crianças com menos de um ano em um estudo na Alemanha. Cerca de 30% encontravam-se com quadro de desnutrição leve instalada, 14,3% moderada e 7,1% desnutrição severa. Nos pacientes desnutridos, 42,8% possuíam esclerose múltipla, 40% retardo mental, 34% doenças infecciosas e 33% fibrose cística (Pawellek e cols., 2007).

No Brasil, inquéritos recentes revelam uma elevada freqüência de baixa estatura e reduzido peso corporal, características antropométricas indicativas da ocorrência da desnutrição em diferentes estágios dos períodos iniciais do ciclo vital (Monte, 2000; Acunã e Cruz, 2004). No semi-árido brasileiro crianças com menos de dois anos de idade são muito susceptíveis à desnutrição em 484 municípios (34,3% do total de 1.444), e mais de 10% das crianças nessa faixa etária encontram-se com quadro de desnutrição instalado (UNICEF, 2005). Na região sudeste, 4000 pacientes com menos de 18 anos, internados em hospitais públicos foram analisados. Destes, 48,1% estavam desnutridos, sendo 12,5% com quadro de desnutrição severa instalada e apenas 7,3% do total de pacientes possuíam algum tipo de acompanhamento nutricional (Waitzberg e cols., 2001).

A desnutrição energético-protéica é causada por uma dieta cuja quantidade de aminoácidos e calorias é insuficiente. Esta desnutrição por carência de energia (calorias) e proteínas é a forma mais letal de má nutrição e tem um papel significativo em pelo menos metade das 10,4 milhões de mortes

anuais de crianças nos países em desenvolvimento (OPAS/OMS, 2000). A desnutrição energético-protéica lesa uma em cada quatro crianças em todo o mundo, destas, 150 milhões (26,7%) possuem baixo peso ao nascer e 182 milhões (32,5%) possuem o desenvolvimento atrasado. Geograficamente, 70% das crianças com carências energetico-protéicas vivem na Ásia (principalmente no oeste asiático), 26% na África e 4% na América Latina e Caribe (UNICEF, 1998).

A desnutrição energético-protéica freqüentemente provoca dois tipos de síndromes clínicas: *marasmus* e Kwashiorkor. Freqüentemente, também se pode encontrar crianças que apresentam características das duas síndromes ao mesmo tempo. Kwashiorkor geralmente ocorre em crianças que estão na idade escolar, e resulta da ingestão de uma dieta pobre em proteína, mas que contém uma quantidade razoável de calorias e, geralmente ocorre concomitante a infecções. Seu quadro clínico caracteriza-se por peso próximo ao normal para a idade, edema generalizado, dermatoses, cabelo despigmentado, distensão abdominal e hepatomegalia. Deficiências nos níveis de potássio sérico, hipoalbuminemia e perda excessiva de eletrólitos pelos rins estão envolvidos na patogênese do edema. Crianças com Kwashiorkor são mais propensas a desenvolver complicações metabólicas, insuficiência cardíaca e possui concentrações mais elevadas de biomarcadores para estresse oxidativo, bem como, menor concentração de antioxidantes no sangue, do que aquelas que apresentam apenas marasmus (Grover e Ee., 2009; Manary e cols., 2000; Ndekha., 2008).

O *marasmus* é caracterizado por depleção nos estoques de gordura subcutânea, perda muscular e ausência de edema, sintomas que acontecem em conseqüência à adaptação fisiológica do organismo à fome por conta da privação severa de calorias e nutrientes. Essa criança encontra-se com bradicardia, hipotensão e hipotermia, por esta razão é letárgica e fraca. A pele é seca, enrugada e frouxa devido à perda de gordura subcutânea. Normalmente, a perda de massa muscular começa na axila e na virilha, em seguida, na coxa e nas nádegas, seguido pelo tórax e abdômen e, finalmente, os músculos faciais, que são metabolicamente menos ativos (Grover e Ee., 2009).

Crianças desnutridas possuem maior inclinação a se tornarem adultos de baixa estatura, desenvolver menor desempenho educacional, acarretando fracasso escolar e também *status* econômico menor na idade adulta (Victora e cols., 2008). A carência de um micronutriente, como o ferro, entorpece a resposta imunitária, reduzindo a capacidade bactericida dos fagócitos e há indícios de alterações em outros aspectos da imunidade celular e humoral, do ganho ponderal, do crescimento, assim como anemias (Neiva e cols., 1999; Arruda e Arruda, 1994).

Alterações na nutrição e no estado endócrino durante os períodos embrionário, fetal e neonatal também podem desencadear respostas adaptativas no desenvolvimento, provocando mudanças estruturais permanentes, o que predispõe o individuo a doenças cardiovasculares, metabólicas e endócrinas na vida adulta (Barker, 1993a).

1.2 Desnutrição: Alterações Cardiovasculares

Programação fetal é um termo proposto por Barker que define o processo através do qual as alterações na qualidade ou quantidade dos alimentos ingeridos durante a gestação resultam em alterações permanentes na estrutura, fisiologia e metabolismo da prole (Barker, 2000). A nutrição materna é fator determinante para o crescimento do feto, podendo causar alterações no genoma fetal, e assim trazer conseqüências na vida adulta. Estudos epidemiológicos demonstram que existe uma correlação entre baixo peso ao nascer e o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, endócrinas e metabólicas ao longo da vida (Payne e Wu, 2001).

Estudos pioneiros mostram que o período compreendido a partir da nona semana de gestação é caracterizado por intensa divisão celular, por isso chamado comumente de “período crítico” (Widdowson e McCance, 1975) e cada tecido responde de forma particular, apresentando seu próprio relógio biológico. O desenvolvimento destes tecidos depende de nutrientes e oxigênio e, a principal adaptação fetal a sua ausência é diminuir a taxa metabólica, especialmente dos que se encontram na fase de maior divisão celular. A desnutrição, por sua vez, ocasiona um adiamento nesta divisão celular, de

forma direta ou indireta, através da ação diferenciada de hormônios (Barker, 1995).

Alguns modelos de estudo, utilizando várias formas de desnutrição são encontrados na literatura. Um desses modelos de desnutrição é o de manipulação do percentual de dieta que é fornecida ao animal, podendo variar de 30 a 70% da ingestão diária do consumo normal do animal controle utilizado no mesmo estudo (Woodall e cols., 1996; Bayol e cols., 2004). Os resultados demonstram que a restrição de 30% na dieta causou hipertensão arterial na vida adulta além de atraso no crescimento (Woodall e cols., 1996). Bayol e cols., (2004) também observaram uma diminuição no crescimento da prole de mães alimentadas com 40% da ingestão diária do consumo normal dos animais do grupo controle, os quais receberam dieta padrão. Já em outros estudos, usando outro modelo de desnutrição, aumenta-se o número de filhotes por ninhada durante a amamentação, levando à diminuição de leite materno disponível para cada animal (Bell & Slotkin, 1988).

Além desses modelos, encontramos ainda o modelo que utiliza a oferta de dieta normoprotéica (18% de proteína) ou dieta hipoproteica (8% de proteína) durante diferentes períodos do desenvolvimento, podendo ser oferecido durante a gestação, lactação e/ou pós-desmame. Quando o período reservado a desnutrição acaba, toda a prole volta à dieta normoprotéica. (Bennis-Taled e cols., 1999; Snoeck e cols., 1990). A prole de matrizes submetidas à dieta pobre em proteína exibe ao longo da vida muitas alterações em nível metabólico, tais como pressão arterial elevada na vida adulta, numero reduzido de glomérulos, elevação nos níveis de catecolaminas, entre outros. (Passos e cols., 2000).

TABELA 1 – Alguns modelos experimentais de desnutrição com rato

Modelo Proposto	**Autores**
- Desnutrição intra-uterina:	
9,0% de caseína;	- Kawamura e cols., 2007
Restrição alimentar	- Franco e cols., 2002;
	- Franco e cols., 2007
Dieta básica Regional.	-Vieira-Filho e cols., 2009
- Desnutrição durante os períodos de gestação e lactação:	
Restrição alimentar na ingestão diária	- Kawamura e cols., 2007
- Desnutrição durante o aleitamento:	
Aumento do numero de filhotes;	- Velkoska e cols., 2008
Desnutrição da fêmea nutriz.	- Sherman e Langley-Evans, 1998
- Desnutrição nos períodos de acasalamento e intra-uterino:	
Dieta Básica Regional	- Monteiro e cols., 2001
- Desnutrição na lactação e no pós-desmame:	
Restrição alimentar na ingestão diária.	- Woodall e cols.,1996
	- Bayol e cols., 2004
- Desnutrição em gerações sucessivas:	-Paixão e cols., 2005

No nosso estudo, o modelo de desnutrição materno-fetal utilizado foi desenvolvido a partir de uma enquete alimentar feita na zona da mata do estado de Pernambuco, chamada de a Dieta Básica Regional (DBR). A DBR é deficiente em proteínas, lipídeos, vitaminas e minerais, sendo preparada à base de feijão mulatinho, farinha de mandioca, batata doce e carne de charque, isto é, possui os mesmos constituintes alimentares consumidos por comunidades carentes no Nordeste do Brasil (Teodósio e cols., 1990).

Ratos submetidos à DBR apresentam atraso na maturação e na evolução da atividade motora, configurando um efeito nocivo para o desenvolvimento somático e à maturação do sistema nervoso. As ingestões de DBR por longos períodos acarretam elevação da pressão arterial e da freqüência cardíaca, aumento do tônus simpático, redução do tônus vagal cardíaco, aumento dos níveis plasmáticos do colesterol total, LDL, bem como alterações locomotoras (Barros e cols., 2006; Urbano, 2006).

Lago e cols., (1997), em um estudo acerca da duração do tempo de vida de ratas desnutridas e utilizando a DBR, observaram uma redução na curva de crescimento e uma duração de vida menor nos animais desnutridos quando comparados aos normonutridos, porém a curva de crescimento manteve-se similar para ambos os sexos. Pessoa e cols., (2000), estudaram em 159 ratos, em três gerações sucessivas, os efeitos cumulativos do consumo da DBR sobre o crescimento corporal e o desenvolvimento dos órgãos e observaram diminuição acentuada da curva ponderal, do ganho do peso, do comprimento da cauda e do consumo alimentar. Outros estudos também foram realizados utilizando o modelo DBR tais como: desnutrição intra-uterina induzida por DBR e modificações na hemodinâmica renal e morfometria glomerular decorrentes deste tipo de desnutrição (Paixão e cols., 2001); efeito do exercício físico sobre o crescimento corporal e desenvolvimento de órgãos em ratos jovens desnutridos (Prazeres e cols., 2004), entre outros.

A sensibilidade barorreflexa e a pressão sangüínea de animais desnutridos pela DBR foram analisadas. Os animais foram desnutridos durante o período de acasalamento e gestação (grupo 1) e durante a lactação e 10 dias posteriores ao desmame. A sensibilidade barorreflexa manteve-se inalterada nos animais do grupo 1 quando comparados ao controle, porém os animais do grupo 2 apresentaram propensão à elevação no reflexo de taquicardia e diminuição no peso corporal (Monteiro e cols., 2001). Entretanto, Sant'Helena (2009) observou níveis de Pressão Arterial Sistólica (PAS), normais e redução da Freqüência Cardíaca (FC) em ratos alimentados cronicamente com DBR. Ainda em relação à diminuição do peso corporal, Paixão e cols., (2005) observaram que ratos machos apresentavam menor peso em relação aos animais mantidos em dieta padrão, o mesmo fato foi observado em fêmeas desnutridas.

Quando a DBR foi utilizada durante a gestação, Vieira-Filho e cols., (2009) observaram uma correlação entre desnutrição intra-utero, aumento do estresse oxidativo placentário, atividade anormal de transportadores renal de Na^+ e alterações na sinalização da Angiotensina II na prole, o que poderia contribuir mais tarde na programação de distúrbios na mobilização renal de Na^+ e no controle da PA como conseqüências específicas do crescimento intra-uterino prejudicado no animal adulto.

Em animais, também, a desnutrição protéica crônica, imposta a várias gerações, resultou em alterações irreversíveis na musculatura esquelética que se propagam à geração seguinte (Oliveira e cols., 1999). Acarretam, além disso, uma baixa resistência vascular renal, fluxo de sangue renal elevado, alterações no desempenho reprodutivo, com alterações também durante a gestação e a lactação (Pessoa e cols., 2000; Paixão e cols., 2001). Em alguns sistemas as alterações são revertidas com a recuperação nutricional, enquanto em outros, estas alterações são irreversíveis (Hoy e Cols., 1999; Magalhães e cols., 2006; Mastorci e cols., 2009).

A desnutrição intra-utero desencadeia uma série de alterações em órgãos-chave como os rins, coração e cérebro, os quais geralmente exibem mudanças funcionais e na sua estrutura. Mesmo pequenas variações no *status* nutricional materno já são capazes de acarretar alterações significativas na programação fetal, visto que esta plasticidade nos órgãos e tecidos mudará a forma como estes responderão ao ambiente na vida adulta. Esse período de intensa plasticidade é particularmente importante, pois são fases críticas do desenvolvimento (Langley-Evans., 2008). Um indivíduo submetido a estas condições se torna mais susceptível a doenças cardiovasculares e a seus fatores de risco, como: obesidade, hipertensão e diabetes, interferindo na sua qualidade de vida e longevidade. Até hoje os mecanismos biológicos da programação ainda não foram completamente explicados. Estudos investigam como ocorrem as possíveis adaptações epigenéticas do fenômeno (Langley-Evans, 2001; Singhal e cols., 2004, Armitage e cols., 2004; Neu, 2007).

Uma série de estudos de coorte feitos com humanos, em Hertfordshire, Inglaterra (Barker e cols., 1989; Barker e cols., 1990; Barker e cols., 1993; Hales e cols., 1991) apresentam correlações epidemiológicas entre baixo peso ao nascer e o risco de doenças cardiovasculares na vida adulta. Indivíduos que

nasceram com baixo peso entre 1911 e 1933, exibiram maiores índices de morte por doença isquêmica cardíaca e elevados índices de hipertensão arterial.

A desnutrição protéica intra-utero causa redução no número de néfrons da prole adulta (Woods e cols., 2004; Langley-Evans e cols., 1999; Vehashari e cols., 2001), indicando que a desnutrição materna poderia acelerar o declínio da função renal na vida adulta, o que contribuiria para o desenvolvimento de hipertensão arterial (Brenner e Cherton, 1993). No cérebro, o resultado da dieta pobre em proteína reduz a densidade dos capilares encontrados no córtex cerebral (Bennis-Taleb e cols., 1999) e a densidade de neurônios relacionados com o apetite (Plagemann e cols., 2000).

As alterações estruturais decorrentes da desnutrição materna no coração da prole adulta ainda não estão completamente elucidadas, ainda que a prole de matrizes expostas à desnutrição protéica durante a gestação apresente o coração com o tamanho reduzido. Saraiva e cols (1992) realizaram um estudo eletrocardiográfico em crianças oriundas de regiões pobres da cidade do Recife e da Zona da Mata de Pernambuco que sofriam com desnutrição calórico-proteíca, e demonstraram que 95% apresentavam modificações na repolarização ventricular e baixa voltagem do QRS no plano frontal e o estudo ecocardiográfico demonstrou diminuição da massa estimada para o ventrículo esquerdo.

A prole de mães desnutridas apresentam, nas duas primeiras semanas de vida, uma fração de ejeção significativamente menor e, um evento que parece estar associado ao aumento da apoptose dos cardiomiócitos. Essa queda foi posteriormente recuperada na 40° semana d e vida. Em relação ao diâmetro interno da parede do ventrículo esquerdo, a avaliação da espessura revelou, inicialmente, o afinamento da parede seguido por um espessamento progressivo. Este remodelamento poderá vir a se tornar um componente para disfunções cardiacas na vida adulta. (Cheema e cols., 2005; Tappia e cols., 2005). Corroborando estes resultados, estudos realizados em nosso laboratório com ratos desnutridos durante toda a vida, mostraram alterações histológicas nos ventrículos, caracterizadas por células em apoptose, necrose, e sinais de processos inflamatórios, alterações semelhantes àquelas observadas na insuficiência cardíaca congestiva (Sant'Helena, 2008).

Com relação ao sistema vascular, a prole de matrizes submetidas à desnutrição intra-útero através de restrição alimentar cuja diminuição na oferta da dieta foi de 50%, apresenta um significante remodelamento vascular com enrijecimento dos vasos sanguíneos, diminuição da angiogênese, aumento da resistência vascular periférica e alterações na estrutura de vasos de condutância e de resistência (Khorran e cols., 2007). Estes resultados sugerem, portanto, que a desnutrição fetal ativa mecanismos para o desenvolvimento do remodelamento cardíaco e vascular na vida adulta, em combinação com efeitos do aumento da pressão arterial (Kawamura e cols., 2007). Diversos estudos correlacionam tais alterações relativas à desnutrição com a disfunção endotelial.

O endotélio não atua apenas como uma barreira celular, ele desempenha diversas e importantes funções que garantem a homeostase do sistema vascular. O endotélio na conservação do fluxo sanguíneo laminar, preserva a fluidez do sangue, e inibe a proliferação e a migração celular. Além disso, modula funções, como inflamação, coagulação e controle de fluxo sangüíneo local. Através do balanço entre a liberação de substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras, o endotélio exerce ainda importante função na manutenção do tônus vascular (Furchgott e cols., 1983).

O Oxido nítrico (NO) é talvez o mais importante fator de origem endotelial. Ele desempenha importante papel em praticamente todas as funções celulares no organismo. O NO é sintetizado a partir do aminoácido L-arginina e do O_2 pela atuação da enzima NO sintase (NOS), existente sob 3 isoformas: a neuronal ou nNOS (Tipo I) encontrada em tecidos neuronais; a induzível ou iNOS (tipo II), a qual foi originalmente identificada como sendo induzida por citocinas inflamatórias e lipossacarídeos; e a endotelial ou eNOS (tipo III) localizada no endotélio vascular. Cada isoforma é codificada por diferentes genes e possuem propriedades moleculares, catalíticas e imunológiocas diferentes (Wu e cols., 2002). A síntese do óxido nítrico depende ainda de outros co-fatores, dentre eles a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (forma reduzida – NADPH), tetrahidrobiopterina (BH_4), flavina adenina dinucleotídio (FAD) e flavina mononucleotídio (FMN). Como fator de relaxamento, mediador da resposta imune, neurotransmissor, citotóxico e importante molécula de sinalização, a descoberta do NO unificou diversas

áreas de pesquisa tradicional em nutrição, fisiologia, imunologia, patologia e neurociências (Alderton e cols., 2001).

Uma variedade de estímulos (físicos ou químicos), tais como, acetilcolina, bradicinina, trombina, ionóforo de cálcio (A23187), substância P, adenina difosfato (ADP), alterações da velocidade de fluxo sangüíneo (*shear stress*) e agregação plaquetária, são capazes de induzir a síntese e liberação de óxido nítrico pelas células endoteliais. Estes estímulos promovem aumento dos níveis de Ca^{+2} nas células endoteliais, levando à formaçao do complexo Ca^{+2}-calmodulina (Rapopport & Murad, 1983). Isto induz a atividade da eNOS com conseqüente formação de NO. Quando o NO é liberado e se difunde para as células músculares lisas da parede do vaso, a enzima guanilato-ciclase solúvel (GCs) é ativada nestas células causando hidrólise do 3'5'-monofosfato cíclico de guanosina (GTP) em GMPc. No músculo liso vascular, o GMPc atua através da ativação de uma proteína cinase dependente de GMPc (PKG), que leva a fosforilação de várias proteínas resultando na diminuição da concentração dos níveis intracelulares de Ca^{+2}, induzindo vasorelaxamento (Hisamoto et al., 2001).

Dessa forma, o NO está envolvido na regulação do tônus vascular e da resistência periférica, contribuindo assim, para a o controle da pressão arterial (PA). O NO participa também na modulação da contratilidade cardíaca, em mecanismos anti-ateroscleróticos, inibe a agregação plaquetária e adesão da parede vascular e previne a liberação do fator de crescimento derivado de plaquetas, o qual estimula a proliferação de células musculares lisas. Estas ações contribuem para redução da trombose e do recrutamento de leucócitos, além de outras ações vasoprotetoras do NO (Naseem 2005). Além da hipertensão, algumas alterações funcionais do sistema vascular têm sido evidenciadas neste modelo de desnutrição intra-uterina; a grande maioria destas alterações está relacionada ao endotélio vascular. Nestas condições a célula endotelial se torna disfuncional, com diminuição da biodisponibilidade de fatores de relaxamento (p.ex. o óxido nítrico, NO) e aumento de fatores vasoconstritores. Estas alterações têm sido apontadas como importante mecanismo associado à gênese/manutenção de doenças cardiovasculares, incluindo a hipertensão. A atividade biológica de NO pode ser modificada por espécies reativas de oxigênio (ROS), tais como ânion superóxido. Elevadas

concentrações de ROS (desequilíbrio REDOX) têm sido relacionadas à diminuição de NO e conseqüentes danos celulares associados à disfunção endotelial (Franco e cols., 2002a).

Mesmo quando os indivíduos adotam um perfil nutricional balanceado, a desnutrição fetal provoca danos ao sistema cardiovascular que perduram durante a vida adulta. Por outro lado, a prática regular de atividade física pode trazer grandes benefícios à saúde, incluindo melhoria das condições cardiovasculares.

Sabe-se que a prática de o exercício físico altera o estado de inatividade do organismo, aumentando a sua demanda metabólica ao gerar um estado de relativa hipóxia que implica adaptações metabólicas com o objetivo de manter a homeostasia celular, levando a modificações morfofuncionais do sistema cardiovascular para um melhor controle e distribuição do fluxo sanguíneo, garantindo adequado aporte de oxigênio para o músculo em atividade (AFONSO E cols., 2003). De acordo com a modalidade, intensidade, duração e freqüência, o exercício atua como fator de estresse fisiológico para o organismo devido à sobrecarga energética imposta, levando a diversas adaptações hemodinâmicas e autonômicas que diferenciam indivíduos treinados de sedentários e tem efeito, principalmente sobre a freqüência cardíaca, contratilidade do miocárdio e pressão arterial (Monteiro e Sobral Filho, 2004; Moraes 2005).

1.3 Desnutrição e Exercício Físico

O American College Sports Medicine (ACSM) recomenda para adultos saudáveis, 30 minutos de atividade aeróbica diária de intensidade moderada, 5 vezes por semana ou 20 minutos de atividade de intensidade alta por 3 dias para a manutenção da saúde. Um parâmetro bastante utilizado para delimitação da intensidade de exercício físico é o VO2máx, que representa o consumo máximo de oxigênio por um indivíduo. É considerada a medida mais fidedigna na avaliação da aptidão aeróbica e reflete a interação entre os sistemas cardiovascular, respiratório e muscular (ACSM., 1998; Brum., 2004; Moraes., 2005).

O aporte de oxigênio aos tecidos varia de acordo com a freqüência cardíaca e o volume de ejeção sistólico, correspondentes ao débito cardíaco. Sabe-se que o condicionamento físico acarreta diminuição da freqüência cardíaca devido à elevação do volume de ejeção sistólico. A captação do oxigênio tecidual também está elevada, em razão do aumento na densidade vascular, e conseqüente ampliação da capacidade aeróbica e do VO2máx (Brum, 2004; Moraes 2005).

Diferentes protocolos experimentais têm sido utilizados para simular os efeitos da atividade física em ratos, seja através de atividade voluntária ou forçada, com uso de esteira ou natação livre ou ainda utilizando sobrecarga de peso (Medeiros e cols., 2000; Lana, Paulino e Gonçalves, 2006; Voltarelli, Mello e Duarte, 2007).

Animais submetidos à desnutrição com dieta hipoprotéica durante a gestação e lactação, e posteriormente recuperados do ponto de vista nutricional, não apresentaram reversão dos prejuízos do crescimento corporal e do desenvolvimento cardíaco, pela administração isolada de uma dieta pós-desmame balanceada. Porém, quando a oferta desta dieta estava associada ao treinamento físico moderado, um efeito positivo no ganho de peso e na reversão dos danos do coração desses animais pode ser verificado (Araújo, 2008).

Prazeres e cols. (2004) estudaram os efeitos do exercício físico sobre o crescimento corporal e o desenvolvimento de órgãos em ratos jovens desnutridos durante toda a vida e ratos recuperados da desnutrição. Os resultados revelaram que o exercício físico em animais cronicamente desnutridos diminuiu o consumo alimentar, o peso absoluto do coração, o peso absoluto e relativo do cérebro. Tais efeitos não foram observados nos animais recuperados da desnutrição; no entanto, nesses animais tanto a desnutrição, como o exercício físico, reduziram o peso corporal, o Coeficiente de Eficácia Alimentar, o comprimento da cauda e o peso absoluto da tíbia.

O exercício de intensidade moderada, do tipo aeróbico ou resistido, pode ser utilizado como abordagem terapêutica e preventiva para o controle da pressão arterial. Vários trabalhos relatam que o exercício físico provoca uma ação hipotensora em indivíduos normotensos e hipertensos, nestes com maior magnitude (Kingwell e Jennings, 1993, Forjaz e cols., 1998; Whelton e cols.,

2002; Monteiro e Sobral Filho, 2004; Forjaz e cols., 2005), uma vez que poderá ocorrer um remodelamento na complacência e na estrutura vascular (Kingwell e cols., 1997).

Além de alterações funcionais no sistema cardiovascular, como diminuição dos níveis de pressão arterial, o exercício físico pode promover alterações anatômicas como, aumento do peso cardíaco, hipertrofia cardíaca, principalmente do ventrículo esquerdo e hipertrofia dos cardiomiócitos (Medeiros e cols., 2000; Franchini., 2001; Lana, Paulino e Gonçalves., 2006).

Apesar de existirem diversos estudos preocupados em demonstrar as adaptações provocadas pelo exercício físico, poucos trabalhos tem se dedicado a investigar os efeitos da interação entre desnutrição e exercício físico. Silva e Melo (2000) relataram a minimização dos efeitos deletérios provocados pela desnutrição hipoproteica em ratas prenhas e sua prole devido ao exercício físico. No entanto, Alves (2009) observou que na vigência da desnutrição protéica ocorre déficit do substrato necessário para que haja resposta ao aumento do metabolismo celular induzido pelo exercício físico.

Já foi observado que a desnutrição fetal ativa mecanismos para o desenvolvimento do remodelamento cardíaco e vascular na vida adulta, em combinação com efeitos do aumento da pressão arterial, desenvolvimento do diabetes do tipo II e obesidade. Entretanto, os mecanismos envolvidos na associação entre este tipo de desnutrição e as respostas adaptativas do sistema cardiovascular, ainda não estão completamente elucidados, especialmente no que se refere à participação do sistema vascular (Khorran e cols., 2007a; Kawamura e cols., 2007b). Assim como, também não está muito bem determinada a influência do exercício físico aeróbico como uma provável ferramenta para a amenização ou mesmo prevenção destas alterações causadas pela desnutrição. Estudos observando as possíveis interações entre exercício físico e desnutrição podem fornecer meios de prevenir e tratar doenças correlacionadas aos distúrbios nutricionais. Desta forma, pretende-se elucidar os efeitos do treinamento aeróbico moderado na função cardiovascular de ratos submetidos à desnutrição no período intra-utero e durante a lactação.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Estudar os efeitos do treinamento físico sobre alguns parâmetros cardiovasculares em ratos adultos normonutridos e desnutridos durante a gestação e lactação.

2.2 Objetivos Específicos

- Investigar os efeitos do treinamento físico sobre o peso corporal a pressão arterial e sobre a freqüência cardíaca de ratos desnutridos e normonutridos.
- Avaliar o efeito do treinamento físico sobre a reatividade vascular à fenilefrina, em aortas de ratos desnutridos e normonutridos.
- Estudar nestas artérias a influência do endotélio e do óxido nítrico no efeito do treinamento físico sobre o efeito contrátil induzido pela fenilefrina

Influence of Aerobic Physical Training on the Vascular Reactivity of Rats Malnourished during the Perinatal Period

Francine Iane Gomes de Sá[1], Tarciana M. Pereira[1], Ana Durce Oliveira da Paixão[1], Alessandra S. Padilha[2], Dalton Valentim Vassallo[2], Carlos Peres DaCosta*[1]

[1] Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.
[2] Laboratório de Eletromecânica Cardíaca; Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brazil.

*Corresponding author: Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes do Rego, s/n, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

Short title: Sa et al. Physical activity in offspring of malnourished rats

Abstract

Malnutrition during the initial stages of life affects fetal development. Moreover, the resultant endothelial dysfunction may cause susceptibility to cardiovascular disorders during adulthood. Exercise training increases the production of nitric oxide (NO) and thus improves endothelial function. Using rats subjected to malnutrition during the perinatal period, we investigated: (i) the influence of thoracic aorta reactivity on blood pressure levels; and (ii) the influence of aerobic exercise on these parameters. Female Wistar rats were fed a standard or multideficient diet during mating, pregnancy and lactation. Male offspring underwent moderate aerobic training (VO_{MAX} 70%) for 8 weeks. At the end of the training period, we evaluated the systolic blood pressure, heart rate, and vascular reactivity. Malnutrition during the perinatal period increased the blood pressure levels by 19 mmHg ($p < 0.05$). Exercise training reversed this effect. The aortas of malnourished animals subjected to physical training showed lower ($p < 0.05$) reactivity to phenylephrine (PHE), higher reactivity to PHE in the absence of endothelium, and greater responsiveness to PHE in the presence of L-NAME (an inhibitor of NO synthase). It appears that the hypertension caused by perinatal malnutrition can be reversed by aerobic exercise, through an increase in endothelial NO production.

Key-words: perinatal undernutrition, Hypertension, endothelium, Physical Training.

Introduction

Malnutrition during either pregnancy or lactation, or sequentially during each period, can irreversibly impair physiological development [2]. For example, blood pressure may be increased when malnutrition occurs during intrauterine life [8,12,16] or sequentially during intrauterine life and lactation [16]. Several researchers have studied the pathophysiology of hypertension originating during intrauterine life [4,6,9,13]. Some of these investigations have demonstrated a reduction in the vasodilator response supplied by the endothelium, for example a decrease in acetylcholine, bradykinin, and nitric oxide (NO) [6] or a decrease in NO alone [4]. One of the few studies to investigate pathophysiological diseases originating sequentially during periods of intrauterine life and lactation revealed structural changes in the aorta, including a decrease in the thickness and elastin content [17].

Moderate physical exercise can prevent the onset of cardiovascular disease [19]. The increase in NO bioavailability [5,14] and reduced production of reactive oxygen species (ROS) contribute to the benefits of aerobic exercise training [5,14]. Physical exercise also promotes an increase in the shear stress of the vessel wall; this induces increased expression of eNOS [15].

Using rats subjected to malnutrition during the perinatal period, we evaluated the role of moderate aerobic exercise training in ameliorating or preventing cardiovascular disease. We investigated (i) the influence of thoracic aorta reactivity on blood pressure levels and (ii) the influence of aerobic exercise on these parameters.

Methods

Animals

All surgical and experimental procedures involving animals described in this study were approved by and done in accordance with the guidelines of the Committee for Ethics in Animal Experimentation of the Federal University of Pernambuco.Dams were given a multideficien diet, throughout mating,

pregnancy and lactation (Undernutrition group) or standard diet (control group). Throughout pregnancy, the dams were maintained in individual cages and fed the standard or multideficient diet and water ad libitum. All animals from our study were maintained in a room at 23 ± 2 ℃ with a 12 h light cycle and 55 ± 5% humidity. At 25 days of age, the male offspring were weaned on standard diet. Following parturition, the offspring were weighed and in order to prevent any variation in neonatal growth through availability of milk intake during suckling, litter size was standardized to 6 pups at day 1, preferentially keeping male pups. After weaned, all of the rats were weighed weekly and maintained on a standard diet ad libitum. The experiment was initiated when the rats reached an age of 7 wk and the animals were randomly assigned into one of four groups: a non-exercise control (NC, n=10), exercise control (EC, n=10), non-exercise undernutrition (NU, n=10) and exercise undernutrition (EU, n=10). Some animals were withdrawn from the study because of its unwillingness to run.

Diet

Malnutrition was induced through a deficient diet as previously described [16,18,22]. 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 60o 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 60o C for 24 h. The content of main dietary nutrients is shown in Table 1.

Exercise training protocol.

The training protocol for animals in the EC and EU groups was developed in a previously reported study. This protocol was modified according to the 70% VO2Máx running program for Wistar rats. Animals of the EC and EU groups underwent an exercise training program on the treadmill 5 days/wk for 8 wk. In the first week of training, the animals in the both groups ran for 20 min/day at a speed of 12 m/min on the level treadmill. The duration and intensity of the daily exercise session was weekly increased to 60 min at a speed of 22 m/min (table 2) [7]. The front portion of the lanes of the treadmill was covered with a thick

paper to keep the area darkness, because rats are more active in this condition. In these studies, the animals of both groups were evaluated by body weight, ECG, heart rate, blood pressure and vascular reactivity, 72h after termination of the training period.

Electrocardiogram, heart rate and blood pressure

The recording of the ECG was undertaken in a non-invasive manner in accordance with a methodology developed in our laboratory. 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 software (BioMed, Paraíba, 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).

Indirect systolic blood pressure was measured at the end of exercise training using tail-cuff plethysmography (IITC Life Science, Califórnia, United States). Conscious rats were restrained for 10 min in 37 ℃, in warm and quiet room and conditioned to numerous cuff inflation-deflation cycles by a trained operator. Systolic blood pressure was measured, and the mean of three measurements was recorded [1].

Vascular Reactivity

At the end of the training protocol, rats were anesthetized with pentobarbital (35 mg/kg, i.p.) and killed by exsanguination. Thoracic aortas were carefully dissected out and connective tissue was removed. For experiments, the aortas were divided into cylindrical segments 4 mm in length. Aortic segments (4 mm in length) were mounted between two parallel wires in 37uC organ baths containing Krebs-Henseleit solution (KHS, in mM: 124 NaCl, 4.6 KCl, 2.5 CaCl2, 1.2 MgSO4, 1.2 KH2PO4, 0.01 EDTA, 23 NaHCO3) and gassed with 95% O2-5% CO2 (pH 7.4). Arterial segments were stretched to an optimal

resting tension of 1.0 g. Isometric tension was recorded using a force displacement transducer (TSD125C, CA, USA) connected to an acquisition system (MP100A, BIOPAC System, Inc., Santa Barbara, USA). After a 45 min equilibration period, all aortic rings were initially exposed twice to 75 mM KCl. The first exposure checks their functional integrity, and the second exposure assesses the maximal tension developed. Afterwards, endothelial integrity was tested with acetylcholine (10 mM) in segments previously contracted with phenylephrine (1 mM). A relaxation equal to or greater than 90% was considered demonstrative of the functional integrity of the endothelium. After a 45 min washout, concentration-response curves to phenylephrine were determined. Single curves were performed in each segment [3]. Effects of the nonspecific NOS inhibitor NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 100 mM) were investigated.

The influence of the endothelium on the response to phenylephrine in all animais was investigated after its mechanical removal, which was performed by rubbing the lumen with a needle. The absence of endothelium was confirmed by the inability of 10 mM acetylcholine (ACh) to produce relaxation.

Statistical analysis

All values are expressed as mean ± S.E.M. Differences were analyzed using Student's t-test or two-way ANOVA followed by a Bonferroni test. $P<0.05$ was considered significant. Contractile responses were expressed as a percentage of the maximal response induced by 75 mM KCl. For each concentration-response curve, the maximal effect (Rmax) and the concentration of agonist that produced 50% of the maximal response (log EC50) were calculated using non-linear regression analysis (GraphPad Prism, GraphPad Software, Inc., California, United States). The sensitivities of the agonists were expressed as pD2 (2log EC50). To compare the effects of endothelium denudation or L-NAME on the contractile responses to phenylephrine, some results were expressed as differences in the area under the concentration response curves (dAUC) for the control and experimental groups.

Drugs and reagents

L-NAME, l-phenylephrine hydrochloride, acetylcholine chloride, sodium pentobarbital were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Salts and reagents used were of analytical grade from Sigma-Aldrich and Merck (Darmstadt, Germany).

Results

Evolution of Body Weight

Figures 1A and 1B show the evolution of body weight throughout the study. At birth, the offspring of undernourished mothers had a 31% lower body weight than did the offspring of control mothers. At weaning, the difference in body weight between the 2 groups increased to 64% (Figure). At the start of the physical training period (7 weeks of age), the animals subjected to perinatal malnutrition had a 34% lower body weight than did the control group. At the end of the aerobic exercise period (14 weeks of age), the difference in body weight caused by perinatal malnutrition remained. Moreover, exercise training significantly reduced the body weight in each group (by 5% in the control group and by 30% in the malnourished group).

Heart Rate and Blood Pressure

An electrocardiogram (ECG) revealed a similar RR interval for all groups (0.166–0.172 ms). Moreover, there was no difference in the heart rate in each group (Figure 2A). Perinatal malnutrition resulted in systolic blood pressure levels of >18 mmHg in the control group (NU vs. NC, Figure 2B). Exercise training reduced the blood pressure levels of malnourished animals (EU vs. NU, Figure 2B) by 13 mmHg but did not alter those of control animals (EC vs. NC, Figure 2B).

Vascular Reactivity

The vascular reactivity to PHE was similar for control and undernourished animals not subjected to physical training (NU vs. NC, Figure 3A). However, the shift to the left made by the EU group (Figure 3B) indicated that physical training reduced the reactivity to PHE. This finding was supported by the lower

R_{max} value presented by the EU group compared to the EC group (88.1% ± 5.4% vs. 123.1% ± 7.5%, respectively).

Removal of the aortic endothelium (E-) caused a shift to the right in the concentration-response curve to PHE in the non-exercised control group (NC, Figure 4A) and the control group subjected to physical training (EC, Figure 4B). However, the R_{max} values (NC E+, 129.5% ± 2.0%; NC E-, 163.2% ± 6.2%; EC E+, 123.1% ± 7.5%; and EC E-, 171.2% ± 12.5%) and the $logEC_{50}$ values (NC E+, -5.21% ± 0.33%; NC E-, -5.40% ± 0.30%; EC E+, -4.90% ± 0.13%; and EC E-, -5.77% ± 0.30%) did not differ between groups. Similarly, in rats subjected to perinatal malnutrition after removal of the endothelium (EC E- vs. EC E+ and EU E- vs. EU E+, Figures 4C and 4D), the concentration-response curve to PHE shifted to the right, but the R_{max} values (NU E+, 142.4% ± 9.6%; NU E-, 139.1% ± 7.7%; EU E+, 88.1% ± 5.4%; and EU E-, 145.2% ± 9.1%) and the $logEC_{50}$ values (NU E+, -4.50% ± 0.12%; NU E-, -5.4% ± 0.10%; EU E+, -4.50% ± 0.10%; and EU E-, -5.4% ± 0.10%) did not differ between groups. The difference in vascular reactivity between the control and malnourished groups was more evident when the data were presented as the area under the curve (AUC, Figure 4E). The removal of the endothelium caused significantly higher vascular reactivity in the malnourished group subjected to physical training (EU E-) than in all other groups.

The NO synthase inhibitor L-NAME shifted the concentration-response curve to PHE to the right in aortas obtained from control rats not subjected to physical training (Figure 5A) and control rats subjected to physical training (Figure 5B). However, the R_{max} values (NC, 129.5% ± 2.0%; NC L-NAME, 167.5% ± 10.8%; EC, 123.1% ± 7.5%; and EC L-NAME, 139.1% ± 7.7%) and the $logEC_{50}$ values (NC, -5.21% ± 0.33%; NC L-NAME, -5.70% ± 0.10%; EC, -4.90% ± 0.13%; and EC L-NAME, -5.80% ± 0.10%) did not differ between groups. Treatment with L-NAME also produced displacement curves to the right in aortas obtained from malnourished rats not subjected to physical exercise (Figure 5C) and in malnourished rats subjected to physical exercise (Figure 5D). However, the R_{max} values (NU, 142.4% ± 9.6%; NU L-NAME, 161.2% ± 11.4%; EU, 88.08% ± 5.4%; and EU L-NAME, 172.5% ± 10.0%) and the $logEC_{50}$ values (NU, -4.50%

± 0.12%; NU L-NAME, -5.30% ± 0.10%; EU, -4.50% ± 0.10%; and EU L-NAME, -5.40% ± 0.10%) did not differ between groups. Thus, although all of the groups showed increased contractility of the aorta in the presence of L-NAME, comparison of the areas under the curves (Figure 5E) indicated that the EU group was more responsive ($p < 0.05$) to the effect of L-NAME than any of the other groups.

Discussion

Hypertension originating from malnutrition occurring sequentially during the intrauterine and lactation periods has previously been demonstrated [16]. In the present study, we have shown that elevation of the systolic blood pressure caused by malnutrition during intrauterine life and lactation is reversed by aerobic exercise.

We further elucidated that the decrease in blood pressure caused by aerobic exercise is due to an increase in production of endothelial factors, specifically NO, in animals stunted because of malnourishment and subjected to physical training compared with control animals.

Paradoxically, the evidence implicating decreased NO bioavailability as a cause of hypertension originating from malnutrition is restricted to intrauterine malnutrition [4,6]. Our study demonstrates that when malnutrition extends into the lactation period, NO production may be increased.

Our findings are supported by Desai and Hales (1997) [2], who showed that animals subjected to malnutrition during lactation appear to have increased longevity. A possible explanation based on the theory of the “thrifty phenotype” proposed by Desai and Hales [2] is that low weight (Figure 1) facilitates a better prediction of the response to physical training.

The physical training protocol used in the present study did not alter the pattern of cardiac frequency, either in control rats or in malnourished rats (Figure 2A). This finding was also observed when physical training was imposed for periods ranging from 7 weeks to 9 months [10,11,21]. However, following physical training, the EU group presented with reduced systolic blood pressure. This can

be partially attributed to a reduction in vascular resistance caused by NO production.

PHE, an α-adrenergic agonist, is a useful pharmacological tool because it induces a contractile response in vascular smooth muscles, which are modulated by the endothelium. Similarly, L-NAME, an inhibitor of NO synthase, may directly indicate the role of NO in vasodilation. These 2 pharmacological tools, together with mechanical removal of the endothelium [3], indicate that NO is a vasodilator produced in larger quantities by animals subjected to malnutrition and physical training. The importance of the endothelium in decreasing the blood pressure of EU group [3] is highlighted in Figures 4A and 4B.

Based on previous data [17], it is not clear whether animals show hypertension as the only determinant of impaired vascular endothelium. Other factors may contribute, such as cardiac remodeling [8] and a decrease in the number of nephrons, which occurs during the intrauterine period [12] and can last until the end of nephrogenesis on the 13th day of postnatal life [20].

In summary, we have shown that hypertension originating from perinatal malnutrition can be reversed by aerobic exercise, through an increase in endothelial NO production.

Acknowledgments

The author would like to thank Carol Leandro for excellent Technical Support. 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

1 Bunag, RD. Validation in Awake Rats of a Tail-cull Method for Measuring Systolic Pressure. Journal of Applied Physiology 1973; 34: 279-282

2 Desai M, Hales CN. Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. Biol Rev Camb Philos Soc 1997; 72: 329-348

3 Fiorim J, Ribeiro Júnior RF, Silveira EA, Padilha AS, Vescovi MV, de Jesus HC, Stefanon I, Salaices M, Vassallo DV. Low-level lead exposure

increases systolic arterial pressure and endothelium-derived vasodilator factors in rat aortas. PLoS One 2011; 6(2): e17117

4 *Franco MCP, Arruda RMMP, Dantas APV, Kawamoto EM, Fortes ZB, Scavone C, Carvalho MHC, Tostes RCA, Nigro D.* Intrauterine undernutrition: expression and activity of the endothelial nitric oxide synthase in male and female adult offspring. Cardiovascular Research 2002; 56: 145-153

5 *Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Nara I*. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. Circulation. 2003; 108(5): 530-5

6 *Holemans K, Gerber R, Meurrens K, De Clerck F, Poston L, Van Assche FA.* Maternal food restriction in the second half of pregnancy affects vascular function but not blood pressure of rat female offspring. Br J Nutr 1999; 81(1): 73-79

7 *Huang TH, Lin SC, Chang FL, Hsieh SS, Liu SH, Yang RS.* Effects of different exercise modes on mineralization structure, and biomechanical properties of growing bone. J Appl Physiol 2003; 95: 300–307

8 *Kawamura M, Itoh H, Yura S, Mogami H, Suga S, Makino H, Miyamoto Y, Yoshimasa Y, Sagawa N, Fujii S.* Undernutrition in utero augments systolic blood pressure and cardiac remodeling in adult mouse offspring: possible involvement of local cardiac angiotensin system in developmental origins of cardiovascular disease. Endocrinology 2007; 148(3): 1218-1225

9 *Khorram O, Momeni M, Desai M, Ross MG.* Nutrient Restriction In Utero Induces Remodeling of the Vascular Extracellular Matrix in Rat Offspring. Reproductive Sciences 2007; 14: 73-80

10 *Lachance D, Plante E, Bouchard-Thomassin AA, Champetier S, Roussel E, Drolet MC, Arsenault M, Couet J.* Moderate exercise training improves survival and ventricular remodeling in an animal model of left ventricular volume overload. Circ Heart Fail 2009; 2(5): 437-445

11 *Lahaye Sle D, Gratas-Delamarche A, Malardé L, Vincent S, Zguira MS, Morel SL, Delamarche P, Zouhal H, Carré F, Bekono FR*. Intense exercise training induces adaptation in expression and responsiveness of cardiac β-adrenoceptors in diabetic rats. Cardiovasc Diabetol 2010; 9: 72

12 Langley-Evans SC, Welham SJ, Jackson AA. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. Life Sci 1999; 64: 965–974

13 Langley-Evans SC. Fetal Programming of Cardiovascular Function Through Exposure to Maternal Undernutrition. Proceedings of the Nutrition Society 2001; 60: 505-513

14 Napoli C, Williams-Ignarro S, De Nigris F, Lerman Lo, Rossi L, Guarino C. Long-term Combined Beneficial Effects of Physical Training and Metabolism Treatment on Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Mice. Proc Natl Acad Sci 2004; 101: 8797-8802

15 O'Sullivan SE, Bell C. The effects of exercise and training on human cardiovascular reflex control. J Auton Nerv Syst. 2000; 81(1-3): 16-24

16 Paixão ADO, Maciel CR, Teles MBB, Figueiredo-Silva J. Regional Brazilian Diet-induced Low Birth Weight Is Correlated With Changes in Renal Hemodinamics and Glomerular morphometry in Adult Age. Biol Neonate 2001; 80: 239-246

17 Skilton MR, Gosby AK, Wu BJ, Ho LM, Stocker R, Caterson ID, Celermajer DS. Maternal undernutrition reduces aortic wall thickness and elastin content in offspring rats without altering endothelial function. Clin Sci (Lond) 2006; 111(4): 281-7

18 Teodósio NR, Lago ES, Romani SAM, Guedes RCA. A Regional Basic Diet From Northeast Brazil as a Dietary Model of Experimental Malnutrition. Archivos Latinoamericanos de Nutricion 1990; 40: 533-547

19 Thompson PD, Buchner D, Piña IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, Berra K, Blair SN, Costa F, Franklin B, Fletcher GF, Gordon NF, Pate RR, Rodrigues BL, Yancey AK, Wenger NK. American Heart Association Council on Clinical Cardiology Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention; American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Subcommittee on Physical Activity. Exercise and Physical Activity in the Prevention and Treatment of Atherosclerotic Cardiovascular Disease: a Statement from the Council and Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). Circulation 2003; 107: 3109-3116

20 Tufro-McReddie A, Romano LM, Harris JM, Ferder L, Gomez RA. Angiotensin II regulates nephrogenesis and renal vascular development. Am J Physiol 1995; 269:F110-F115

21 VanHoose L, Sawers Y, Loganathan R, Vacek JL, Stehno-Bittel L, Novikova L, Al-Jarrah M, Smirnova IV. Electrocardiographic changes with the onset of diabetes and the impact of aerobic exercise training in the Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rat. Cardiovasc Diabetol 2010; 9: 56

22 Vieira-Filho LD, Lara LS, Silva PA, Luzardo R, Einicker-Lamas M, Cardoso HD, Paixão ADO, Vieyra A. Placental Oxidative Stress in Malnourished Rats and Changes in Kidney Proximal Tubule Sodium Atpases in Offspring. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 2009; 36: 1157-1163

TABLES AND FIGURES

Table 1

Composition of diets (g/g%)

	Standard diet[a]	Multideficient diet[b]
Protein	23	8.87
Carbohydrates	41	77.7
Ether extract	2.5	1.12
Fibers	9	7
Minerals	8	3.96
Vitamin supplement	Yes	No
Sodium	0.37	0.17
Calcium	1.8	0.25
Phosphorus	0.8	0.08
Moisture	13	10
kcal/100g	278	356

[a] As indicated by the manufacter (Ralston-Purina®).

[b] According to the Laboratory of Experimentation and Analysis of Food (LEAAL), Nutrition Department/UFPE, Recife, Brazil.

Table 2

Training protocol for exercise groups

Week	Intensity (m/min)	Duration (min)
1st	12	20
2nd	13	30
3rd	14,5	30
4th	16	40
5th	17,5	50
6th	19	60
7th	20,5	60
8th	22	60

Intensity was the speed of the treadmill

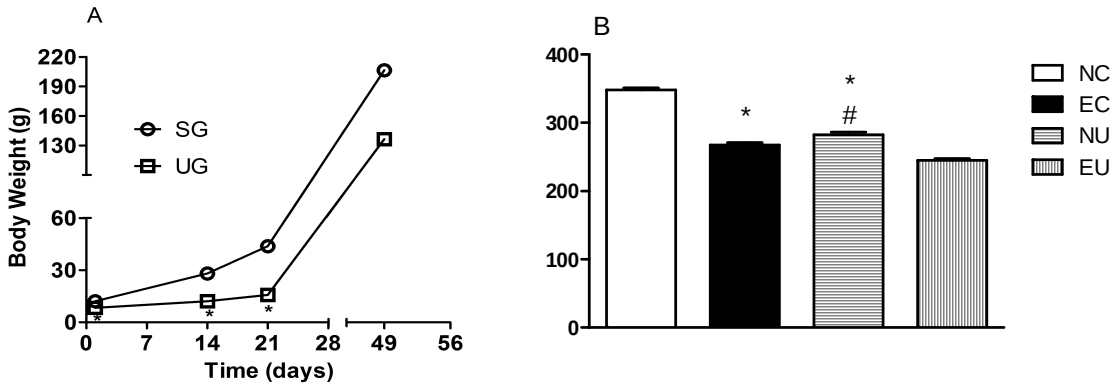

Fig. 1. Body Weight of Standard and Undernutrition Groups during lactation and at seventh week (A) and end of exercise training period (B). Values are expressed as mean ± SEM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni test. *****p<0,05 compared with Standard groups (A) or NC (B); **+**p<0,05 compared with EU.

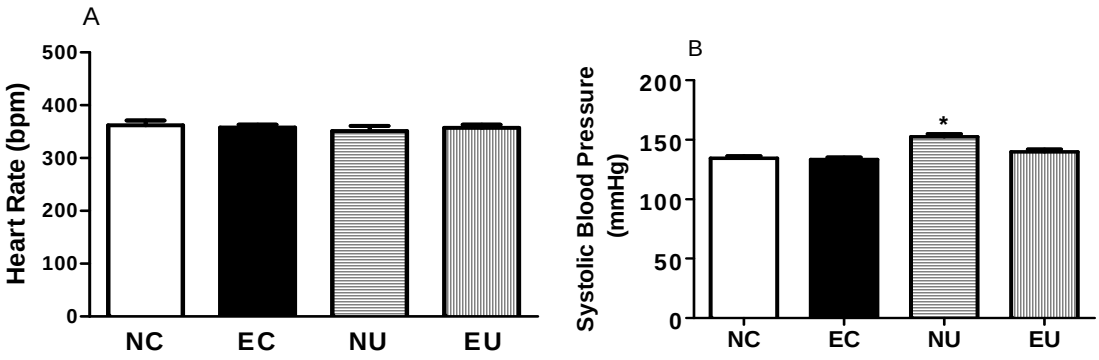

Fig. 2: (A) Heart Rate (bpm) and (B) Systolic Blood Pressure (mmHg) measured after exercise training period (14^{th} wk). Data expressed as mean ± SEM. Two-way ANOVA followed by Bonferroni test; *****p <0.05 for all other groups.

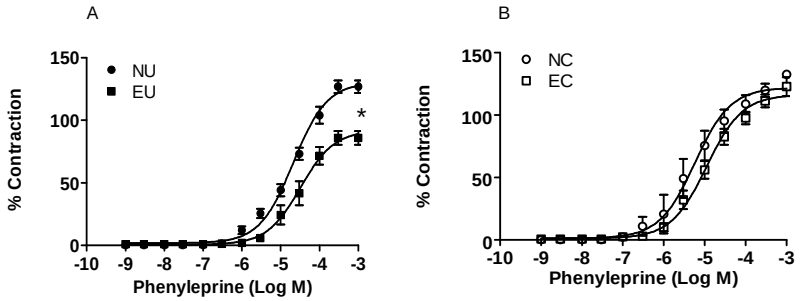

Fig. 3: Concentration-effect curves for Phenyleprine in aortic rings from NC (○), EC (□) (A), and NU (●), EU (■) (B). The responses are expressed as percentage of contraction relative to the contractions induced by KCl (75 mM). Each point represents the mean ± SEM. ***** $p<0.05$ for EU versus NU.

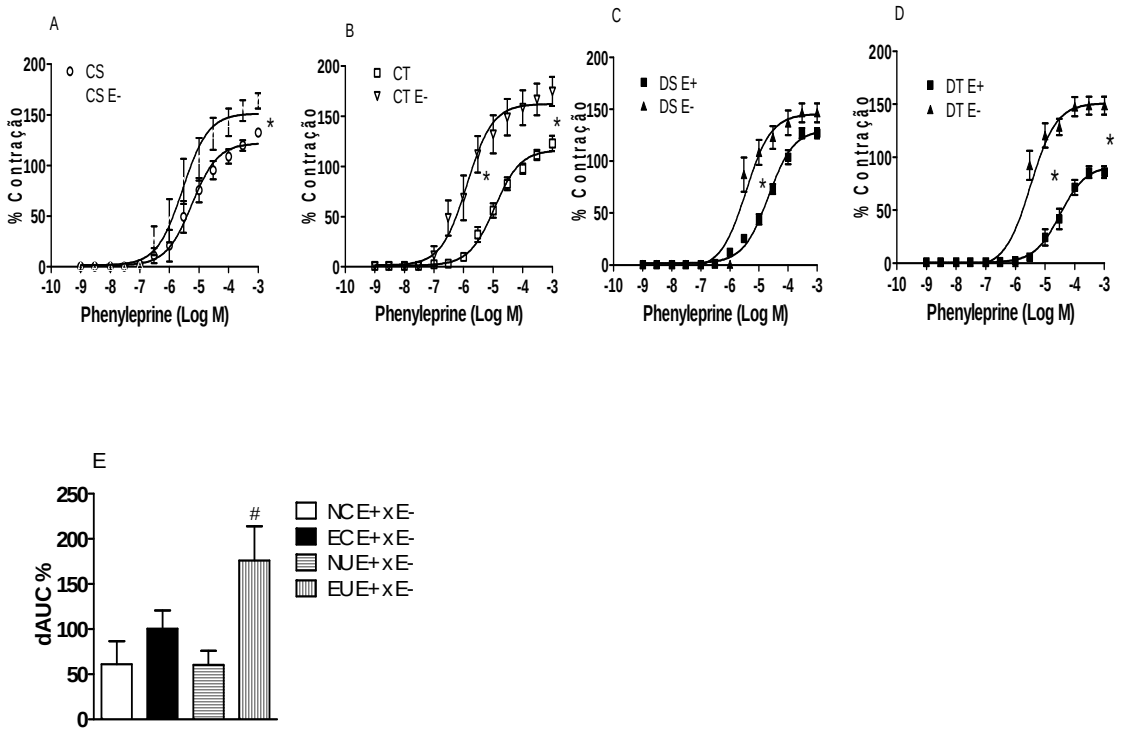

Fig. 4. (A-D) Concentration-effect curves for phenylephrine in aortic rings with or without endothelium from NC (A, n=8), NU (B, n=9), EC (C, n=11), and EU (D, n=11). The responses are expressed as percentage of contraction relative to the contractions induced by KCl (75 mM). Each point represents the mean ± SEM, *p<0.05 for E+ versus E-. (E) Percentage of Area Under Curve (dAUC %) from concentration-effect curves of all groups.; #p<0.05 for EU E+ x E- versus NU E+ x E-.

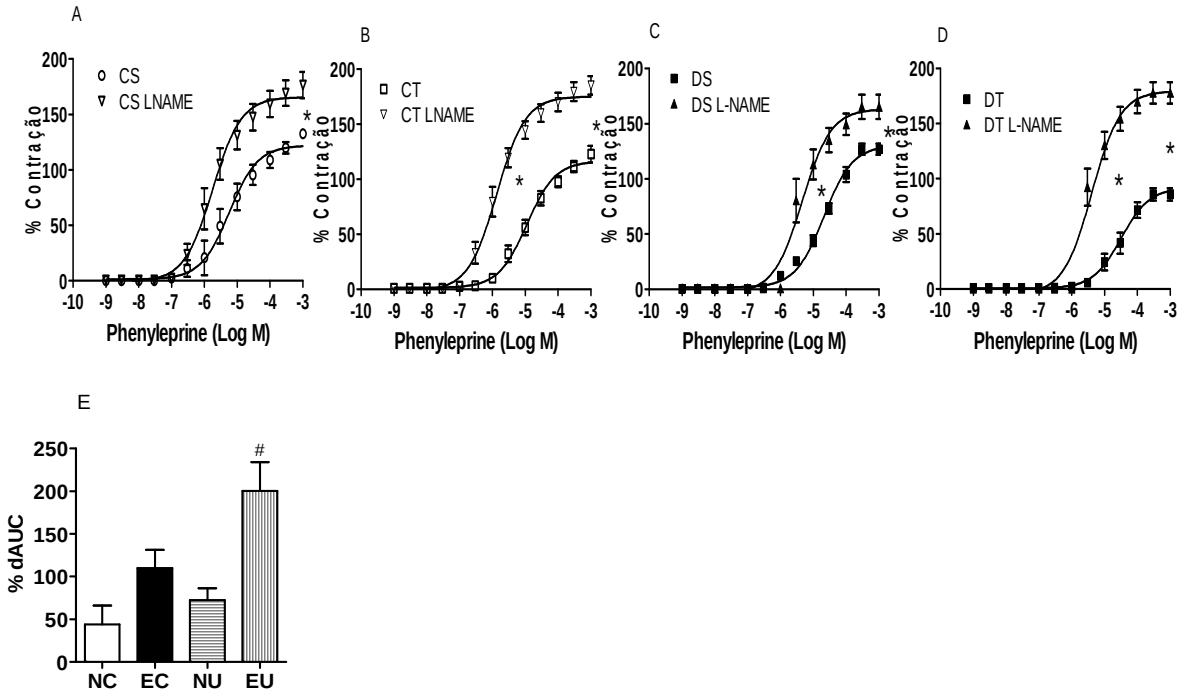

Fig. 5. (A-D) Concentration-effect curves for phenylephrine in aortic rings before and after incubation with L-NAME (LNA, 100mM) from NC (A, n=8), NU (B, n=9), EC (C, n=11), and EU (D, n=11). The responses are expressed as percentage of contraction relative to the contractions induced by KCl (75 mM). Each point represents the mean ± SEM. *p<0.05 for before versus after incubation with L-NAME. (E) Percentage of Area Under Curve (dAUC %) from concentration-effect curves of all groups. #p<0.05 for EU versus NU.

4. CONCLUSÕES

Os achados do presente trabalho sugerem que a elevação dos níveis pressóricos causada pela desnutrição no período perinatal pode ser revertida através do treinamento físico, provavelmente devido a um aumento na modulação endotelial, acarretando o aumento da liberação e/ou biodisponibilidade de óxido nítrico, visto que o NO possui papel vasorelaxante sobre a resistência vascular periférica. Entretanto, os mecanismos envolvidos nestas respostas ainda precisam ser investigados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE POSITION STAND. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. Med Sci Sports Exerc. 1998; 30(6):975-91.

ACUÑA, K. & CRUZ, T. Avaliação do Estado Nutricional de Adultos e Idosos e Situação Nutricional da População Brasileira. **Arq Bras Endocrinol Metab,** v.48 n.3, 2004.

AFONSO, V.M. & EIKELBOOM, R. Relationship Between Wheel Running, Feeding, Drinking, and Body Weight in Male Rats. **Physiology & Behavior**, v. 80, n. 1, p. 19-26, 2003.

ALDERTON, W.K.; COOPER, C.E.; KNOWLES, R.G. Nitric Oxide Synthases: Structure, Function and Inhibition. **Biochem J** v. 357 p. 593-615, 2001.

ALVES, RMR. Análise morfométrica do coração de ratos Submetidos à desnutrição e ao exercício físico Crônico durante o período de lactação. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, 2009

ARAÚJO, TN. Efeitos do treinamento físico aeróbio moderado sobre o crescimento corporal e desenvolvimento cardíaco de ratos adultos submetidos a desnutrição protéica na gestação e lactação. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, 2008.

ARMITAGE, J.A.; KHAN, I.Y.; TAYLOR, P.D.; NATHANIELSZ, P.W.; POSTON, L. Developmental Programming of the Metabolic Syndrome by Maternal Nutritional Imbalance: How Strong is the Evidence from Experimental Models in Mammals? **The Journal of Physiology**, v.561, n. 2, p. 355-377, 2004.

ARRUDA, I.K.G. & ARRUDA, B.K.G. Nutrição e Desenvolvimento. **Cad. Saúde Públ**, v. 10, n. 3, 1994.

BARKER, D.J. In utero programming of cardiovascular disease. **Theriogenology**, v. 53, n. 2, p. 555-574, 2000.

BARKER, D.J.; BULL, A.R.; OSMOND, C.; SIMMONDS, S.J. Fetal and Placental Size and Risk of Hypertension in Adult Life. **British Medical Journal**, v. 301, p. 259-262, 1990.

BARKER DJ. The intrauterine origins of cardiovascular disease. Acta Paediatr Suppl. 1993;82 Suppl 391:93-9; discussion 100.

BARKER, D.J.; GLUCKMAN, P.D.; GODFREY, K.M.; HARDING, J.E.; OWENS, J.A.; ROBINSON, JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. **Lancet** v. 341, n. 8850, p. 938-941, 1993.

BARKER, D.J.; HALES, C.N.; FALL, C.H.; OSMOND, C.; PHIPPS, K.; CLARK, P.M. Type 2 (non-insulin-dependent) Diabetes Mellitus, Hypertension and Hyperlipidaemia (Syndrome X): Relation to Reduced Fetal Growth. **Diabetologia**, v. 36, p. 62-67, 1993.a

BARKER, D.J.; WINTER, P.D.; OSMOND, C.; MARGETTS, B.; SIMMONDS, S.J. Weight in Infancy and Death from Ischaemic Heart Disease. **Lancet**, v.2, p. 577-580, 1989.

BARKER, D.J.P. Fetal Origins of Coronary Heart Disease. **British Medical Journal**, v. 311, p. 171-174, 1995.

BARROS, K.M.F.T.; CASTRO, R.M.; SOUZA, S.L.; MATOS, R.J.B.; DEIRÓ, T.C.B.J.; FILHO, J.C.; CANON, F. A regional model (Northeastern Brazil) of induced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 9, n. ½ p. 99–104, 2006.

BAYOL, S.; JONES, D.; GOLDSPINK, G.; STICKLAND, N.C. The Influence of Undernutrition During Gestation on Skeletal Muscle Cellularity and on the Expression of Genes that Control Muscle Growth. **British Journal of Nutrition**, v. 91, p. 331-339, 2004.

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.

BENNIS-TALEB, N.; REMACLE, C.; HOET, J.J.; REUSENS, B. A Low-protein Isocaloric Diet During Gestation Affects Brain development and and Alters Permanently Cerebral Cortex Blood Vessels in Rat Offspring. **J Nutr**, v.129 p. 1613-1619, 1999.

BRENNER, B.M. & CHERTOW, G.M. Congernital Oligonephropaty and the Etiology of Adult Hypertension and Progressive Renal Injury. Symp in Honor of Neal S Bricker: Pathophysiol Chronic Renal Dis. p. 171-175, 1993.

BRUM, P.C.; FORJAZ, C.L.M.; TINUCCI, T.; NEGRÃO, C.E. Adaptações Agudas e Crônicas do Exercício Físico no Sistema Cardiovascular **Rev. paul. Educ. Fís., São Paulo**, v. 18, p. 21-31, 2004.

CHEEMA, K.K.; DENT, M.R.; SAINI, H.K.; AROUTIOUNOVA, N.; TAPPIA, P.S. Prenatal Exposure to Maternal Undernutrition Induces Adult Cardiac Dysfuntion. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 93, p. 471-477, 2005.

DAS, M.K.; BHATTACHARYYA, N. & BHATTACHARYYA, A.K. WHO child Growth Standarts. **Eur J Pediatr**, v. 169 p. 253-255, 2010.

DE ONIS, M.; MONTEIRO, C.; AKRE, J.; CLUGSTON, G. The Worldwide Magnitude of Protein-Energy Malnutrition: An Overview from the WHO Global Database on Child Growth. **Bull World Health Organ**, v. 71, p. 703-712, 1993.

FORJAZ, C.L.; MATSUDAIRA, Y.; RODRIGUES, F.B.; NUNES, N.; NEGRÃO, C.E. Post-Exercise Changes in Blood Pressure, Heart Rate and Rate Pressure Product at Different Exercise Intensities in Normotensive Humans **Braz J Med Biol Res**. v. 31, n. 10, p. 1247-1255, 2005.

FORJAZ, C.L.; SANTAELLA, D.F.; REZENDE, L.O.; BARRETO, A.C.; NEGRÃO, C.E. Effect of Exercise Duration on the Magnitude and Duration of Post-exercise Hypotension. **Arq Bras Cardiol** v. 70, n. 2, p. 99-104, 1998.

FRANCHINI, K. G. Hipertrofia cardíaca: mecanismos moleculares. **Rev. Bras Hipertens** , v. 8 , n. 1 , p. 125-142, 2001.

FRANCO, M.C.P.; ARRUDA, R.M.M.P.; DANTAS, A.P.V.; KAWAMOTO, E.M.; FORTES, Z.B.; SCAVONE, C.; CARVALHO, M.H.C.; TOSTES, R.C.A.; NIGRO, D. Intrauterine undernutrition: expression and activity of the endothelial nitric oxide synthase in male and female adult offspring. **Cardiovascular Research**, v. 56, p. 145-153, 2002.

FRANCO MC, AKAMINE EH, REBOUÇAS N, CARVALHO MH, TOSTES RC, NIGRO D, FORTES ZB. Long-term effects of intrauterine malnutrition on vascular function in female offspring: implications of oxidative stress. Life Sci.; 80(8):709-15, 2007

FURCHGOTT, R.F. Role of endothelium in Responses of Vascular Smooth Muscle. **Circulation Research**, v. 53, n. 5, p. 557-573, 1983.

GROVER, Z. & EE, L.C. Protein Energy Malnutrition. **Pediatric Clin N Am**, v.56, p.1055-1068, 2009.

HALES, C.N.; BARKER, D.J.P.; CLARK, P.M.S.; COX, L.J.; FALL, C.; OSMOND, C.; WINTER, P.D. Fetal and Infant Growth and Impaired Glucose Tolerance at Age 64. **British Medical Journal**, v. 303, p. 1019-1022, 1991.

HENDRICKS, K.M.; DUGGAN, C.; GALLAGHER, L. et al. Malnutrition in Hospitalized Pediatric Patients. Current Prevalence. **Arch Pediatr Adolesc Med**, v. 149, p. 1118-1122, 1995.

HISAMOTO K, OHMICHI M, KURACHI H, HAYAKAWA J, KANDA Y, NISHIO Y, ADACHI K, TASAKA K, MIYOSHI E, FUJIWARA N, TANIGUCHI N, MURATA Y. Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. J Biol Chem.; 2;276(5):3459-67, 2001.

HOFFMAN, R. Pobreza, insegurança alimentar e desnutrição no Brasil. Estudos avançados. v. 9, n. 24, 1995.

HOY, W.E.; REES, M.; KILE, E.; MATHEWS, J.D.; WANG, Z. A New Dimension to the Barker Hypothesis: Low Birthweight and Susceptibility to Renal Disease**. Kidney International**. v. 56, 1999.

JOOSTEN, K.F.M. & HULST, J.M. Prevalence of Malnutrition in Paediatric Hospital Patients. **Curr Opin Pediatr**, v. 20, p. 590-596, 2008.

KAWAMURA M, ITOH H, YURA S, MOGAMI H, SUGA S, MAKINO H, MIYAMOTO Y, YOSHIMASA Y, SAGAWA N, FUJII S. Undernutrition in utero augments systolic blood pressure and cardiac remodeling in adult mouse offspring: possible involvement of local cardiac angiotensin system in developmental origins of cardiovascular disease. Endocrinology; 148(3):1218-25, 2007

KHORRAM, O.; KHORRAM, N.; MOMENI, M.; HAN, G.; HALEM, J.; DESAI, M.; ROSS, M.G. Maternal Undernutrition Inhibits Angiogenesis in the Offspring: A Potential Mechanism of Programmed Hypertension. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. v. 293, p. R745-R753, 2007.

KHORRAM, O.; MOMENI, M.; DESAI, M.; ROSS, M.G. Nutrient Restriction In Utero Induces Remodeling of the Vascular Extracellular Matrix in Rat Offspring, **Reproductive Sciences,** v. 14, n. 1, p. 73-80, 2007a.

KINGWELL, B.A. & JENNINGS, G.L. Effects of Walking and other Exercise Programs upon Blood Pressure in Normal Subjects **Med J Aust** v. 158, n. 4, p. 234-238, 1993.

KINGWELL BA, BERRY KL, CAMERON JD, JENNINGS GL, DART AM. Arterial compliance increases after moderate-intensity cycling. Am J Physiol. 1997; 273: H2186-91.

LAGO, E.S.; TEODÓSIO, N.R.; PESSOA, D.C.N.; CABRAL FILHO, J.E.; Duración de La Vida em Ratas Desnutridas, Utilizando Dieta Básica Del Nordeste Brasileño. **Ach Latinoam Nutr**, v. 47, n. 4, p. 338-342, 1997.

LANA, A.C.; PAULINO, C.A. & GONÇALVES, I.D. Influência dos Exercícios Físicos de Baixa e Alta Intensidade Sobre o Limiar de Hipernocicepção e outros Parâmetros em Ratos. **Rev Bras Med Esporte** [online]. v. 12, n.5, p. 248-254. 2006.

LANGLEY-EVANS, S.C. Fetal Programming of Cardiovascular Function Through Exposure to Maternal Undernutrition. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 60, p. 505-513, 2001.

LANGLEY-EVANS, S.C. Nutritional programming of disease: unravelling the mechanism. **J Anat**; v. 215, n. 1, p. 36-51, 2008.

LANGLEY-EVANS, S.C.; WELHAM, S.J.M.; JACKSON, A.A. Fetal Exposure to a Maternal Low Protein Diet Impairs Nephrogenesis and Promotes Hypertension in the Rat. **Life Sci**, v. 64 p. 965-974, 1999.

MAGALHÃES, J.C.G.; SILVEIRA, A.B.; MOTA, D.L.; PAIXÃO, A.D. Renal Function in Juvenile Rats Subjectes to Prenatal Malnutrition and Chronic Salt Overload. **Exp Physiol**. v. 91, n. 3, 2006.

MANARY, M.J.; LEEUWENBURGH, C. & HEINECKE, J.W. Increased Oxidative Stress in Kwashiorkor. **Clinical and Laboratory Observations**, v. 137, p. 421-424, 2000.

Manejo da desnutrição grave: Um manual para profissionais de saúde de nível superior (médicos, enfermeiros, nutricionistas, e outros) e suas equipes de auxiliares. Organização Mundial da Saúde (OMS); Genebra, 1999.

MARTELETTI, O.; CALDARI, D.; GUIMBER, D.; MENTION, K.; MICHAUD, L.; GOTTRAND, F. Malnutrition screening in hospitalized children: influence of the hospital unit on its management. **Archives de Pédiatrie**, v. 12, n. 8, p. 1226-1231, 2005.

MASTORCI, F.; VICENTINI, M.; VILTART, O.; MANGHI, M.; GRAIANI, G.; QUAINI, F.; MEERLO, P.; NALIVAIKO, E.; MACCARI, S.; SGOIFO, A. Long-term effects of prenatal stress: Changes in adult cardiovascular regulation and sensitivity to stress. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews,** v.33, p. 191-203, 2009.

MEDEIROS, A., GIANOLLA, R.M.; KALIL, L.M.P.; BACURAU, R.F.P.; ROSA, L.F.B.C.; NEGRÃO, C.E.; BRUM, P.C. Efeito do Treinamento Físico com Natação sobre o Sistema Cardiovascular de Ratos Normotensos. **Revista Paulista de Educação Física**, v. 14, n. 1, p. 7-15, 2000.

MONTE, C.M.G. Desnutrição: um desafio secular à nutrição infantil**. Jornal de Pediatria**, v. 76, n. 3, p. 285-297, 2000.

MONTEIRO FM, LAHLOU S, ALBUQUERQUE JA, CABRAL AM. Influence of a multideficient diet from northeastern Brazil on resting blood pressure and baroreflex sensitivity in conscious, freely moving rats. Braz J Med Biol Res. 2001;34(2):271-80.

MONTEIRO, M.F. & SOBRAL FILHO, D.C. Exercício Físico e o Controle da Pressão Arterial. Rev **Bras Med Esporte** [online]. v. 10, n. 6, p. 513-516, 2004.

MORAES, R.S. Diretriz de Reabilitação Cardíaca. **Arq. Bras. Cardiol,** v. 84, n. 5, 2005.

MOY, R.J.D.; SMALLMAN, S.; BOOTH, I.W. Malnutrition in a UK children's hospital. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 3, n. 2, p. 93–100, 1990.

NASEEM, K.M. The Role of Nitric Oxide in Cardiovascular Diseases **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 1-2, p. 33-65, 2005.

NDEKHA, M.J. Kwashiorkor and Severe Acute Malnutrition in Childhood. **Lancet**, v. 371, p. 1748, 2008.

NEIVA, C.M.; GUERINO, M.R.; MELLO, M.A.R. Análise dos Efeitos da Desnutrição Protéico-calórica sobre as Respostas ao Exercício Agudo (Single Section) em Parâmetros metabólicos. **Motriz**. v. 1, n. 1, p. 1999.

NEU, J. Gastrointestinal Maturation and Implications for Infant Feeding, **Early Human Development,** v. 83, n. 12, p. 767-775, 2007.

O semi-árido Brasileiro e a segurança Alimentar e Nutricional de Crianças e Adolescentes. Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF). 2005.

OLIVEIRA, F.L.C.; OLIVEIRA, A.S.B.; SCHIMIDT, B.; AMÂNCIO, O.M.S. Desnutrição energética intra-uterina em ratos: alterações músculo-esqueléticas na 1ª e 2ª Gerações. **Jornal de Pediatria**, v.75, n.5, p. , 1999.

Organização Pan-Americana da Saúde **(OPAS/OMS)** - Brasil. Informativo. 2000.

PAIXÃO, A.D.O.; ALÉSSIO, M.L.; MARTINS, J.P.; 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, n. 4, p. 304-309, 2005.

PAIXÃO, A.D.O.; MACIEL, C.R.; TELES, M.B.B.; FIGUEIREDO-SILVA, J. Regional Brazilian Diet-induced Low Birth Weight Is Correlated With Changes in Renal Hemodinamics and Glomerular morphometry in Adult Age. **Biol Neonate,** v.80, p.239-246, 2001.

PASSOS, M.C.F.;RAMOS, C.F.; MOURA, E.G. Short and Long Term Effect of Malnutrition in Rats During Lactation on the Body Weightof Offspring. **Nutrition Research**, v.. 20, n.. I I, p. 1603-1612, 2000.

PAWELLEK, I.; DOKOUPIL, K. & KOLETZKO, B. Prevalence of Malnutrition in Paediatric Hospital Patients. **Clinical Nutrition,** v. 27, p. 72-76, 2008.

PELLETIER, D.L. & FRONGILLO, E.A. Changes in Child Survival are Strongly Associated with Changes in Malnutrition in Developing Countries. **Community and International Nutrition,** v. 133, p. 107-119, 2003.

PELLETIER, D.L.; FRONGILLO JR, E.A.; HABICHT, J.P. Epidemiologic Evidence for a Potentiating Effect of Malnutrition on Child Mortality. **American Journal of Public Health**, v. 83, n. 8, p. 1130-1133, 1993.

PESSOA, D.C.N.P.; LAGO, E.S.; TEODOSIO, R.N.; BION, M.F. Dietary proteins on reproductive performance in tree consecutivo generatios of rats. **Arch. Latinoam. Nutr**., v.50, n. 1, p. 55-61, 2000.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; RAKE, A.; MELCHIOR, K.; ROHDE, W.; DORNER, G. Hypothalamic Nuclei are Malformed in Weaning Offspring of Low Protein Malnourished Rat Dams. **J Nutr**, v. 130, p. 2582-2589, 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. Educ. Fís. Esp.** v.18, n. 1, p. 7-16, 2004.

RAPOPORT, R.M. & MURAD, F. Agonist-Induced Endothelium-Dependent Relaxation in Rat Thoracic Aorta May Be Mediated Through cGMP. **Circulation Research**, v. 52, p. 352-357, 1983.

SANT´HELENA, B.R.M. Pressão Arterial, Frequencia Cardíaca e sua Modulação Autonômica em Ratos Malnutridos em Diferentes Idades. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, 2008.

SARAIVA, L.R.; BRINDEIRO FILHO, D. & NORA, A.D. O Coração na Criança Portadora de Desnutrição Calórico-Protéica Severa. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 58, n. 5, p. 353-357, 1992.

SHERMAN RC, LANGLEY-EVANS SC. Early administration of angiotensin-converting enzyme inhibitor captopril, prevents the development of hypertension programmed by intrauterine exposure to a maternal low-protein diet in the rat. Clin Sci (Lond); 94(4):373-81, 1998

SILVA, R.G.; MELLO, M.A.R. Physical Activity and Low Protein Diet Intake During Pregnancy in Female Rats: Effects on Pregnancy Course and Fetal Development **Rev. paul. educ. fís**; v. 14 n. 2, p. 118-127, 2000.

SINGHAL, A & LUCAS, A. Early Origins of Cardiovascular Disease: is There a Unifying Hypothesis? **Lancet**, v.363, n. 9421, p. 1642-164, 2004.

SNOECK A, REMACLE C, REUSENS B, HOET JJ Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. Biol Neonate 1990; 57(2):107-18

TAPPIA, P.S.; NIJJAR, M.S.; MAHAY, A.; AROUTIOUNOVA, N.; DHALLA, N.S. Phospholipid Profile of Developing Heart of Rats Exposed to Low-protein Diet in Pregnancy. **American Journal of Phisiology**, v. 289, p. R1400-R1406, 2005.

TEODÓSIO, N.R.; LAGO, E,S,; ROMANI, S.A.M.; GUEDES, R.C.A. A Regional Basic Diet From Northeast Brazil as a Dietary Model of Experimental Malnutrition. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 40, n. 4, p. 533-547, 1990.

The State of the World´s Children. **UNICEF**. Oxford University Press. 1998

URBANO, F.O.S. Efeitos da Dieta Básica Regional Hipersódica Sobre Parâmetros hemodinâmicos, autonômicos cardíacos e bioquímicos em

Ratos em Diferentes fases do Desenvolvimento. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, 2006.

VELKOSKA E, COLE TJ, DEAN RG, BURRELL LM, MORRIS MJ. Early undernutrition leads to long-lasting reductions in body weight and adiposity whereas increased intake increases cardiac fibrosis in male rats. J Nutr. 2008; 138(9):1622-7.

VEHASKARI, V.M.; AVILES, D.H. & MANNING, J. Prenatal Programming of Adult Hypertension in the Rat. **Kidney international**, v.59, p. 238-245, 2001.

VICTORA, C.G.; ADAIR, L.; FALL, C.; HALLAL, P.C.; MARTORELLI, R.; RICHTER, L. Maternal and Child Undernutrition: Consequences for Adult Health and Human Capital. **Lancet**, v. 371, p. 340-357, 2008.

VIEIRA-FILHO, L.D.; LARA, L.S.; SILVA, P.A.; LUZARDO, R.; EINICKER-LAMAS, M.; CARDOSO, H.D.; PAIXÃO, A.D.O.; VIEYRA, A. Placental Oxidative Stress in Malnourished Rats and Changes in Kidney Proximal Tubule Sodium Atpases in Offspring. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 36, n. 12, p. 1157-1163, 2009.

VOLTARELLI, F. A.; MELLO, M.A.R. & DUARTE, J.A.R. Skeletal Muscle Atrophy and Experimental Models: Apoptosis and Histological, Biochemical and Metabolic Changes **R. da Educação Física/UEM**, ,v. 18, n. 1, p. 85-95, 2007.

WAITZBERG, D.L.; CAIAFFA, W.T. & CORREIA, I.T.D. Hospital Malnutrition: The Brazilian National Survey (IBRANUTRI): A Study of 4000 Patients. **Applied nutritional investigation**, v. 17, p. 573-580, 2001.

WHELTON, S.P.; CHIN, A.; XIN, X.; HE, JIANG. Effect of Aerobic Exercise on Blood Pressure: A Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials **Ann Intern Med.** v. 136 p. 493-503, 2002.

WIDDOWSON, E.M. & MCCANCE, R.A. A Review: New Thoughts on Growth. **Pediat. Res.**, v.9, p. 154-156, 1975.

WOODAL, S.M.; JOHNSTON, B.M.; BREIER, B.H.; GLUCKMAN, P.D. Chronic Maternal Undernutrition in the Rat Leads to Delayed Postnatal Growth and Elevated Blood Presssure of Offspring. **Pediatric Research**, v. 40, n. 3, p. 438-443, 1996.

WOODS, L.L.; WEEKS, D.A. & RASCH, R. Programming of Adult Blood Pressure by Maternal Protein Restriction: Role of Nephrogenesis. **Kidney International**, v. 65, p. 1339-1348, 2004.

WU, B.; IWAKIRI, R.; Tsunada, S.; Utsumi, H.; Kojima, M.; Fujise, T.; Ootani, A.; FUJIMOTO, K. Inos Enhances Rat Intestinal Apoptosis after Ischemia-Reperfusion **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, n. 5, p. 649-658, 2002.