

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

IALLY FABIANE DA SILVA

**Desnutrição Perinatal e Manipulação Nutricional: Repercussões sobre o
sistema respiratório e bioquímico**

Vitória de Santo Antão
2016

IALLY FABANE DA SILVA

Desnutrição Perinatal e Manipulação Nutricional: Repercussões sobre o sistema respiratório e bioquímico

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Professor Dr. João Henrique da Costa Silva

Coorientação: Ms. Viviane de Oliveira Nogueira.

Vitória de Santo Antão

2016

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV
Bibliotecária Ana Lúcia Feliciano dos Santos - CRB-4/2005

S586d Silva, Ially Fabiane da.

Desnutrição Perinatal e Manipulação Nutricional: Repercussões sobre o sistema respiratório e bioquímico - Vitória de Santo Antão, 2016.

48 f.: il., graf.; tab.

Orientador: João Henrique da Costa Silva.

Coorientadora: Viviane de Oliveira Nogueira.

TCC (Bacharelado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Núcleo de Nutrição, 2016.

Inclui bibliografia.

1. Desnutrição proteica. 2. Animais Recém-Nascidos. 3. Reações Bioquímicas. I. Silva, João Henrique da Costa (Orientador). II. Nogueira, Viviane de Oliveira (Coorientadora). III. Título.

616.39 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-107/2016

Ially Fabiane da Silva

Desnutrição Perinatal e Manipulação Nutricional: Repercussões sobre o sistema respiratório e bioquímico

Aprovado em: 18 de Julho de 2016

Orientador: Profº. Dr. João Henrique da Costa Silva

Co-orientadora: Ms. Viviane de Oliveira Nogueira

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Sebastião Rogério de Freitas Silva
Universidade Federal de Pernambuco
Centro Acadêmico de Vitória

Yves Tourneur
Université Claude Bernard – Lyon, França

David Filipe de Santana
Universidade Federal de Pernambuco
Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento

Dedico meu TCC a todos aqueles que possibilitaram a realização deste trabalho, e mais que isso, da realização do meu sonho de ser nutricionista. Os obstáculos e as críticas foram muitos, mas foram impulsionadores da minha vitória. Por fim, dedico meu trabalho a Deus, aos meus pais, aos meus professores, aos meus colaboradores, aos meus amigos e colegas.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças para jamais desistir e chegar até aqui.

Aos meus pais, pela compreensão e pelo incentivo na carreira acadêmica.

Ao meu orientador, pela paciência e pela credibilidade para comigo.

Aos meus professores, pois foram verdadeiros educadores e exemplos de dedicação à vida acadêmica.

A todos que me ajudaram em todas as etapas de desenvolvimento do meu TCC, pois sem as colaborações seria impossível a conclusão deste trabalho.

Aos meus supervisores técnicos do estágio, pois foram para mim reais exemplos de amor a profissão, além da paciência em repassar os conhecimentos práticos.

Aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado e entenderam minha ausência durante o desenvolvimento do trabalho.

RESUMO

Estudos evidenciam que ratos provenientes de mães submetidas à desnutrição proteica perinatal apresentam alterações respiratórias no início da vida. Entretanto, é incerto em que momento da vida surgem essas alterações e como a ingestão dietética pós-desmame é capaz de influenciar os parâmetros respiratórios. Avaliar os efeitos de uma dieta hipoproteica ou normoproteica pós-desmame sobre o padrão respiratório, bioquímico e ganho de peso de ratos jovens provenientes de mães submetidas à dieta hipoproteica perinatal. Utilizamos ratos Wistar (1, 5, 7, 14, 21, 30 dias de vida) provenientes de mães submetidas à dieta normoproteica (17% de proteína, NP) ou hipoproteica (8% de proteína, HP) no período perinatal. Após o desmame, os animais foram subdivididos em 5 grupos, nomeados de acordo com a dieta recebida a partir do 22º dia de vida: NP.labina (dieta NP durante período perinatal + dieta comercial labina após o desmame), NP.NP (dieta NP + dieta NP), HP.labina (dieta HP + dieta comercial labina), HP.NP (dieta HP + dieta NP), HP.HP (dieta HP + dieta HP). Por pletismografia de corpo inteiro, realizamos os registros dos parâmetros ventilatórios: volume corrente (VT), volume minuto (VE) e frequência respiratória (FR), além do acompanhamento do peso corpóreo durante o 1º, 5º, 7º, 14º, 21º, 30º dias de vida. No 21º e 30º dia, amostras de sangue foram coletadas para análises de proteínas totais e albumina. Todos procedimentos e protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Uso Animal da UFPE (23076.021688/2015-78). Os dados estão expressos em média $\pm$ EPM, usou-se teste T de Student e $p < 0.05$. Do 5º ao 14º dia de vida, observamos uma menor FR nos HP se comparados aos NP. No entanto, aos 30º dias, observa-se que houve um aumento na FR nos animais desnutridos não observado nas idades anteriores. O grupo HP.labina teve os maiores valores de FR, seguidos dos grupos NP.NP e HP.NP aos 30 dias (NP.labina: 107.8 ± 2.8 , $n=9$; HP.labina: 126.6 ± 7.1 , $n=10$; NP.NP: 113.8 ± 3.3 , $n=14$; HP.NP: 121.2 ± 5.1 , $n=13$; HP.HP: 103.3 ± 3.0 , $n=8$ resp.min⁻¹). A partir do 7º dia (NP: 13.2 ± 0.2 , $n=36$ vs. HP: 11.4 ± 0.3 , $n=49$ g) é possível observar uma redução no peso dos animais desnutridos (14º: NP: 25.3 ± 0.7 , $n=34$ vs. HP: 19.77 ± 0.6 , $n=49$; 21º: NP: 42.8 ± 0.9 , $n=32$ vs. HP: 28.8 ± 0.7 , $n=46$ g) que se mantém até o 30º dia (NP.labina: 77.5 ± 2.5 , $n=9$; HP.labina: 53.9 ± 1.6 , $n=11$; NP.NP: 75.3 ± 2.8 , $n=14$; HP.NP: 56.9 ± 3.2 , $n=13$; HP.HP: 43.0 ± 1.4 , $n=8$; g). Em relação aos parâmetros bioquímicos analisados, no 21º e no 30º dia, os animais HP apresentaram hipoalbuminemia e redução nas concentrações séricas de proteínas. A desnutrição proteica perinatal foi capaz de causar alterações no peso, nos parâmetros bioquímicos e também na FR. Já o consumo de labina pós-desmame, induziu um aumento de FR nos animais desnutridos, demonstrando que o ambiente perinatal diferente do ambiente pós-natal, eleva o risco de desenvolver consequências deletérias na vida adulta.

Palavras-chave: Desnutrição proteica perinatal. Neonatos. Alterações respiratórias. Alterações bioquímicas.

Abstract

Recent studies show that rats from mothers undergoing perinatal protein malnutrition, have respiratory distress in early life. However, it is uncertain on what time of life come these changes and how dietary intake in the post-weaning can influence the respiratory parameters. To assess the effects of a low protein diet or a normal protein after weaning on breathing pattern, biochemical and rats gain weight youngsters from mothers undergoing perinatal hypoproteic diet. We used Wistar rats (1, 5, 7, 14, 21, 30 days) from mothers undergoing normal protein diet (17% protein, NP) or low proteic (8% protein, HP) in the period perinatal. In the post-weaning period, the animals were divided into 5 groups, named according to the received diet from the 22th day of life: NP.labina (NP diet during the perinatal period + Labina commercial diet after weaning), NP.NP (NP + NP diet), HP.labina (HP + Labina commercial diet), HP.NP (HP + NP diet), HP.HP (HP + HP diet). By whole body plethysmography were performed records of ventilatory parameters: tidal volume (VT), minute ventilation (VE) and respiratory rate (FR), and the monitoring of body weight during 1, 5, 7, 14, 21, 30 days of life. At 21 and 30 days, blood samples were collected for analysis of total protein and albumin. All procedures and experimental protocols were approved by the Ethics Committee and Animal Use the UFPE (23076.021688 / 2015-78). Data are expressed as mean $\pm$ SEM test was used T Student and $p < 0.05$. From the 5th to the 14th day of life, we observed a lower FR HP compared to the NP. However, at 30 days, it was observed that there was an increase in RF malnourished animals in not observed in earlier ages. The HP.labina group the highest FR values, followed by NP.NP and HP.NP groups by 30 days (NP.labina: 107.8 ± 2.8 , $n = 9$; HP.labina: 126.6 ± 7.1 , $n = 10$; NP.NP: 113.8 ± 3.3 , $n = 14$; HP.NP: 121.2 ± 5.1 , $n = 13$; HP.HP: 103.3 ± 3.0 , $n = 8$ resp.min⁻¹). From the 7th day (NP: 13.2 ± 0.2 , $n = 36$ vs. HP: 11.4 ± 0.3 , $n = 49$ g) you can see a reduction in weight of the malnourished animals (14: NP: 25.3 ± 0.7 , $n = 34$ vs. HP: 19.77 ± 0.6 , $n = 49$; 21: NP: 42.8 ± 0.9 , $n = 32$ vs. HP: 28.8 ± 0.7 , $n = 46$ g) which remains until the 30th day (NP.labina: 77.5 ± 2.5 , $n = 9$; HP.labina: 53.9 ± 1.6 , $n = 11$; NP.NP: 75.3 ± 2.8 , $n = 14$; HP.NP: 56.9 ± 3.2 , $n = 13$; HP.HP: 43.0 ± 1.4 ; $n = 8$ g). The biochemical parameters analyzed, the 21st and 30th day, the animals showed HP hypoalbuminemia and reduction in serum proteins. Perinatal protein malnutrition was able to cause weight changes in biochemical parameters and also in FR. The consumption of Labina and postweaning NP diet up, induced an increase in FR malnourished animals, demonstrating that different perinatal environment postnatal environment, increases the risk of deleterious effects later in life.

Keywords: perinatal protein malnutrition. Neonates. respiratory changes.

Biochemical changes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 - Composição nutricional das dietas experimentais Normoproteica (17% de proteína) e Hipoproteica (8% de proteína), segundo o Instituto Americano de Nutrição-AIN-93.	22
Gráfico 1.A – Curva de Evolução Ponderal	27
Gráfico 1.B – Avaliação do peso corpóreo da prole de ratos	28
Gráfico 2.A – Representação gráfica dos valores referentes ao níveis séricos de proteínas totais	29
Gráfico 2.B – Representação gráfica dos valores referentes aos níveis séricos de proteínas totais	30
Gráfico 3.A – Representação gráfica dos valores referentes aos níveis séricos de albumina	31
Gráfico 3.B – Representação gráfica dos valores referentes aos níveis séricos de albumina	32
Gráfico 4.A – Avaliação da frequência respiratória	33
Gráfico 4.B – Avaliação da frequência respiratória	34
Gráfico 5.A – Avaliação do volume corrente	35
Gráfico 5.B – Avaliação do volume corrente	37
Gráfico 6.A – Avaliação Da ventilação pulmonar	36
Gráfico 6.B – Avaliação Da ventilação pulmonar	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CO ₂	Dióxido de Carbono
FR	Frequência Respiratória
g	gramas
g/dL	gramas por decilitro
GABA	Ácido Gama-aminobutírico
GABA _B	Receptor de GABA subunidade b
Glu	Glutamato
GluR2	Receptor de glutamato metabotrópico subunidade 2
H ⁺	Hidrogênio
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HP	Dieta hipoproteica
kD	quilo Daltóns
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lipoproteína lipase
mg/dL	miligramas por decilitro
mL/Kg ⁻¹	mililitros por quilo de peso corporal
mL.Kg ⁻¹ .min ⁻¹	mililitros por quilo de peso corporal por minuto
NMDA	N-metil-D-Aspartato-Receptor de glutamato ionotrópico
NP	Dieta Normoproteica
O ₂	Oxigênio
pH	Potencial Hidrogeniônico
resp.min ⁻¹	respiração por minuto
VE	Ventilação Pulmonar
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VT	Volume Corrente

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3 JUSTIFICATIVA	14
4 REVISÃO DA LITERATURA	15
4.1. Desnutrição Proteica Perinatal e Alterações Respiratórias	15
4.2 Desnutrição Proteica Perinatal e Plasticidade Fenotípica	16
4.3 Maturação do Sistema Respiratório	17
4.4 Desnutrição e Perfil Bioquímico	19
5 MATERIAL E MÉTODOS	22
5.1 Animais	22
5.2 Dietas e Indução da Desnutrição Proteica	22
5.4 Medidas de Peso Corporal	25
5.5 Análise Bioquímica	24
5.6 Medidas de Ventilação Pulmonar	24
5.7 Análise Estatística	26
6 RESULTADOS	27
7 DISCUSSÃO	39
8 CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

O tema desnutrição proteica chama atenção por nos instigar a pensar sobre quais os possíveis efeitos que esta condição teria sobre a homeostase corporal. Sabe-se da importância de um correto aporte proteico na dieta, levando em consideração o seu papel estrutural, além de participarem da formação de hormônios, enzimas e anticorpos (NELSON et al, 2002).

Além disso, tem sido relatada a importância da proteína durante o período de desenvolvimento embrionário (BRITO-ALVES et al. 2014). Os períodos críticos do desenvolvimento, tais como gestação, lactação e primeira infância, caracterizam-se por refletirem uma maior necessidade no consumo de proteínas proveniente da dieta. Com o intuito de tentar evidenciar os principais efeitos de uma dieta inadequada durante os períodos críticos do desenvolvimento, bem como os principais mecanismos geradores de doenças na vida adulta, alguns modelos de desnutrição, como redução no teor proteico da dieta, têm sido utilizados (LUZARDO et al., 2011).

Estudos recentes do nosso laboratório têm observado que animais provenientes de mães submetidas à desnutrição durante o período perinatal (gestação e lactação) apresentam no início da vida adulta (90 dias de vida) índices elevados de pressão arterial, além disso têm sido observado também que esses animais nos primeiros dias de vida (30 dias) apresentam alterações no padrão ventilatório basal e no controle reflexo da respiração, antes de desenvolverem hipertensão arterial (BRITO-ALVES et al., 2014). Sugerindo que as alterações ventilatórias observadas no início da vida dos indivíduos desnutridos, podem estar relacionadas com o subsequente estabelecimento de hipertensão arterial. Entretanto, ainda não se sabe a partir de qual momento da vida iniciam-se tais alterações respiratórias.

Tem sido evidenciado (dados não publicados) que a prole de ratos provenientes de mães submetidas à desnutrição proteica perinatal apresentam diminuição da frequência respiratória (FR) durante o período de lactação, entretanto após o desmame, momento em que os animais deixam de consumir uma dieta hipoproteica e iniciam o consumo de uma dieta padrão para animais de biotério, os

indivíduos desnutridos apresentam uma mudança drástica do padrão respiratório, saindo de uma redução de FR para um aumento da FR. Esses dados sugerem que a troca da dieta (de um meio hipoproteico para normoproteico) pode ser a principal causa para o desenvolvimento deste aumento de FR.

Diante destes resultados preliminares, nos propomos avaliar os efeitos de uma dieta hipoproteica, normoproteica ou labina pós desmame sobre o padrão respiratório de ratos Wistar jovens provenientes de ratas submetidas à desnutrição proteica durante a gestação e lactação. Além disso, avaliar os parâmetros bioquímicos, afim de confirmar o quadro de desnutrição proteica e o ganho de peso corpóreo.

Nossa hipótese de trabalho consiste em que a desnutrição protéica perinatal causa um aumento de FR gerado por modificações no ambiente pós-natal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos de diferentes tipos de dieta pós desmame sobre o padrão respiratório, bioquímico e ganho de peso de ratos jovens provenientes de mães submetidas à dieta hipoproteica durante a gestação e lactação.

2.2 Objetivos Específicos

Em ratos neonatos, provenientes de mães submetidas à desnutrição proteica durante o período perinatal:

- Acompanhamento de peso corporal.
- Analisar os parâmetros bioquímicos: níveis séricos de albumina e proteínas totais
- Averiguar os parâmetros ventilatórios: frequência respiratória, volume corrente e ventilação pulmonar.

3 JUSTIFICATIVA

O presente estudo surgiu da necessidade de investigar se a manutenção de um estado de desnutrição do período perinatal até o período pós-desmame seria capaz de causar um processo de adaptação e minimizar possíveis consequências deletérias à longo prazo. Tendo em vista a situação atual de milhares de indivíduos que sofrem de carências nutricionais já na vida intrauterina, pode-se afirmar que este é um problema de saúde pública. É de suma importância estudar mais profundamente como seria a vida pós-natal e como reverter os efeitos da privação de nutrientes, afim de assegurar um correto crescimento e desenvolvimento sem aparecimento de doenças na vida adulta.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1. Desnutrição Proteica Perinatal e Alterações Respiratórias

As fases de crescimento e desenvolvimento do indivíduo, tal como gestação e lactação, são conhecidas como períodos de rápida proliferação e diferenciação celular. Tem sido amplamente descrito na literatura através de diversos estudos epidemiológicos, que a desnutrição no ambiente perinatal causa baixo peso ao nascer e pode predispor esses indivíduos ao desenvolvimento de doenças de cunho metabólico, dentre elas a hipertensão arterial sistêmica (OJEDA et al. 2008; BRITO-ALVES, 2015).

Além destes estudos epidemiológicos, estudos experimentais têm demonstrado que a diminuição no conteúdo proteico da dieta (6-9 % g/g) da mãe durante a gestação (MESQUITA et al., 2010), lactação (LUZARDO et al., 2011) ou após o desmame (COSTA-SILVA et al., 2009) pode aumentar os níveis basais de pressão arterial na prole. Neste sentido, nosso laboratório tem se detido a investigar animais provenientes de mães que sofreram desnutrição proteica (8% de proteína) no período perinatal e tem observado que a partir do 3º mês de vida, os animais exibem níveis pressóricos aumentados, o qual perdura até a fase adulta (BRITO-ALVES et al., 2014; BARROS; BRITO-ALVES 2015; BRITO-ALVES et al., 2015).

Nesta perspectiva, estudos de nosso laboratório têm demonstrado que estes animais, além de apresentarem aumento nos níveis pressóricos, exibem um aumento no ritmo respiratório basal e na quimiossensibilidade ao CO₂ aos 30 dias de vida, porém ocorre uma normalização destes parâmetros após os 90 dias (NOGUEIRA et al., 2012; BRITO-ALVES et al., 2014). Segundo Harkema (1984) em estudos com ratos e também com cobaias (LECHNER; WINSTON; BAUMAN, 1986) que sofreram desnutrição à longo prazo, apontam que se desencadeia um processo de redução das áreas de troca gasosa nos alvéolos pulmonares que possivelmente está associado a destruição das paredes alveolares (SAHEBJAMI; VASSALLO, 1979; KERR et al., 1985). Tais alterações na estrutura do parênquima pulmonar assim como nos músculos responsáveis pela respiração desencadeiam prejuízo na

complacência pulmonar, o que proporcionalmente altera a sua mecânica respiratória (DIAS et al, 2004).

4.2 Desnutrição Proteica Perinatal e Plasticidade Fenotípica

A hipótese de origem fetal da doença no adulto tem sido fundamentada no conceito de “fenótipo econômico” ou “thrifty phenotype”, na qual o feto é capaz de se adaptar e sobreviver em um ambiente de pobre nutrição, mesmo que para isso seja preciso reduzir seu crescimento somático (HALES; BARKER, 2001). Essa flexibilidade de ajustar a trajetória de crescimento em resposta a diferentes condições ambientais é denominada plasticidade do desenvolvimento, situação na qual o genótipo pode produzir diferentes fenótipos (HANSON et al., 2011).

Estas adaptações imediatas podem alterar os fenótipos da prole de uma forma prejudicial, repercutindo na vida adulta com aumento do risco de doenças crônicas, como diabetes tipo 2, hipertensão e doença coronariana (GLUCKMAN et al., 2009). Para Gluckman, o feto se adapta e prediz o ambiente pós-natal no qual ele irá se desenvolver, através de um processo denominado de resposta adaptativa preditiva (HANSON; GLUCKMAN, 2008). Essa relação entre ambiente pré-natal e a previsão do ambiente futuro pós-natal tem como característica principal ajustar os fenótipos da prole para satisfazer otimamente os desafios impostos pelo ambiente (HANSON; GLUCKMAN, 2008). Extrapolando então para a desnutrição durante a gestação, os fenótipos da prole são ajustados para prever um ambiente pós-natal de insuficiência nutricional. Quando o ambiente pré-natal é semelhante ao ambiente pós-natal – “Match”, menor é o risco de aparecimento de doenças na vida adulta. No entanto, quando o ambiente pré-natal não coincide com o pós-natal (a exemplo da desnutrição na gestação e fartura nutricional na vida pós-natal) – “Mismatch”, maior o risco de desenvolver doenças crônicas (GLUCKMAN et al., 2005).

Essa incompatibilidade entre ambiente pré e pós-natal induz obesidade, resistência à insulina e leptina, disfunção endotelial vascular e hipertensão em modelos experimentais (VICKERS et al., 2003). Em roedores, tem sido demonstrado que processos epigenéticos, como mudanças na metilação de DNA em específicos dinucleotídeos (cistina e guanina) e também em estruturas de histonas,

desempenham uma importante função na compreensão desses efeitos acima citados. Já foi evidenciado que uma hipometilação do DNA na prole de ratos submetidos à insuficiente aporte nutricional durante a gestação é correlacionado com um aumento de doenças cardiovasculares, tais como hipertensão arterial (GICQUEL et al., 2008; HIRST; MARRA, 2009).

A corrente de Jonathan Wells destaca que o baixo peso ao nascer e a trajetória de crescimento são os principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças metabólicas, ou seja, crianças com baixo peso ao nascer e uma rápida trajetória ou catch-up de crescimento, em outras palavras, um acelerado ganho de peso e gordura, resulta em uma alta carga metabólica para as funções fisiológicas dessas crianças, sendo um fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas (WELLS, 2007). Para corroborar com essa hipótese, Wells tem recentemente proposto um modelo conceitual entre desnutrição materna e o risco de doenças dos filhos, baseado em características fenotípicas. Para Wells, os fenótipos apresentam uma capacidade metabólica, variedade de aspectos estruturais e funcionais de órgãos e sistemas que emergem da vida fetal e infância, e uma carga metabólica, carga imposta pelos tecidos e sua condição fisiológica sobre a capacidade metabólica homeostática (WELLS, 2011). O conceito é que a desnutrição durante a gestação e/ou lactação pode reduzir a capacidade metabólica fenotípica dos filhos e uma vez que estes são impostos a um ambiente de alta carga metabólica, dietas hiperlipídicas, hiperglicêmicas e sedentarismo, a relação capacidade x carga entraria em desequilíbrio, predispondo o aparecimento de doenças na progênie. No entanto, não se sabe o momento em que a balanço capacidade x carga desequilibra, visto que cada indivíduo detém uma particularidade fisiológica, podendo esse desequilíbrio se expressar a curto ou em longo prazo (WELLS, 2011).

4.3 Maturação do Sistema Respiratório

Nos mamíferos, a respiração se inicia antes do nascimento, contudo, sofre mudanças durante o início da vida pós-natal. O período crítico de desenvolvimento dos quimiorreceptores respiratórios periférico, também chamado de corpo carotídeo,

está intimamente relacionado com a maturação do sistema respiratório. Sabe-se que o corpo carotídeo recebe aferências provenientes do nervo glossofaríngeo e as envia para diversos núcleos cerebrais responsáveis pelo controle cardiorrespiratório, como por exemplo o Núcleo do Trato Solitário (WONG-RILEY, et al. 2013).

Durante o primeiro dia de vida, os neonatos mesmo em normóxia apresentam, a frequência respiratória (FR) moderadamente alta. Sugere-se que isso ocorra para compensar a deficiência na troca gasosa por causa da limitada superfície alveolar (BURRI, 1974; WONG-RILEY et al. 2013). Desse modo, no 1º dia de vida, os níveis da resposta ventilatória/taxa de consumo de O₂ bem como a relação resposta ventilatória/produção de CO₂ encontram-se bem elevados (LIU et al., 2009; WONG-RILEY et al. 2013).

Por conseguinte, do 2º ao 7º dia de vida durante a normóxia, a taxa metabólica encontra-se aumentada para satisfazer os requisitos do crescimento tecidual. A FR está reduzida, bem como os níveis da resposta ventilatória/taxa de consumo de O₂ e a relação resposta ventilatória/produção de CO₂ também encontram-se diminuídos, embora estáveis, o que indica uma otimização na convecção de gás (BENNETT; HICKS, 2001; LIU et al., 2009). Isso implica em afirmar que a rede de controle respiratório é, neste momento, mais eficiente no processo de modulação da ventilação para se adequar as necessidades de desenvolvimento dos pulmões, além das necessidades metabólicas do corpo.

A segunda e terceira semana pós-natal, nos ratos, são caracterizadas por uma relativa maturação do corpo carotídeo e ainda, uma maturação das vias respiratórias do tronco encefálico. É importante destacar que durante a normóxia, a FR aumenta no 13º dia de vida, seguida de um declínio gradual deste parâmetro respiratório. O volume corrente (VT) e a ventilação pulmonar (VE) aumentam de modo considerável na segunda semana, posterior a um aumento progressivo de VT e um relativo platô em VE (LIU et al., 2006; WONG-RILEY et al. 2013). Desse modo, é possível afirmar que a ventilação pulmonar está em processo de amadurecimento no período que corresponde a segunda e terceira semanas pós-natais.

Em relação ao desenvolvimento neuroquímico, a segunda e terceira semana pós-natais compreende um período de aumento de neurotransmissões excitatórias ocasionadas devido ao aumento da expressão do glutamato. A subunidade de receptor de NMDA requer um equilíbrio ou uma elevação de acordo com a fase da

vida. No entanto, os receptores de GABA e GABA_B diminuem com o tempo. Contudo, o aparecimento de receptores glicinérgicos frequentemente aumentam com a idade, e a expressão de GluR2 não aumentam, estabilizam ou reduzem com a idade (LIU; WONG-RILEY, 2002, 2005). Estes eventos interligam-se bem com um aumento geral na atividade da citocromo oxidase observada ao passar do tempo nos núcleos do tronco cerebral (LIU; WONG-RILEY, 2002; 2003; WONG-RILEY et al., 2013). O desenvolvimento neuroquímico está intimamente ligado a maturação do sistema respiratório, observando-se a forte influência que o primeiro exerce sobre o segundo.

4.4 Desnutrição e Perfil Bioquímico

O processo de desenvolvimento fetal é bastante complexo, e depende das interações que ocorrem entre nutrientes, hormônios e também fatores de crescimento. A desnutrição é capaz de causar alterações sobre o metabolismo de carboidratos, lipídeos e de proteínas. Tais efeitos podem ser observados através da análise das concentrações de metabólitos no sangue (BORTOLINI, 2005).

O processo de angiogênese durante o desenvolvimento sofre os efeitos da dieta pobre em conteúdo protéico. Langley-Evans (1994), relata que a atividade da enzima placentária 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase encontra-se reduzida em condições de restrição protéica, o que acarreta em uma facilitação na passagem de glicocorticóides para o feto. Sabe-se que esses hormônios induzem a uma diminuição na vascularização de órgãos nobres, como coração, pâncreas e cérebro, inibindo a angiogênese (CRUM et al., 1985), e consequentemente reduzindo a quantidade de nutrientes ofertada, entre eles os aminoácidos (GORMAN et al., 1996).

Dentre as reações a deficiência de proteínas, pode-se citar também a mobilização de aminoácidos essenciais teciduais, com a finalidade de que o fígado consiga manter a homeostase. Por exemplo, a albumina sintetizada no fígado de RATos desnutridos é significativamente menor que de animais que receberam dieta normal (KIRSCH et al., 1968; TOVAR et al. 1998).

As proteínas plasmáticas predominantes são albumina, globulinas e o fibrinogênio. Desempenham múltiplas funções, entre elas a regulação da pressão osmótica e da viscosidade sanguínea, o transporte de nutrientes, metabólitos, hormônios e produtos de excreção, manutenção do pH sanguíneo e a atuação na coagulação do sangue (ORTOLANI et al. 2002; GONZÁLEZ et al., 2002).

As proteínas sanguíneas são sintetizadas principalmente pelo fígado, considerando que a taxa de síntese é diretamente proporcional ao estado nutricional do indivíduo, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A, além da funcionalidade hepática (ORTOLANI et al., 2002; GONZÁLEZ et al., 2002).

Como mencionado anteriormente, os níveis séricos de proteínas totais são capazes de refletir o estado nutricional do indivíduo. Quando diminuídos, podem significar síndrome de má absorção, enteropatias, subnutrição entre outros estados metabólicos (ORTOLANI et al., 2002; GONZÁLEZ et al., 2002).

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, compondo aproximadamente de 50% do total de proteínas. Tem um peso molecular aproximado de 66 kD. A sua síntese é hepática e auxilia em 80% da osmolaridade do plasma sanguíneo, é uma importante reserva proteica, além de atuar como um transportador de ácidos graxos livres, metais, aminoácidos, cálcio, hormônios e bilirrubina. É de suma importância no mecanismo regulatório do pH sanguíneo, desempenhando função de um ânion (DOWEIKO; NOMPLEGGI, 1991; ORTOLANI; SCHEFFER, 2002; SANTOS et al., 2004;).

Os níveis séricos de albumina podem revelar o conteúdo de proteína na dieta, ainda que as alterações sejam detectadas paulatinamente. Para a determinação de variações consideráveis na concentração de albumina plasmática é preciso no mínimo um intervalo de tempo de 30 dias, pela velocidade baixa de síntese e também de degradação. Níveis de albumina diminuídos, podem indicar deficiência protéica. A hipoalbuminemia pode afetar o metabolismo de outras substâncias devido ao papel da albumina como transportador, além de causar queda da pressão osmótica do plasma e levar a ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 20 g/l (WHICHER; SPENCE, 1987; SANTOS et al., 2004).

Diante desses achados, é possível observar a importância de avaliar os níveis séricos dos parâmetros bioquímicos listados anteriormente, bem como, sua direta

relação com o estado nutricional. A influência da dieta no estado nutricional investigada através da análise bioquímica é uma ferramenta largamente utilizada em vários outros estudos experimentais entre eles, o de Miñana-Solis & Escobar, 2008, que constatou que dieta hipoproteica no período perinatal e pós-desmame pode predispor os indivíduos a desenvolver doenças metabólicas como diabetes mellitus tipo II e síndrome metabólica na vida adulta.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar provenientes do biotério do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com água e ração *ad libitum*. A temperatura e a umidade foram mantidas dentro dos limites de 22 a 25 °C e 55 a 65 %, respectivamente. Os protocolos e procedimentos experimentais foram aprovados (23076.021688/2015-78) pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

5.2 Dietas e Indução da Desnutrição Proteica

Para a manipulação nutricional foram utilizados dois tipos de dieta, classificadas de acordo com a AIN-93 (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993): Conforme a **Tabela 1**.

Tabela 1- Composição nutricional das dietas (g/100g de dieta)¹

Nutrientes	Normoproteica	Hipoproteica
	(17% de proteína)	(8% de proteína)
Caseína (85%)*	20	9,41
Amido dextrinizado	13,2	13,2
Celulose	5	5
Sacarose	10	10
Amido de milho	39,74	50,34
Óleo de soja	7	7
Colina	0,25	0,25
Metionina	0,3	0,3
Mix vitamínico	1	1
Mix mineral	3,5	3,5
BHT [#]	0,001	0,001

Densidade energética (kJ/g)	16,26	16,26
-----------------------------	-------	-------

¹ Baseado na AIN-93.

* A caseína utilizada para preparação das dietas tinha 85% de pureza.

Butihidroxitolueno

Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Nota: REEVES, 1993.

18 Ratas primíparas foram acasaladas com ratos na proporção de 2:1. A observação da presença de espermatozóides no esfregaço vaginal foi usada para definir o 1º dia de prenhez. A partir da determinação da prenhez, as ratas foram colocadas em gaiolas individuais e alocadas aleatoriamente em suas respectivas dietas.

- Grupo NP: Recebeu dieta normoproteica (17% de proteína) durante todo o período de gestação (aproximadamente 21 dias) e de lactação (21 dias);

- Grupo HP: Recebeu dieta hipoproteica (8% de proteína) durante todo o período de gestação (aproximadamente 21 dias) e de lactação (21 dias).

A prole proveniente destas fêmeas foi reduzida a 8 ratos machos por ninhada. Após o desmame (a partir do 22º dia de vida), os animais foram subdivididos em 5 grupos experimentais de acordo com a dieta recebida no período pós-desmame:

- NP.labina: Recebeu dieta NP durante o período perinatal e após o desmame até os 30 dias de vida recebeu dieta comercial para animais de biotério (labina);
- NP.NP: Recebeu dieta NP durante o período perinatal e após o desmame até os 30 dias de vida recebeu dieta NP;
- HP.labina: Recebeu dieta HP durante o período perinatal e após o desmame até os 30 dias de vida recebeu dieta comercial para animais de biotério (labina);
- HP.HP: Recebeu dieta HP durante o período perinatal e após o desmame até os 30 dias de vida recebeu dieta HP;
- HP.NP: Recebeu dieta HP durante o período perinatal e após o desmame até os 30 dias de vida recebeu dieta NP;

Após o desmame os progenitores foram eutanasiados por overdose de anestésico (pentobarbital sódico, 40mg/Kg). Além disso, a prole de fêmeas também foram eutanasiadas com overdose de anestésico. Caso a ninhada apresentasse menos de 8 ratos machos, fêmeas eram utilizadas para padronização do tamanho da ninhada. Ao todo utilizamos 171 animais, contando com os genitores, as matrizes e os filhotes com os quais foram feitas as avaliações funcionais. Os estudos funcionais foram realizados no 1º, 5º, 7º, 14º 21º e 30º dia de vida.

5.3 Medidas de Peso Corporal

As medidas de peso corporal dos filhotes foram obtidas a partir da utilização de uma balança digital analítica com precisão de 0,1 g (AS 5000c). Os pesos foram obtidos no 1º, 5º, 7º, 14º, 21º e 30º dias de vida.

5.4 Análise Bioquímica

As amostras de sangue dos animais foram obtidas no 22º (dia do desmame) e no 30º dia de vida. Os animais foram submetidos a um período de 12 horas de jejum (20:00 - 08:00 h), mantidos em suas respectivas gaiolas dentro do biotério, contendo água *ad libitum*. Foram analisados os seguintes parâmetros: proteínas totais e albumina, utilizando Kits da Labtest.

A coleta de sangue foi realizada a partir da perfuração no plexo orbital dos animais através da utilização de um capilar de 1,0/1,5 mm. Os mesmos foram anestesiados com ketamina (80 mg/kg, i.p.) e xilazina (10 mg/kg, i.p.) antes de se iniciarem os procedimentos da coleta. Foram coletadas aproximadamente 0,5 mL de sangue que eram transferidas do capilar diretamente para um tubo estéril de 2 mL (Eppendorf). Em seguida, os tubos foram colocados em uma centrífuga (Vision:VS-15000 CFN II) por 10 minutos em uma velocidade de 3500 rpm. Logo após, o soro foi separado para posteriores análises bioquímicas.

5.5 Medidas da ventilação pulmonar

As medidas de ventilação foram obtidas por pletismografia de corpo inteiro, em um sistema fechado (MALAN, 1973). Do 1º ao 7º dia de vida os animais foram colocados dentro de uma câmara pletismográfica de corpo inteiro de 50 mL. Inicialmente, os animais foram aclimatados a câmara registro por um período de 15 min, a qual era ventilada com ar ambiente neste período. Do 14º ao 30º dia de vida, os animais eram colocados em uma câmara pletismográfica de 5L, aclimatados por um período de 30 min. Durante a realização de cada medida de ventilação, o fluxo de ar é interrompido e a câmara do animal permanece totalmente vedada por curtos períodos de tempo (~2 min). As oscilações causadas pela ventilação do animal são captadas por um dispositivo conectado à câmara do animal que contém o transdutor diferencial de pressão e o amplificador de sinais (ML141 spirometer, PowerLab, ADInstruments). O sinal é então enviado para o sistema de aquisição e análise dos dados (Lab Chart TM Pro, Power Lab, AD Instruments). A calibração do volume é obtida durante cada experimento, injetando-se um volume conhecido de ar dentro da câmara do animal com o uso de uma seringa graduada. Três variáveis respiratórias são medidas, a frequência respiratória (FR), o volume corrente (VT) e ventilação pulmonar. O VT era calculado através da fórmula:

$$VT = PT/PK \times VK \times TA/T_{amb} \times (PB-PA)/PB-TA/TC (PB-PC),$$

onde:

VK: volume de ar injetado na câmara do animal para calibração;

PT: deflexão de pressão associada com cada volume de ar corrente;

PK: deflexão de pressão associada com cada volume de ar injetado para calibração;

TC: temperatura corporal; (constante)

Tamb: temperatura ambiente; (variável)

TA: temperatura do ar dentro da câmara;

PB: pressão barométrica;

PC: pressão de vapor d'água à temperatura corporal;

PA: pressão de vapor d'água à temperatura da câmara.

A ventilação minuto (VE) foi calculada pelo produto de FR pelo VT. A VE e o VT estão apresentados nas condições de pressão barométrica ambiente, à Tc e saturados com vapor d'água (BTPS).

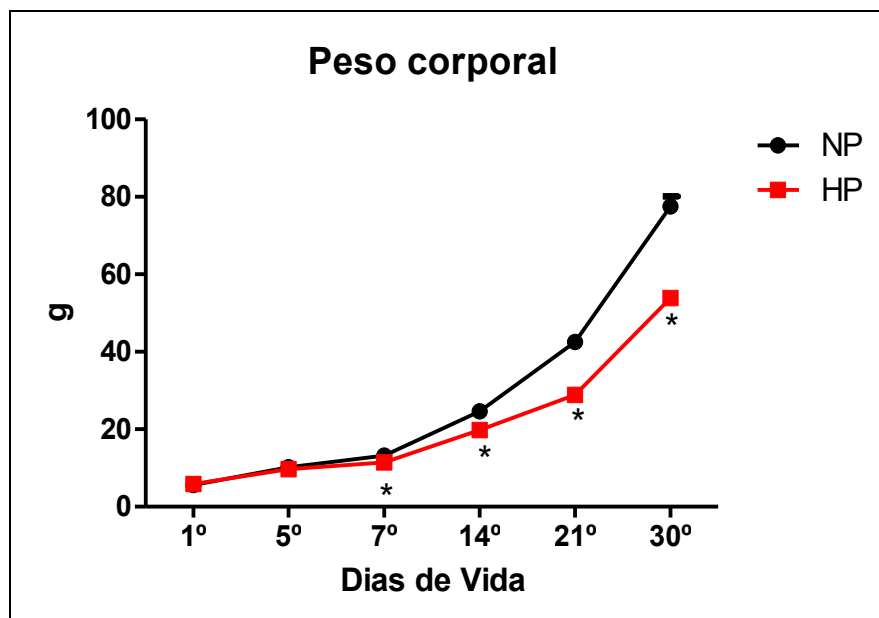
5.6 Análise Estatística

Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão da média (EPM). As comparações entre os grupos foram realizadas através do teste T de Student não-pareado e obtidas através do Graphpad Prism, versão 5. O nível de significância foi considerado quando $p < 0.05$.

6 RESULTADOS

Em relação ao peso corporal, nas duas primeiras idades analisadas, 1º (NP: 5.6 ± 0.1 , n=36 vs. HP: 5.8 ± 0.1 , n=49 g) e 5º dia de vida (NP: 10.1 ± 0.2 , n=32 vs. HP: 9.6 ± 0.2 , n=43g) não houve variação significativa entre os grupos. A partir do 7º dia (NP: 13.2 ± 0.2 , n=36 vs. HP: 11.4 ± 0.3 , n=49 g) é possível observar um aumento gradual no peso, entretanto os animais desnutridos se mantêm com um menor peso até os 30 dias de vida (14º: NP: 25.3 ± 0.7 , n=34 vs. HP: 19.7 ± 0.6 n=49; 21º: NP: 42.8 ± 0.9 , n=32 vs. HP: 28.8 ± 0.7 , n=46 g) (**Gráfico 1.A**).

Gráfico 1.A– Curva de Evolução Ponderal



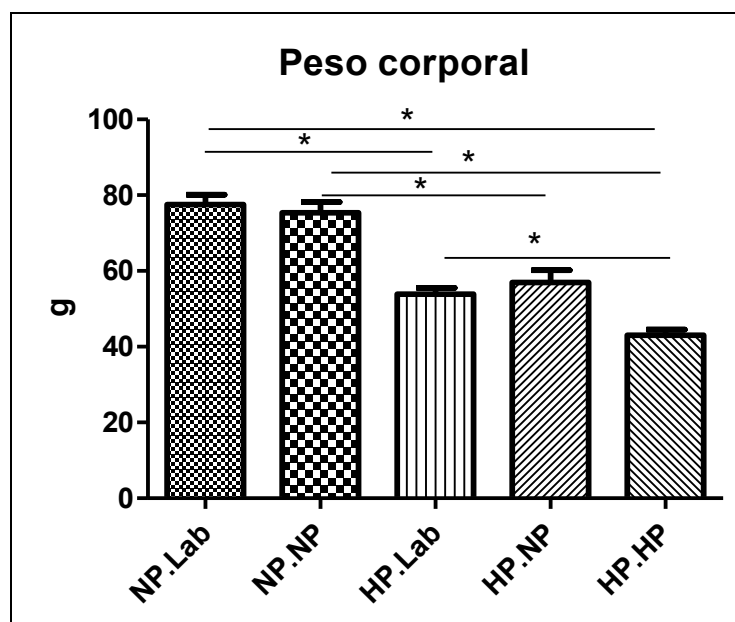
Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Avaliação do peso corporal da prole de ratos no 1º, 5º, 7º, 14º, 21º e 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) durante a gestação e lactação) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. *Valores são diferentes entre os grupos no 7º, 14º, 21º e 30º dia de vida. ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

Aos 30 dias de vida o grupo HP.HP foi o que apresentou menor peso corporal se comparado a NP.labina, NP.NP e HP.labina (NP.labina: 77.5 ± 2.5 , n=9;

HP.labina: 53.9 ± 1.6 , $n=11$; NP.NP: 75.3 ± 2.8 , $n=14$; HP.NP: 56.9 ± 3.2 , $n=13$; HP.HP: 43.0 ± 1.4 , $n=8$; g). Também exibiram diferença entre si o grupo HP.labina quando comparado a NP.labina (NP.labina: 77.5 ± 2.5 , $n=9$ vs. HP.labina: 53.9 ± 1.6 , $n=11$ g); HP.NP em relação a NP.labina (NP.labina: 77.5 ± 2.5 , $n=9$ vs. HP.NP: 56.9 ± 3.2 , $n=13$ g), HP.NP se comparado a NP.NP (NP.NP: 75.3 ± 2.8 , $n=14$ vs. HP.NP: 56.9 ± 3.2 , $n=13$ g) e HP.labina comparado a HP.NP (HP.NP: 56.9 ± 3.2 , $n=13$ vs. HP.labina: 53.9 ± 1.6 , $n=11$ g) (**Gráfico 1.B**).

Gráfico 1.B– Avaliação do peso corpóreo da prole de ratos

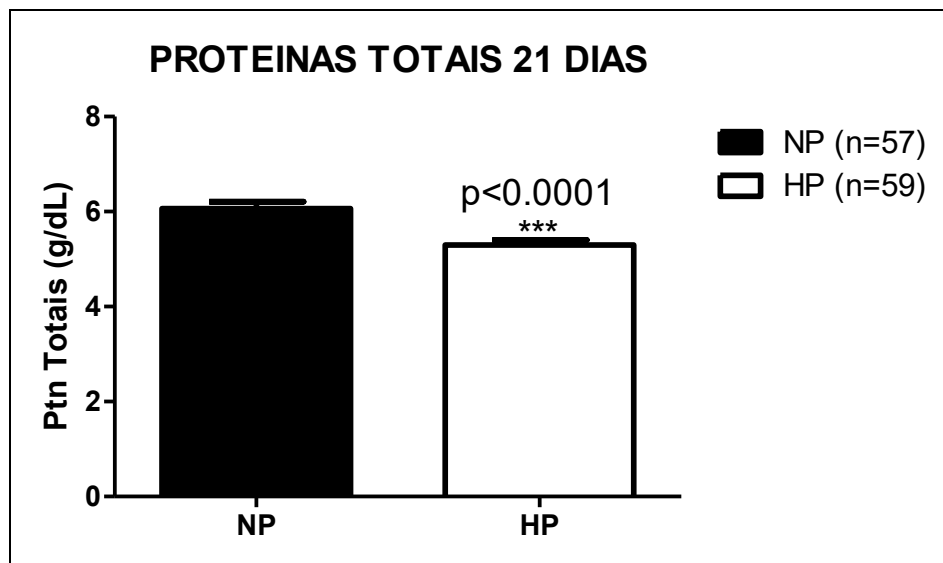


Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes ao 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) durante a gestação e lactação ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

Em relação aos valores de proteínas totais, observamos que os animais HP apresentaram menores valores comparados aos NP no 21º dia de vida (NP: 6.0 ± 0.1 , $n=57$ vs. HP: 5.2 ± 0.1 , $n=59$ g/dL) (**Gráfico 2.A**).

Gráfico 2.A– Representação gráfica dos valores referentes ao níveis séricos de proteínas totais

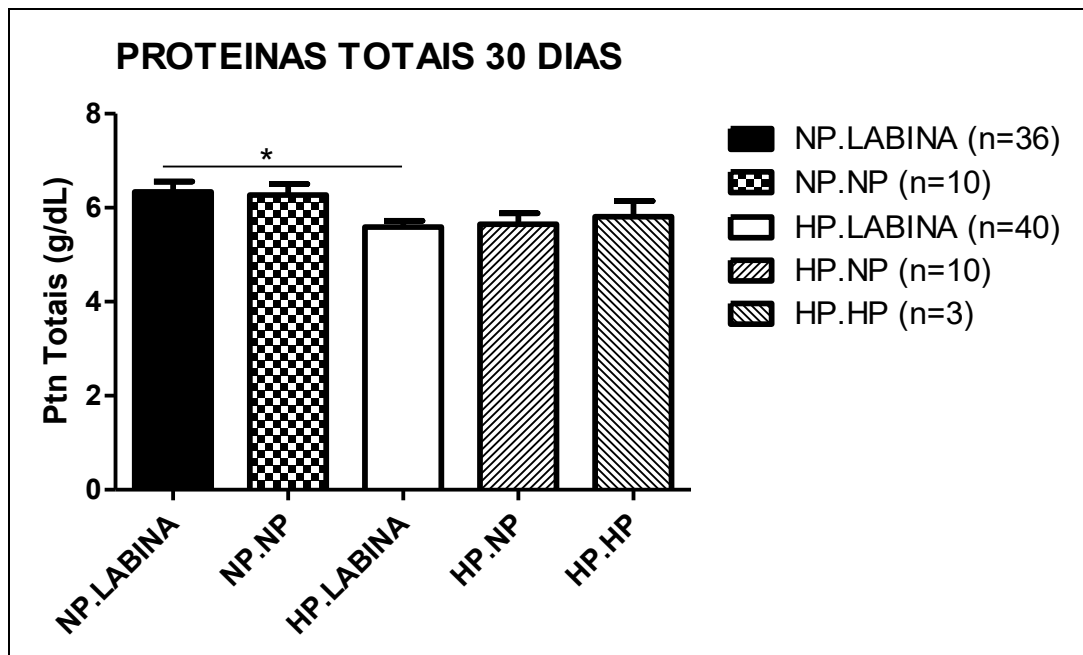


Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes aos níveis séricos de proteínas totais aos 21 dias de ratos provenientes de mães submetidas a dieta normoproteica (NP, 17% de proteína) ou dieta hipoproteica (HP, 8% de proteína) no período perinatal no 21º dia de vida. * Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos NP vs. HP ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

No 30º dia, apenas o grupo HP.labina apresentou menores valores quando comparado a NP.labina (NP.labina: 6.3 ± 0.2 , $n=34$ vs. HP.labina: 5.5 ± 0.1 , $n=39$ g/dL) (**Gráfico 2.B**).

Gráfico 2.B– Representação gráfica dos valores referentes aos níveis séricos de proteínas totais

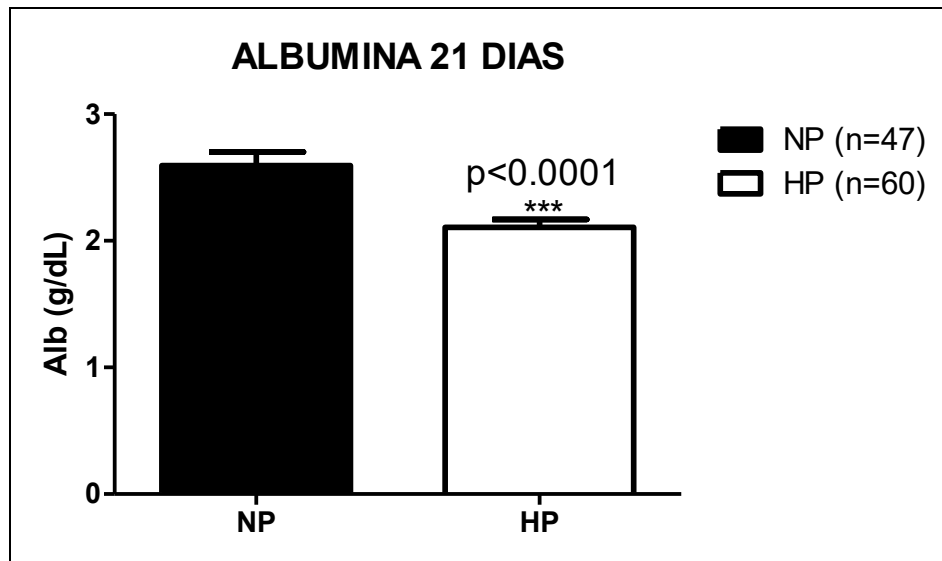


Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes aos níveis séricos de proteínas totais aos 30 dias de ratos provenientes de mães submetidas a dieta normoproteica (NP, 17% de proteína) ou dieta hipoproteica (HP, 8% de proteína) no período perinatal aos 30 dias de vida) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. *Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos NP.labina vs. HP.labina ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

Os valores referentes a albumina sérica foram menores nos desnutridos em relação aos normoproteicos no 21º dia de vida (NP: 2.5 ± 0.1 , $n=47$ vs. HP: 2.1 ± 0.06 , $n=60$ g/dL) (**Gráfico 3.A**).

Gráfico 3.A– Representação gráfica dos valores referentes aos níveis séricos de albumina

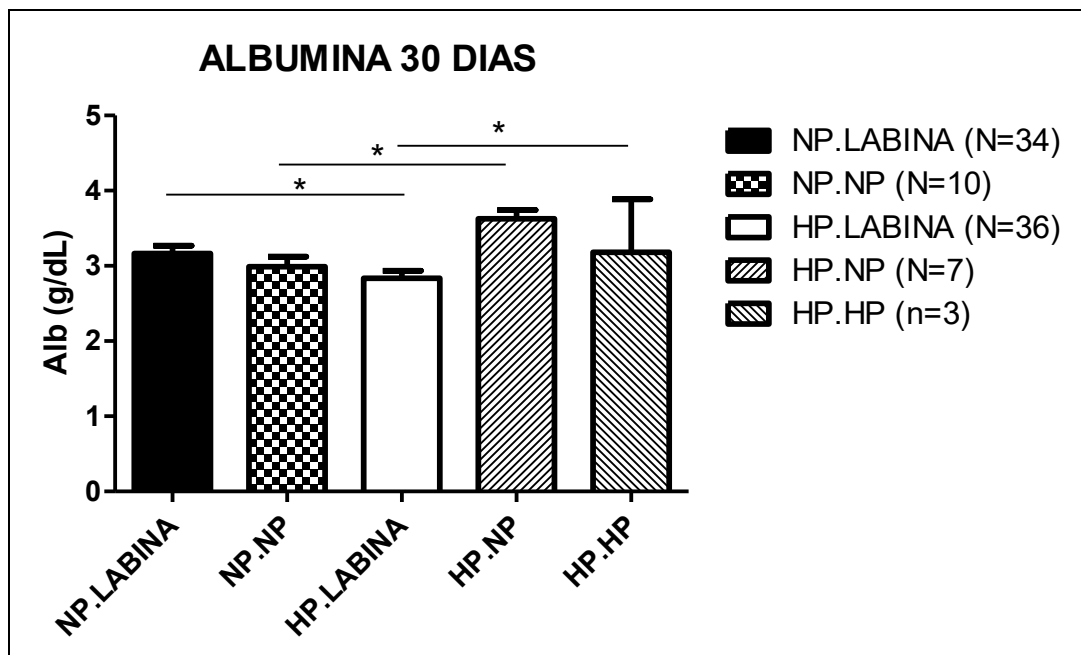


Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes aos níveis séricos de albumina aos 21 dias de ratos provenientes de mães submetidas a dieta normoproteica (NP, 17% de proteína) ou dieta hipoproteica (HP, 8% de proteína) no período perinatal no 21º dia de vida. *Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos HP vs. NP. (p < 0.05, Teste T de Student não-pareado).

No 30º dia, o grupo HP.labina apresentou menores valores quando comparado aos grupos NP.labina e HP.HP (NP.labina: 3.2 ± 0.1 , n=32; HP.labina: 2.8 ± 0.1 ; n=36; HP.HP: 3.6 ± 0.1 , n=7 g/dL). O grupo NP.NP também apresentou menores valores quando comparado a HP.NP (NP.NP: 2.9 ± 0.1 , n=10; HP.NP: 3.6 ± 0.1 , n=7g/dL) (**Gráfico 3.B**).

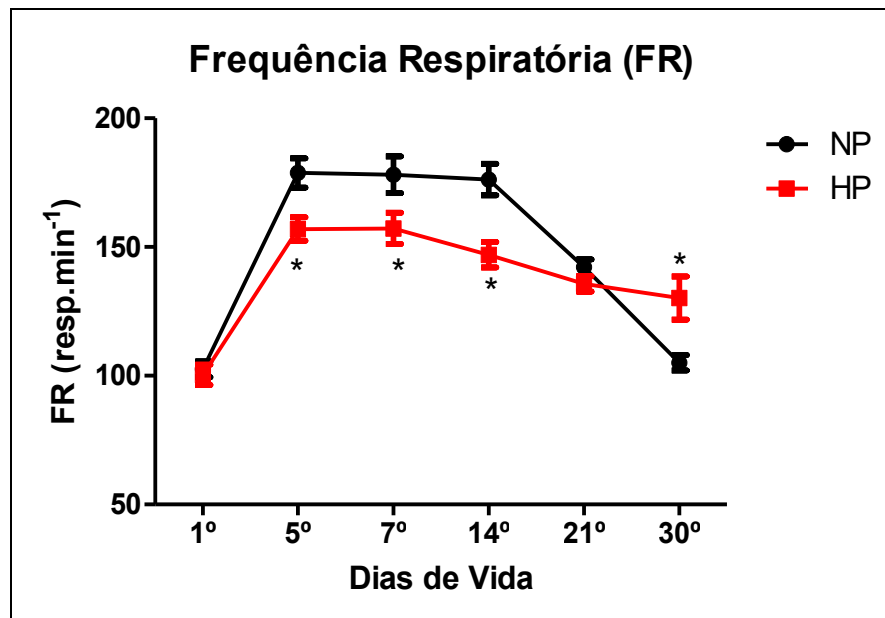
Gráfico 3.B– Representação gráfica dos valores referentes aos níveis séricos de albumina



Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes aos níveis séricos de albumina aos 30 dias de ratos provenientes de mães submetidas a dieta normoproteica (NP, 17% de proteína) ou dieta hipoproteica (HP, 8% de proteína) no período perinatal aos 30 dias de vida) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. *Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos NP.labina vs HP.labina, HP.NP vs. NP.NP, HP.HP vs. HP.labina ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

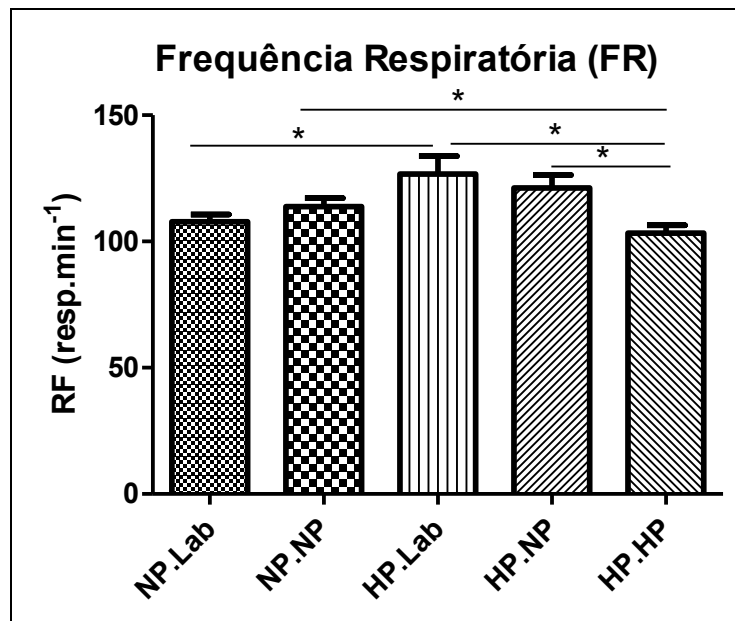
A prole de ratos provenientes de mães submetidas à desnutrição proteica perinatal exibem valores basais semelhantes de FR no 1º (NP: 102.5 ± 3.1 , $n=35$ vs. HP: 100.3 ± 3.9 , $n=49$ resp.min⁻¹) e 21º (NP: 142.2 ± 2.9 , $n=34$ vs. HP: 135.7 ± 2.9 , $n=46$ resp.min⁻¹) dias de vida em relação ao grupo normoproteico. Já no 5º (NP: 178.8 ± 5.7 , $n=32$ vs. HP: 157.0 ± 4.6 , $n=43$ resp.min⁻¹), 7º (NP: 178.1 ± 7.2 , $n=36$ vs. HP: 157.2 ± 6.1 , $n=49$ resp.min⁻¹) e 14º (NP: 176.2 ± 6.1 , $n=36$ vs. HP: 147.0 ± 4.8 , $n=48$ resp.min⁻¹) dias de vida, os animais desnutridos apresentam uma redução dos valores de FR quando comparado com os animais NP (**Gráfico 4.A**).

Gráfico 4.A– Avaliação da frequência respiratória

Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes a frequência respiratória (FR) da prole de ratos no 1º, 5º, 7º, 14º, 21º e 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP-8% de proteína) durante a gestação e lactação) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. *Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos HP e NP no 5º, 7º, 14º e 30º dias de vida ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

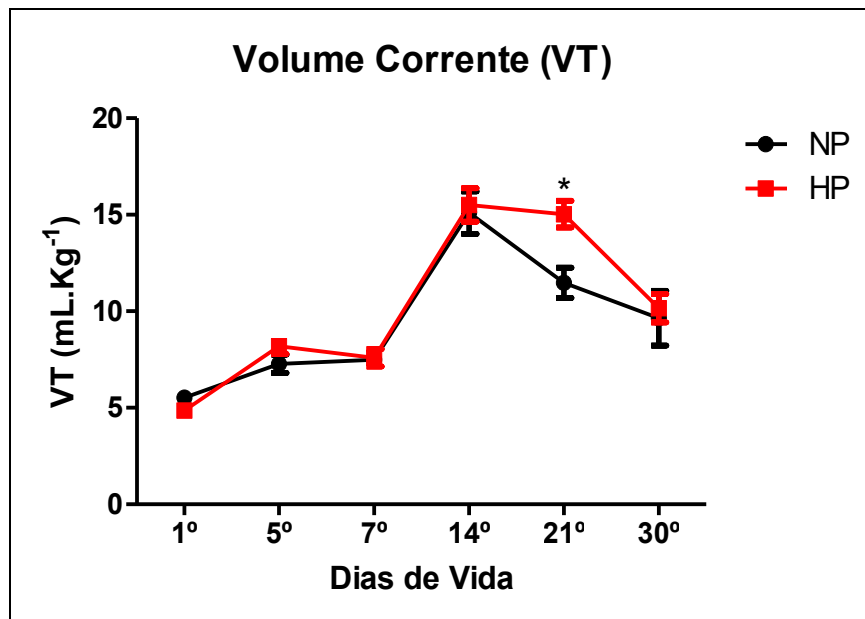
No entanto, no 30º dia de vida (**Gráfico 4.B**), observa-se que houve um aumento na FR nos animais desnutridos, que receberam dieta labina pós desmame, não observado nas idades anteriores (NP: 105.1 ± 2.9 , $n=7$ vs. HP: 126.6 ± 7.4 , $n=10$ resp.min⁻¹). Ao compararmos entre si os demais grupos originados após a dieta ofertada no período pós-desmame, verificamos que o grupo HP.labina apresentou maior FR que o NP.labina. O grupo HP.HP demonstrou uma menor FR em relação a NP.NP, HP.NP, HP.labina (NP.labina: 107.8 ± 2.8 , $n=9$; HP.labina: 126.6 ± 7.1 , $n=10$; NP.NP: 113.8 ± 3.3 , $n=14$; HP.NP: 121.2 ± 5.1 , $n=13$; HP.HP: 103.3 ± 3.0 , $n=8$ resp.min⁻¹).

Gráfico 4.B– Avaliação da frequência respiratória

Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes a frequência respiratória (FR) da prole de ratos no 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) durante a gestação e lactação e dietas normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. *Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos NP.labina v.s HP.labina, NP.NP v.s HP.HP, HP.labina v.s HP.HP e HP.NP v.s HP.HP. ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

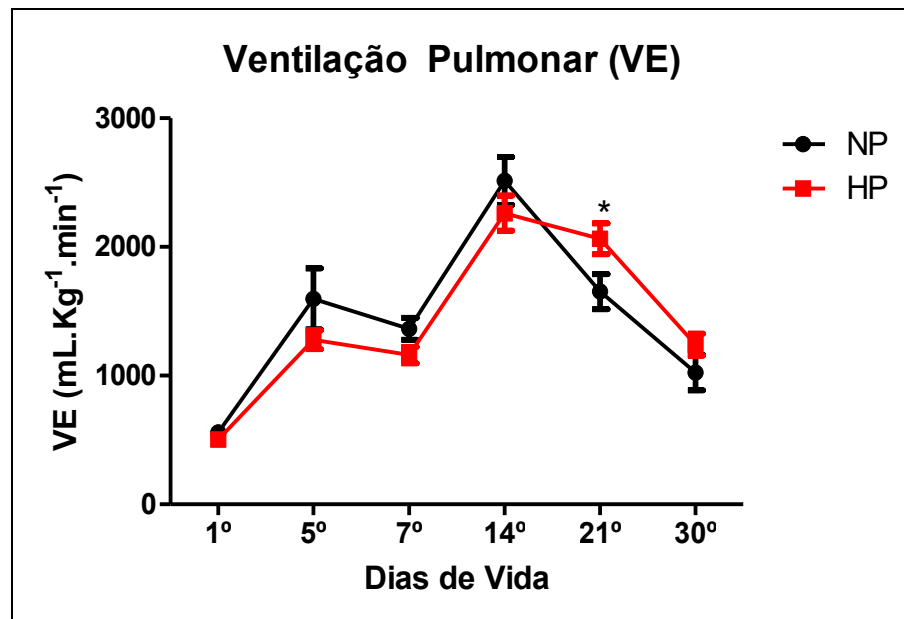
Quanto às demais variáveis ventilatórias, ao analisar VT constatamos valores maiores aos 21 dias de vida nos HP comparados aos NP (NP: 11.4 ± 0.7 , $n=34$ vs. HP: 15.0 ± 0.6 , $n=46$ mL.Kg⁻¹) não havendo diferença significativa nas demais idades estudadas (**Gráfico 5.A**).

Gráfico 5.A– Avaliação do volume corrente

Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes ao volume corrente (VT) da prole de ratos no 1º, 5º, 7º, 14º, 21º e 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) durante a gestação e lactação) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. *Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos NP e HP no 21º dia de vida ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

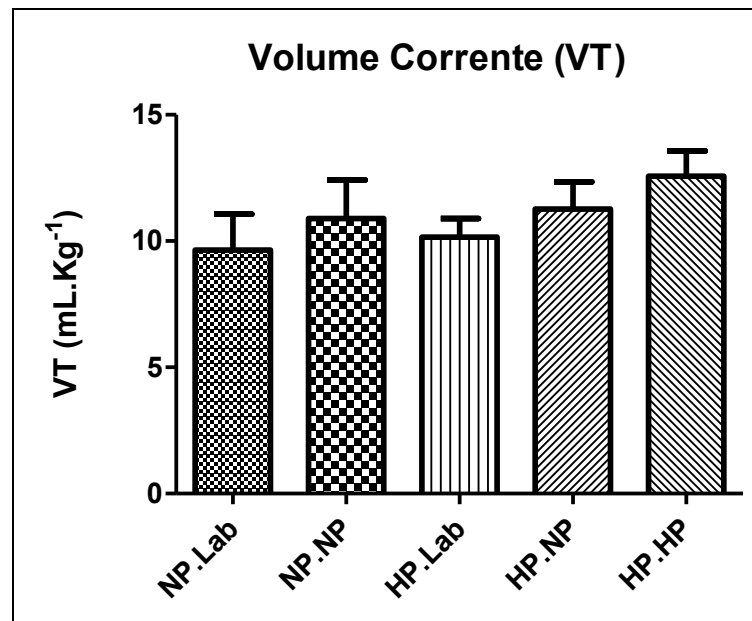
Coincidentemente, em relação à VE, também notamos que apenas no 21º dia de vida (NP: 1654 ± 136.1 , $n=34$ vs. HP: 2063 ± 119.8 , $n=46$ mL.Kg⁻¹.min⁻¹) os desnutridos apresentaram maiores valores que os NP (**Gráfico 6.A**).

Gráfico 6.A– Avaliação da ventilação pulmonar

Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes a ventilação pulmonar (VE) da prole de ratos no 1º, 5º, 7º, 14º, 21º e 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) durante a gestação e lactação) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida. *Valores são diferentes estatisticamente entre os grupos NP e HP no 21º dia de vida ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

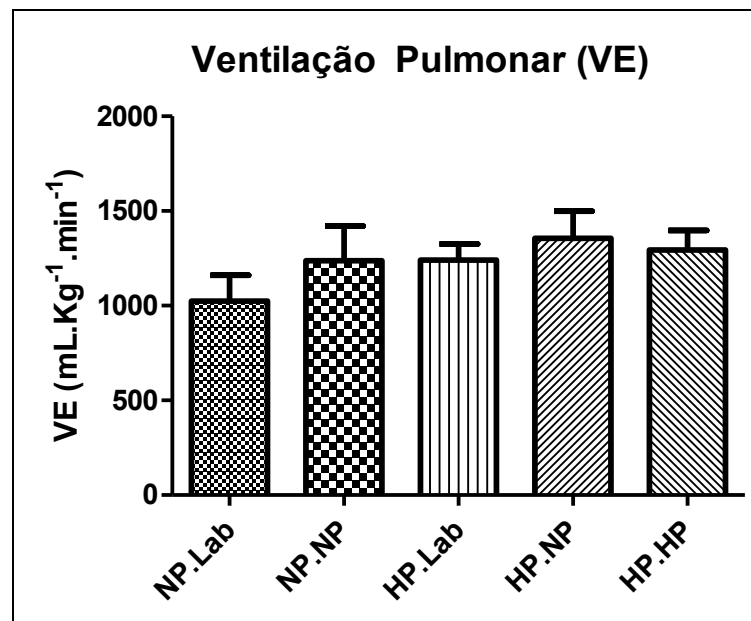
No 30º dia de vida não foi observada diferença entre os grupos tanto para VT (NP.labina: 9.6 ± 1.4 , $n=9$; HP.labina: 10.1 ± 0.7 , $n=11$; NP.NP: 10.8 ± 1.5 , $n=14$; HP.NP: 11.2 ± 1.0 , $n=13$; HP.HP: 12.5 ± 1.0 , $n=8$; mL.Kg⁻¹) (**Gráfico 5.B**).

Gráfico 5.B.– Avaliação do volume corrente

Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes a volume corrente (VT) da prole de ratos no 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) durante a gestação e lactação) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

O mesmo ocorreu para VE (NP.labina: 1024 ± 137.6 , $n=9$; HP.labina: 1241 ± 84.5 , $n=11$; NP.NP: 1237 ± 184.1 , $n=14$; HP.NP: 1355 ± 143.5 , $n=13$; HP.HP: 1295 ± 102.8 , $n=8$ mL.Kg⁻¹.min⁻¹) (**Gráfico 6.B**).

Gráfico 6.B—Avaliação da ventilação pulmonar

Fonte: SILVA, I. F., 2016.

Valores referentes a ventilação pulmonar (VE) da prole de ratos no 30º dia de vida provenientes de mães que receberam dieta normoproteica (NP-17% de proteína) ou hipoproteica (HP- 8% de proteína) durante a gestação e lactação) ou dieta comercial para animais de biotério (labina) após o desmame (21 dias) até os 30 dias de vida ($p < 0.05$, Teste T de Student não-pareado).

7 DISCUSSÃO

Estudos anteriores do nosso laboratório têm evidenciado que animais provenientes de mães desnutridas apresentam uma redução de FR do 5º ao 14º dia de vida e no 30º dia de vida (momento em que os animais saem de uma dieta hipoproteica para consumir dieta padrão para animais de biotério) apresentam um aumento súbito de FR. A partir desses resultados o presente estudo buscou avaliar os efeitos de uma dieta hipoproteica, normoproteica ou labina pós desmame sobre o padrão respiratório, bioquímico e peso corpóreo de ratos Wistar provenientes de ratas submetidas à desnutrição proteica durante a gestação e lactação.

Nossos dados referentes aos valores de frequência respiratória, sugerem que as alterações ventilatórias exibidas pelos animais desnutridos iniciam-se já na primeira semana após o nascimento, como pudemos observar diante da redução dos valores no 5º, 7º e 14º dia de vida, período que corresponde a maturação do sistema respiratório. Esses dados sugerem que a desnutrição proteica perinatal é capaz de alterar a maturação do sistema respiratório, promovendo uma redução da frequência respiratória. Entretanto, no 30º dia de vida a prole de ratos pertencentes ao grupo HP.labina apresentam um aumento súbito de FR, o mesmo não ocorre com os HP.NP e HP.HP. Ao que parece existe algum componente da dieta padrão de biotério que é capaz de promover aumento de FR nos animais desnutridos. Nos animais HP.HP (que receberam dieta hipoproteica perinatal e pós-desmame), verificamos que aos 30 dias, os mesmos apresentam uma tendência a uma menor FR em relação aos demais grupos. Tal fato sugere uma resposta adaptativa do fenótipo (ambiente pré-natal semelhante ao ambiente pós-natal) minimizando a chance de alterações fisiológicas (HANSON and GLUCKMAN, 2008). Esses animais foram submetidos na vida pós-natal ao mesmo processo de desnutrição que sofreram no início da vida intrauterina, fato que os predispôs a se adaptarem ao ambiente.

O peso corporal é um indicativo direto do estado nutricional, sendo reflexo da alimentação do indivíduo. Através das amostras de peso corporal obtidas dos filhotes de ambos os grupos NP e HP, verificamos que os animais HP não tiveram um baixo peso no 1º dia de vida (24h após o nascimento), ao contrário do que retratado na literatura (MENENDEZ-CASTRO; KORDASIC et al., 2012). Esses

resultados sugerem que o modelo de desnutrição utilizado talvez não seja capaz de alterar o peso nos primeiros dias de vida. Torna-se necessário ainda avaliar o peso no momento do nascimento, afim de avaliar se esses animais apresentam baixo peso ao nascer. A partir do 7º dia de vida, é possível observar que os animais HP apresentam uma redução de peso corpóreo. Tem sido retratado em modelos de desnutrição que a diferença no peso corporal dos HP em relação ao grupo controle torna-se mais acentuada a partir da 1ª semana após o nascimento (ALVES et al., 2008; NASCIMENTO; GUZMAN-QUEVDO et al., 2013).

Aos 30 dias, os animais dos grupos HP.labina e HP.HP apresentaram os menores pesos quando comparados aos demais grupos, como já era esperado como reflexo da manipulação dietética, como já havia sido descrito por Luz-Neto e cols., 2014. Os animais que receberam dieta NP desde o período perinatal até os 30 dias (grupo NP.NP) e aqueles que receberam dieta NP no período perinatal e pós-desmame se alimentaram de labina, foram os que exibiam maior peso corporal em relação aos demais grupos experimentais. Este resultado demonstrou que a dieta administrada, ofereceu os nutrientes necessários para um crescimento adequado, confirmando o que já foi visto no estudo de Luz-Neto et al., (2014).

Holness et al. (2000) observaram que animais submetidos à dieta hipoproteica (8% de proteína) durante o período perinatal permanecem menores que o normal, mesmo após o consumo de uma dieta normoproteica na vida pós-natal. O grupo HP.NP (desnutrido, seguido da tentativa de recuperação do estado nutricional com dieta NP), permanece com redução de peso.

Em relação aos valores de proteínas totais e albumina no 21º dia, já aguardávamos que os animais HP evidenciassem níveis plasmáticos menores se comparados aos normoproteicos como resposta a dieta pobre em proteínas (FAGUNDES, 2008). No 30º dia, o grupo HP.labina teve os menores valores de proteínas totais e de albumina, o que evidencia que o consumo de uma dieta padrão no período pós desmame foi incapaz de promover uma recuperação do estado nutricional. Interessantemente, no grupo NP.NP obtivemos menores valores de albumina sérica se comparado ao grupo HP.NP, aos 30 dias, o que nos permite afirmar que a dieta NP mantida até essa idade não assegurou um correto aporte proteico a esses animais. O grupo HP.HP estranhamente teve valores de albumina maiores que os do HP.labina, o que talvez demonstre que a desnutrição mantida do período perinatal até os 30 dias induza um mecanismo compensatório no organismo,

não sendo possível detectar alterações nesse parâmetro bioquímico nessa fase da vida, entretanto ainda se torna necessário neste estudo aumentar o n do grupo HP.HP, com o intuito de confirmar essa informação.

8 CONCLUSÕES

Observamos que a dieta hipoproteica oferecida durante gestação e lactação acarretou mudanças no organismo materno que refletiram na prole tanto em alterações ponderais, quanto em alterações bioquímicas e respiratórias. A dieta labina pós-desmame consumida pelos animais que sofreram desnutrição proteica perinatal, parecem ter induzido um aumento de FR. Verificamos também, que após o período de desmame, a desnutrição proteica perinatal seguida da manutenção de um déficit proteico no ambiente pós-natal, induziu respostas ventilatórias adaptativas nesses animais.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A.P.; DÂMASO, A.R.; DAL PAI, V. Efeito da desnutrição protéica pré e pós-natal sobre morfologia, a diferenciação e o metabolismo do tecido muscular estriado esquelético em ratos. **Jornal de Pediatria**, v. 84, n. 3, 2008.
- BARKER, D.J. et al. Maternal and social origins of hypertension. **Hypertension**, v. 50, p. 565-71, 2007.
- BARKER, D.J. The origins of the developmental origins theory. **J Intern Med**, v. 261, p. 412-7, 2007.
- BARROS, M.A.V. et al. Maternal low-protein diet induces changes in the cardiovascular autonomic modulation in male rat offspring. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 25, p. 123-130, 2015.
- BARROS, R.C. et al. Cardiovascular responses to chemoreflex activation with potassium cyanide or hypoxic hypoxia in awake rats. **Auton Neuroscience**, v. 97, p. 110-5, 2002.
- BENNETT, A.F.; HICKS, J.W. Postprandial exercise: prioritization or additivity of the metabolic responses? **J. Exp Biol**, v. 204, p. 2127–2132, 2001.
- BENTO-SANTOS, A. et al. Desnutrição perinatal e o controle hipotalâmico do comportamento alimentar e do metabolismo do músculo esquelético. **Revista De Nutrição**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 403-413, maio/jun., 2012.
- BORTOLINI, M.C.A. **Efeitos de diferentes modelos de desnutrição sobre parâmetros bioquímicos hepáticos, plasmáticos e cerebelares de ratos de 21 dias**, 2005, 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas-Bioquímica). Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Instituto de Ciências Básicas da Saúde- Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- BOUALGA, A.; BOUCHENAK, M.; BELLEVILLE, J. Low-protein diet prevents tissue lipoprotein lipase activity increase in growing rats. **Br J Nutr**, v.84, n. 5, p. 663-671, 2000.
- BREWER, N.; WELLS, L.G. Eyewitness Identification. **Current Directions in Psychological Science**, v. 20, p. 24, 2011.
- BRITO ALVES, J.L. et al. Maternal Protein Restriction Increases Respiratory and Sympathetic Activities and Sensitizes Peripheral Chemoreflex in Male Rat Offspring. **The Journal of Nutrition**, fev. 2015.
- BRITO ALVES, J.L. et al. Short- and long-term effects of a maternal low-protein diet on ventilation, O₂/CO₂ chemoreception and arterial blood pressure in male rat offspring. **Br J Nutr**, v. 111, n. 4, p. 606-15, 2014.

BUGENHAGEN, S.M.; COWLEY, A.W.; BEARD, D.A. Identifying physiological origins of baroreflex dysfunction in salt-sensitive hypertension in the Dahl SS rat. **PhysiolGenomics**, v. 42, p. 23-41, 2010.

BURRI, P.H. The postnatal growth of the rat lung. 3. **Morphology. Anat Rec.**, v. 180, p. 77-98, 1974.

CIRIELLO, J.; HOCHSTENBACH, S.L.; RODER, S. Central projections of baroreceptor and chemoreceptor afferent fibers in the rat. In: Nucleus of the solitary tract. I. Robin A. (ed.). Barroco. **Boca Raton, FL: CRC Press**, Inc. 1994.

COSTA-SILVA, J.H. et al. Chronic undernutrition alters renal active Na⁺ transport in young rats: potential hidden basis for pathophysiological alterations in adulthood? **Eur J Nutr.**, v. 48, p. 437-45, 2009.

COSTA-SILVA, J.H.. Mecanismos bulbo-pontinos envolvidos no acoplamento simpático e respiratório em situações de normóxia e hipóxia em ratos. (Doutorado em Fisiologia) – Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

COSTA-SILVA, J.H.; ZOCCAL, D.B.; MACHADO B.H. Glutamatergic antagonism in the NTS decreases post-inspiratory drive and changes phrenic and sympathetic coupling during chemoreflex activation. **J Neurophysiol**, v. 103, p. 2095-2106, 2010.

COSTA-SILVA, J.H.; ZOCCAL, D.B.; MACHADO, B.H. Chronic intermittent hypoxia alters glutamatergic control of sympathetic and respiratory activities in the commissural NTS of rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v.302, p. 785-793, 2012.

CRUM, R.; SZABO, S.; FOLKMAN, J. A new class of steroids inhibits angiogenesis in the presence of heparin or a heparin fragment. **Science**, v. 230, p. 8-1375, 1985.

DIAS, C. M. et al. Effects of undernutrition on respiratory mechanics and lung parenchyma remodeling. **J.Appl. Physiol.**, v. 97, p. 1888-1896, 2004.

DOWEIKO, J. P.; NOMPLEGGI, DJ. Role of albumin in human physiology and pathophysiology. **JPEN**, v. 15, n. 2, p. 207-11, 1991.

FAGUNDES, A.T.S. **Avaliação da composição corporal e homeostase glicêmica e papel da sinalização de leptina em ratos programados pela restrição protéica materna na lactação** 2008, 84f. Tese (Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

FERREIRA CP. Bioquímica básica. 4ªed. São Paulo; MNP, 2000.

FORNAZZARI, M.; SANNAZZARO, M.J.B.; SANNAZZARO, R.C. Comparação dos valores do colesterol total, LDL colesterol e HDL colesterol com os Valores da porcentagem de gordura corporal. **Rev. Fac. Ciênc. Méd.** Sorocaba, v. 6, n. 1, p. 15 - 20, 2004.

GLUCKMAN, D.P et al. epigenetic mechanisms that underpin metabolic and cardiovascular diseases. **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 5, p. 401–408, 2009.

GODFREY, M.K. et al. Epigenetic Gene Promoter Methylation at Birth Is Associated With Child's Later Adiposity. **Diabetes**, v. 60, mai. 2011.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. **Anais...** Gramado, 2002.

GORMAN, L.; MERCER, L.; HENNING, B. Growth requirements of endothelial cells in culture: variation in serum and amino acid concentration. **Nutrition**, v. 12, p. 40-266, 1996.

GOZAL, D.; XUE, Y.; SIMAKAJORNBOON, N. Hypoxia induces c-Fos protein expression in NMDA but not AMPA glutamate receptor labeled neurons within the nucleus tractus solitarii of the conscious rat. **Neuroscience Letters**, v. 262, p. 93-96, 1999.

GUICQUEL, C.; EL-OSTA, A.; LE-BOUC Y. Epigenetic Regulation and fetal programming. **Best Pract Res Clin End Met**, v. 22, p. 1-16, 2008.

GÚZMAN, M. et al. Pre-and postnatal protein undernutrition increases hepatic carnitine palmytoil transferase I activity and decreases enzyme sensitivity to inhibitors in the suckling rats. **Horm Metab Res**, v. 24, p. 471-473, 1992.

HALES, N.C.; BARKER, J.P.D. The thrifty phenotype hypothesis. **British Medical Bulletin**; v. 60, p. 5-20, 2001.

HANSON, M.A.; GLUCKMAN, P.D. Developmental Origins of Health and Disease: New Insights. **Journal compilation, Nordic Pharmacological Society. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 102, p. 90–93, 2008.

HARKEMA, J. R. et al. Acomparison of starvation and elastase models of emphysema in the rat. **Am.Rev. Respir. Dis.**, v. 129, p. 584-591, 1984.

HAVEL PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. **Curr Opin Lipidol.**, v. 13, n. 1, p. 51-59, 2002.

HEARD, C.R.C. The effects of protein-energy malnutrition on blood glucose homeostasis. **Wld Rev Nutri Diet.**, v. 30, p. 107-147, 1978.

HIRST, M.; MARRA, M.A. Epigenetics and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Biology**, v. 41, p. 136-146, jan. 2009.

IKENASIO-THORPE, B.A. et al. Prenatal influences on susceptibility to diet-induced obesity are mediated by altered neuroendocrine gene expression. **Journal of Endocrinology** , v. 193, p. 31–37, 2007.

JOSHI, S. et al. Maternal Protein Restriction before pregnancy affects vital organs of offspring in Wistar rats. **Metabolism**, v. 52, n. 1, p. 13-18, 2003.

KERR, J. S. et al. Nutritional emphysema in the rat: influence of protein depletion and impaired lung growth. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 131, p. 644-650, 1985.

KIRSCH, R. et al. Regulation of albumin synthesis and catabolism by alteration of dietary protein. **Nature (London)**, v. 217, p. 578-9, 1968.

LANGLEY-EVANS, S. Early life origin of hypertension: a rat model. **Ashwell M. Tomorrow's Nutrition**. London, British Nutrition Foundation, p. 33-42, 1994.

LECHNER, A. J.; WINSTON, D. C.; BAUMAN, J. E. Lung mechanics, cellularity, and surfactant after prenatal starvation in guinea pigs. **J. Appl. Physiol.**, v. 60, p. 1610-1614, 1986.

LIBBY, P. Managing the risk of atherosclerosis: the role of high density lipoprotein. **Am J Cardiol.**, v. 88, p. 3-8, 2001.

LIU, Q.; FEHRING, C.; WONG-RILEY, M.T.T. Postnatal development of metabolic rate during normoxia and acute hypoxia in rats: implication for a sensitive period. **J Appl Physiol**, v. 106, n. 4, p. 1212-1222, abr. 2009.

LIU, Q.; LOWRY, T.F.; WONG-RILEY, M.T.T. Postnatal changes in ventilation during normoxia and acute hypoxia in the rat: implication for a sensitive period. **J Physiol**, v. 577, n. 3, p. 957-970, 2006.

LOEWY, A.D. Central autonomic pathways. In: Central regulation of autonomic functions. Loewy, **Spyer KM (eds.)**. Oxford, Oxford University Press, 1990.

LUZARDO, R. et al. Metabolic programming during lactation stimulates renal Na⁺ transport in the adult offspring due to an early impact on local angiotensin II pathways. **PLoS One**, v. 6, p. 212-232, 2011.

LUZ-NETO, L.M. **Desnutrição proteica perinatal, pós-desmame e plasticidade fenotípica: um estudo da resposta adaptativa preditiva**, 2014, 109f. Dissertação (Mestrado em Nutrição)-Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

MEÑENDEZ-CASTRO, C. et al. Intrauterine growth restriction promotes vascular remodelling following carotid artery ligation in rats. **Clinical Science**, v. 123, p. 437-444, 2012.

MESQUITA, F.F.; GONTIJO J.A.; BOER, P.A. Maternal undernutrition and the offspring kidney: from fetal to adult life. **Braz J Med Biol Res**, v. 43, p. 1010-1018, 2010.

MIÑANA-SOLIS, M.C.; ESCOBAR, C. Post-Weaning Protein Malnutrition in the Rat Produces Short and Long Term Metabolic Impairment, in Contrast to Earlier and Later Periods. **Int J Biol Sci**, v. 4, n. 6, p. 422-432, 2008.

MONTGOMERY, R.; CONWAY, T. W.; SPECTOR, A. A. **Bioquímica: exercícios físicos para prevenir o desenvolvimento uma abordagem dirigida por casos.** 5. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1994.

MORTOLA, J.P. Dynamics of breathing in newborn mammals. **Physiol Rev.**, v. 67, p. 187–243, 1987.

NAKASATO, M.; CARDOSO, E.; FERREIRA, M. F. S. Orientação prevenção é a melhor solução! dietética nas dislipidemias. **Rev Bras Med**; v. 55, p. 198-207, 1998.

NAKAYA, N. Hypertriglyceridemia as a cause of atherosclerosis. **Nippon Rinsho.**, v. 60, n. 5, p. 860-7, 2002.

NASCIMENTO, E. et al. Long-lasting effect of perinatal exposure to L-tryptophan on circadian clock of primary cell lines established from male offspring born from mothers fed on dietary protein restriction.. **PLoS One**, v. 8, n. 2, 2013.

NATTIE, E. Brainstem chemoreceptors and breathing. **Prog. Neurobiol.** 59, 299-331, 1999.

NELSON, D. L.; COX, M. **LEHNINGER: Princípios de Bioquímica.** 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NOGUEIRA, V. O. et al. Effects of perinatal protein undernutrition on the respiratory function and central chemoreception in offspring of rats. CONGRESSO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FISIOLOGIA, 47.; ENCONTRO CIENTÍFICO DO PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS, 3., 2012, Gramado-RS. **Anais...** Gramado-RS, 2012

NUYT, A.M. Mechanisms underlying developmental programming of elevated blood pressure and vascular dysfunction: evidence from human studies and experimental animal models. **Clin Sci (Lond)** , v. 114: p. 1-17, 2008.

OJEDA, N.B.; GRIGORE, D.; ALEXANDER, B.T. Developmental programming of hypertension: insight from animal models of nutritional manipulation. **Hypertension**, v. 52, p. 44-50, 2008.

OROZCO-SOLIS, R. et al. Perinatal nutrient restriction induces long-lasting alterations in the circadian expression pattern of genes regulating food intake and energy metabolism. **Int J Obes (Lond)**, v.35, n. 7, p. 990-1000, 2011.

OROZCO-SOLIS, R. et al. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. **Physiol Behav.**, v. 96, n. 3, p. 481-492, 2009.

ORTOLANI, E. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 29., 2002, Gramado. **Anais...** Gramado, 2002.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Steriotaxic Coordinates.** San Diego, CA: Academic, 2007.

- PETE, G. et al. CO₂-induced c-Fos expression in brainstem preprotachykinin mRNA containing neurons. **Respir. Physiol. Neurobiol.**, v. 130, p. 265-274, 2002.
- REEVES, PG.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, GC JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J Nutr.**, v. 123, p. 1939-1951, 1993.
- SAHEBJAMI, H.; VASSALLO, C. L. Effects of starvation and refeeding on lung mechanics and morphometry. **Am. Rev. Respir. Dis.**, v. 119, p. 443-451, 1979.
- SANTOS, N.S.J. et al. Albumina sérica como marcador nutricional de pacientes em hemodiálise. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 339-349, jul./set., 2004.
- SCHIAVO, M.; LUNARDELLI, A.; OLIVEIRA, J.B. Influência da dieta na concentração sérica de triglicerídeos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, 2003.
- SILVA, S.M. **Ação Modulatória do Glutamato sobre o sistema catecolaminérgico em culturas de células do bulbo de ratos neonatos**. 2010.36f. Dissertação (Mestrado em Ciências na área de Fisiologia)-Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Fisiologia, 2010.
- TETSUJI, T. et al. Intrathecal P/Q- and R-type calcium channel blockades on spinal substance P release and c-Fos expression. **Neuropharmacology**, 2013.
- TOVAR, A.R. et al. Hepatic histidase gene expression responds to protein rehabilitation in undernourished growing rats. **Journal of Nutrition**, v. 128, p. 1631-1635, 1998.
- WELLS, J.C.K. Flaws in the theory of predictive adaptive responses. **Trends in Endocrinology&Metabolism**, v. 18, n.9, p. 331-337, 2007.
- WELLS, J.C.K.; STOCK, T.J. Re-examining heritability: genetics, life history and plasticity, **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 22, n.10, p. 421-426, out. 2011.
- WHICHER J, SPENCE C. When is serum albumin worth measuring? **Ann Clin Biochem**; v. 24, p. 572-580, 1987.
- WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Health Observatory in Mortality and burden of disease**: Cause-specific mortality. Geneva: WHO, 2008b. Disponível em: <<http://apps.who.int/ghodata/?vid=2469>>. Acesso em: 07/03/2015.
- WONG-RILEY, M.T.T.; LIU, Q.; GAO, X.P. Peripheral-central chemoreceptor interaction and the significance of a critical period in the development of respiratory Control. **Respir Physiol Neurobiol.**, v. 185, n.1, p. 156–169, jan. 2013.
- WYNGAARDEN, J.B.; SMITH, L.H. **Cecil Tratado de Medicina Interna**, Rio de Janeiro, 18 ed., Guanabara Koogan, 1990.