UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA

SUZY ANDRESS PEREIRA DE MELO

EFEITOS DAS AGRESSÕES NUTRICIONAL E FARMACOLÓGICA SOBRE A ESTRUTURA DO RIM DE RATOS *WISTAR*

RECIFE-PE
2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA

SUZY ANDRESS PEREIRA DE MELO

EFEITOS DAS AGRESSÕES NUTRICIONAL E FARMACOLÓGICA SOBRE A ESTRUTURA DO RIM DE RATOS WISTAR

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Patologia na área de concentração de Morfologia Aplicada, do Mestrado de Anatomia Patológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau de mestre.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Silvia Regina Arruda de Moraes

Co-orientadora: Prof.ª Dr.ª Paloma Lys de Medeiros

RECIFE-PE
2007

Melo, Suzy Andress Pereira de
Efeitos das agressões nutricional e farmacológica sobre a estrutura do rim de ratos *Wistar* / Suzy Andress Pereira de Melo – Recife: O Autor, 2007.
vii, 45 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Patolçogia, 2007.

Inclui bibliografia e anexo.

1. Doença renal - Morfologia. 2. Doença renal - Desnutrição. 3. Doença renal – Manipulação serotoninérgica. I. Título.

616.61 CDU (2.ed.) UFPE
616.125 CDD (22.ed.) ; CCS2007-56

Universidade Federal de Pernambuco
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA

AUTOR: **SUZY ANDRESS PEREIRA DE MELO**
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: MORFOLOGIA APLICADA
NOME DA TESE: **"EFEITOS DAS AGRESSÕES NUTRICIONAL E FARMACOLÓGICA SOBRE A ESTRUTURA DO RIM DE RATOS WISTAR"**

ORIENTADORA: SILVIA REGINA ARRUDA DE MORAES

TESE DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TITULO DE MESTRE EM PATOLOGIA

DATA: 27/02/2007

BANCA EXAMINADORA:

1 – PROFº ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO

2 – PROFª. PALOMA LYS DE MEDEIROS

3 – PROFª. ELIZABETH DA SILVEIRA NEVES

DEDICO:

Aos meus pais, Valdemir e Maria Auxiliadora, pelo amor, incentivo e apoio durante toda a minha vida.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS ..... *vii*
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS ..... *ii*
LISTA DE FIGURAS ..... *iii*
LISTA DE TABELAS ..... *v*
RESUMO ..... *vi*
ABSTRACT ..... *vii*
1. INTRODUÇÃO *1*
1.1. Breve revisão sobre o sistema serotoninérgico **1**
1.2. Desnutrição e suas repercussões para o sistema serotoninérgico **2**
1.3. Alterações renais em função da deficiência nutricional **4**
1.4. Inibidores da recaptação da serotonina **5**
2. JUSTIFICATIVA *7*
3. OBJETIVOS *8*
3.1. Geral **8**
3.2. Específicos **8**
4. MATERIAL E MÉTODOS *9*
4.1. Animais **9**
4.2. Modelo Experimental **9**
4.2.1. Manipulação Nutricional 10
4.2.2. Manipulação Farmacológica 10
4.3. Obtenção da massa corpórea dos animais **11**
4.4. Eutanásia e Coleta do material **11**
4.5. Processamento histológico das amostras renais **12**
4.6. Análise morfométrica dos corpúsculos e glomérulos renais **13**
4.7. Análise Estatística **13**
4.8. Aspectos Éticos **13**
5.0. RESULTADOS *14*
5.1. Peso corpóreo **14**
5.2. Análise histológica **15**
5.3. Análise morfométrica **20**
5.3.1. Contagem total do número de Corpúsculos Renais 20
5.3.2. Áreas dos glomérulos renais, corpúsculos renais e espaços urinários 21
6. DISCUSSÃO *23*
7. CONCLUSÕES *28*
8. PERSPECTIVAS *29*
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *30*
10. ANEXOS *41*

AGRADECIMENTOS

*A **DEUS** , que esteve e está presente em todos os momentos da minha vida. Acredito que sem ele nada teria sentido.*

*Aos **meus pais** pelo amor, carinho, incentivo, sustento em toda a minha educação e por confiarem nos meus sonhos.*

*Aos **meus irmãos** pelos incentivos transmitidos e ajuda constante.*

*A professora **Silvia Regina Arruda de Moraes**, por aceitar-me como sua orientanda, pela confiança, carinho, orientação e ajuda na realização deste trabalho. Meus sinceros agradecimentos.*

*A professora **Paloma Lys de Medeiros**, pela orientação, confiança, incentivo, bondade, amizade, carinho, dedicação e tempo destinado a este trabalho. Uma pessoa muito especial na minha formação científica. Minha eterna gratidão.*

*Ao professor **Roberto José Vieira de Mello**, Coordenador do Mestrado em Patologia, que apoiou a realização deste estudo.*

*Ao professor **Raul Manhães de Castro**, que dividindo conhecimentos incentivou a realização desta pesquisa.*

*Ao professor **Cláudio Gabriel Rodrigues**, pela disponibilidade e ajuda nas configurações deste trabalho.*

*Ao Doutorando **Marcelo Tavares Viana**, pela atenção e dedicação no auxílio estatístico.*

*Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pelo suporte financeiro.*

*A **Lígia Galdino** pelas sugestões no manuseio dos animais e pelo auxilio ao compartilhar parte de seu material de pesquisa.*

*A **Silvânia Tavares Paz**, Histotecnologista especializada, pela excelente assistência técnica.*

*Ao **Dr. Edeondes Fança** e ao **Sr. Paulino Ventura**, pelos auxílios no manuseio dos animais deste trabalho e pela elaboração das dietas.*

*A **Tiago Franca**, **Milena Moura** e **Gabriela**, pela ajuda e incentivo.*

*Aos **colegas de turma de Mestrado**, pela agradável convivência, incentivo e solidariedade.*

***Aos meus amigos, Alyne, Petrônio, Katherine e Sidcley**, pela ajuda, carinho, amizade, incentivo, amor, força e conselhos.*

É muito difícil agradecer a todos sem esquecer, inevitavelmente, de alguém, mas aos que esqueci meu pedido de perdão e meus sinceros agradecimentos.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HT - Serotonina

SNC - Sistema Nervoso Central

ISRSs - Inibidores da Recaptação da Serotonina

NS - Nutrido Salina

NF - Nutrido Fluoxetina

DS - Desnutrido Salina

DF - Desnutrido Fluoxetina

DBR - Dieta Básica Regional

LABINA - Agribrands Purina do Brasil, LTDA

LISTA DE FIGURAS

Pg

Figura 1. Estrutura molecular da serotonina (Fonte: www.farmacia.ufrj.br) 1

Figura 2. Estrutura química da fluoxetina (Fonte:www.arfm.org.br/dependencia) 5

Figura 3. Organograma dos grupos experimentais com ratos wistar aos 30 e 71 dias de vida. 10

Figura 4. Demonstração da aferição do peso corpóreo dos ratos em balança digital Filizola MF-3 11

Figura 5. Procedimento da abertura do abdome para coleta do rim esquerdo. Abertura cirúrgica no sentido crânio-caudal. Região cranial (RCr) e Região caudal (RCa) 11

Figura 6. Material renal para processamento histológico. **A**) Excisão do rim, **B**) Material renal em solução fisiológica para retirada de material indesejáveis, **C**) Secção do rim em duas partes e **D**) Material sendo colocado em recipiente com fixador. 12

Figura 7. Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 30 dias. **A**) Grupo nutrido salina (NS) com glomérulo renal (estrela) e espaço urinário (seta) preservados. **B**) Grupo nutrido fluoxetina (NF) com acentuada redução do espaço urinário (seta) e túbulos contorcidos agrupados com luzes reduzidas (seta fina). H.E. 200X. 15

Figura 8. Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 30 dias. Grupo nutrido fluoxetina (NF) com evidente congestionamento glomerular (seta curva) e hipercelularidade glomerular (triângulo). H.E. 200X 16

Figura 9. Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 30 dias. **A**) Grupo desnutrido salina (DS) com redução dos espaços urinários (setas) e da luz dos túbulos contorcidos (setas finas) e hipercelularidade no tufo glomerular renal (triângulo). **B**) Grupo desnutrido fluoxetina (DF) com hipercelularidade glomerular (triângulo), redução da luz dos túbulos contorcidos (setas finas) e formação de pequenos glomérulos (cruz). H.E. 200X. 17

Figura 10. Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 71 dias. **A**) Grupo nutrido salina (NS) com glomérulo renal (estrela) e espaço subcapsular (seta) preservados. Os lumens dos túbulos contorcidos apresentam-se íntegros (setas finas). **B**) Grupo nutrido fluoxetina (NF) com acentuada redução do espaço subcapsular (seta).H.E. 400X. 18

Figura 11. Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 71 dias. **A)** Grupo desnutrido salina (DS) com reduções do espaço urinário (seta) e da luz dos túbulos contorcidos (setas finas) e hipercelularidade glomerular (triângulo). **B)** Grupo desnutrido fluoxetina (DF) com redução do espaço subcapsular (seta), redução da luz dos túbulos contorcidos (setas finas), hipercelularidade glomerular (triângulo) e acentuado congestionamento vascular (setas curvas).HE.: 400X. 19

Figura 12. Número total de Corpúsculos renais de ratos aos 30 e 71 dias sob efeitos da desnutrição e ou/ manipulação farmacológica (Fluoxetina) Os animais nutridos (N) foram amamentados por nutrizes que receberam a LABINA e os animais desnutridos (D) foram amamentados por nutrizes que receberam a DBR. Os animais (N) e (D) foram divididos em grupos com n=10 cada: tratados (DF, Fluoxetina = 10mg/kg) e seus controles (NS.e DS, salina) aos 30 e 71 dias. Os resultados estão representados com número total e desvio padrão com nível de significância (p<0,05), a Nutrido Fluoxetina *vs* Nutrido Salina, b Desnutrido Salina *vs* Nutrido Salina, c Desnutrido Salina *vs* Nutrido Salina (ANOVA, *Dunnett´s Method*) 20

LISTA DE TABELAS

Pg

Tabela 1. Valores médios do peso corpóreo de ratos aos 30 dias sob efeito da desnutrição e/ou manipulação farmacológica (fluoxetina). 14

Tabela 2. Valores médios do peso corpóreo de ratos aos 71 dias sob efeito da desnutrição e/ou manipulação farmacológica (fluoxetina). 14

Tabela 3. Áreas dos corpúsculos renais (µm²), glomérulos (µm²) e espaços urinários (µm²) dos grupos nutrido (Salina e Fluoxetina) e desnutrido (Salina e Fluoxetina) aos 30 dias sob efeito da desnutrição e/ou manipulação farmacológica (fluoxetina). 21

Tabela 4. Áreas dos corpúsculos renais (µm²), glomérulos (µm²) e espaços urinários (µm²) dos grupos nutrido (Salina e Fluoxetina) e desnutrido (Salina e Fluoxetina) aos 71 dias sob efeito da desnutrição e/ou manipulação farmacológica (fluoxetina). 22

RESUMO

Estudos epidemiológicos têm mostrado que o baixo peso ao nascer está associado a um aumento dos casos de hipertensão na vida adulta, sugerindo uma ligação entre a desnutrição fetal e o aparecimento de doenças cardiovasculares e renais. O principal objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da desnutrição e da manipulação serotoninérgica sobre a morfologia renal. Oitenta ratos machos, albinos da linhagem *Wistar* foram divididos em quatro grupos (n=20, cada): Nutrido Salina (NS); Nutrido Fluoxetina (NF); Desnutrido Salina (DS); Desnutrido Fluoxetina (DF); sendo os mesmos pesados e eutanasiados aos 30º e 71º dias de vida. Logo após os rins foram fixados em Carnoy e processados para a rotina histológica. Na análise morfométrica um sistema semi-automático computadorizado foi utilizado. Os animais do grupo NF (30 dias) apresentaram redução do peso corporal numa fase precoce da vida. A desnutrição também acarretou déficit ponderal que persistiu até uma fase tardia do desenvolvimento. No grupo DF foram observadas alterações histológicas como redução do espaço urinário e da luz dos túbulos renais, hipercelularidade glomerular e acentuado congestionamento vascular. A análise morfométrica mostrou que o número de corpúsculos renais no grupo DS apresentou diferença significativa (ANOVA, *Dunnett´s Method*) quando comparados ao grupo NS. O grupo tratado com fluoxetina (30 dias) apresentou aumento no número de corpúsculos renais com relação ao controle. As médias das áreas dos glomérulos e corpúsculos renais dos DS apresentaram $p<0,05$ quando comparadas ao controle. A diferença das médias das áreas dos espaços urinários foi significativa dentro dos DS e NF. O presente estudo demonstrou que as alterações histológicas observadas nos animais desnutridos foram mais acentuadas naqueles tratados com fluoxetina, sugerindo um modelo de falha renal.

Palavras-chave: Morfologia renal; desnutrição; manipulação serotoninérgica; fluoxetina.

ABSTRACT

Epidemiological studies have shown that low birth weight is associated with an increased incidence of hypertension in adult life suggesting a link between fetal nutrition, development and adult cardiovascular and renal diseases. The principal objective of the present study was evaluating the effects of malnutrition and serotoninergic manipulation upon kidney morphology. Eighty male albino *Wistar* rats were divided into four groups (n=20, each): Saline Nourished (NS); Fluoxetine Nourished (NF); Saline Malnourished (DS) ;Fluoxetine Malnourished (DF); that were weighed and sacrificed at 30 and 71 days of life. After the kidneys were fixed with Carnoy, and processed for histological routine. To morphometrical analysis a computadorized semiautomatic system was used. The animals of NF group had presented reduction in the body weight in an early phase of the life. The malnutrition also caused ponderal deficit that persisted until a delayed phase of the development. In DF group were observed histology alterations like reduction space urinary and light of renal tubules, glomerular hypercellularity and accentuated vascular congestion. The morphometrical analysis showed that the number of renal corpuscules in group DS presented significant difference (ANOVA, Dunnett´s Method) when compared to NS. The Fluoxetine group when compared to the control showed an increase in the number of renal corpuscules at 30 days. The averages of the areas of the glomerulus and renal corpuscules of the DS had presented comparative $p<0.05$ when the nourished group corresponding. The difference of the averages in the areas of urinary spaces was significant inside of DS and NF. The present study demonstrated that histological alterations in nourished animals more had been accented those dealing with fluoxetine, suggesting a renal failure model.

Key words: Renal morphology; malnutrition; serotoninergic manipulation; fluoxetine

1. INTRODUÇÃO

1.1. Breve revisão sobre o sistema serotoninérgico

Os sistemas de neurotransmissores estão envolvidos na modulação do desenvolvimento e crescimento. Dentre estes, destaca-se o sistema serotoninérgico o qual, é constituído por neurônios que produzem e liberam a serotonina e por todos os seus receptores. O sistema serotoninérgico constitui um tema de grande interesse para os estudos sobre desenvolvimento pela extensão e diversidade de suas funções (JACOBS; AZMITIA, 1992; MAGALHÃES, 2000).

A serotonina (5-HT, Figura 1) exerce suas funções através da interação com seus múltiplos e variados receptores (BARNES; KARP, 1999). Estes podem estar localizados em diferentes tipos de células endoteliais e ependimárias, e estão divididos em sete classes distintas ($5\text{-}HT_1$ a $5\text{-}HT_7$) sendo identificados ainda, 14 subtipos (HOYER; HANNON; MERTIN, 2002).

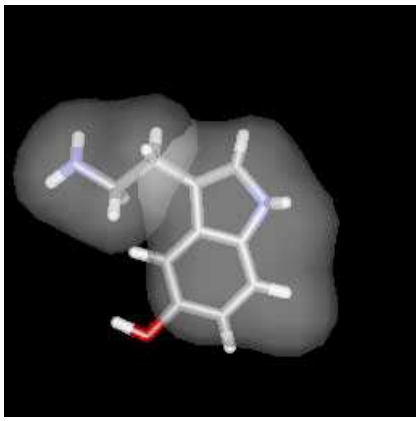

Figura 1 – Estrutura molecular da serotonina (Fonte: www.farmacia.ufrj.br).

A bioamina 5-HT pode ser encontrada em vários sítios do corpo, entre eles, na parede intestinal, nas plaquetas, no sistema nervoso central (WILKINSON; DOURISH, 1991) e como substância autócrina ou parácrima intra-renal que regula a absorção de fosfato (BERNDT et al., 2001). A serotonina no Sistema Nervoso Central (SNC) desempenha várias

funções como neurotransmissor exercendo efeitos modulatórios sobre a excitabilidade neural em várias regiões do cérebro. Além de sua ação como neurotransmissor, a 5-HT apresenta, também funções de regulação sobre o crescimento de tecidos neurais e não neurais (LAUDER, 1990; LAUDER et al., 2000; BUZNIKOV; LAMBERT; LAUDER, 2001).

Alguns trabalhos experimentais confirmam que a serotonina (5-HT) pode influenciar a embriogênese e o crescimento (PALÉN; THORNEBY; EMANELSSON, 1979; WHITAKER-AZMITIA, 1991; DEIRÓ et al., 2004), presumivelmente, por agir como sinal de desenvolvimento (YAN; WILSON; HARKING, 1997) ou como fator neurotrófico (LAUDER; WALLACE; KREBS, 1981; LAUDER et al., 1992; DEIRÓ et al., 2004).

Em camundongos a 5-HT participa da morfogênese dos órgãos (YAVARONE et al., 1993), através dos seus receptores. Dentre os tipos de receptores da serotonina, o receptor 5-HT_2 exerce um papel importante na regulação da proliferação diferenciação de células não neuronais, durante o desenvolvimento embrionário (LAUDER et al., 2000).

1.2. Desnutrição e suas repercussões para o sistema serotoninérgico

Em países subdesenvolvidos a má-nutrição é ainda um problema sério de saúde pública. As conseqüências clínicas dessa doença dependem de diversos fatores, em especial a gravidade e a duração das deficiências nutritivas (WHITEHEAD; ALLEYNE, 1972).

A desnutrição materno-infantil é uma das principais causas responsáveis pelo alto índice de mortalidade infantil ainda registrado no nosso país. Grande parte da população brasileira é considerada carente com baixo poder aquisitivo e vítima de uma nutrição inadequada (CASTRO et al., 1989). Crianças desnutridas apresentam-se com deficiência imunológica e maior risco de contraírem infecções; além de considerável atraso no desenvolvimento neuropsicomotor (GRANTHAM et al., 1982; TOURINHO,1992).

Estudos experimentais mostraram que a desnutrição perinatal causa alterações permanentes na morfofisiologia do SNC e em órgãos de outros sistemas (coração, intestino,

tecido ósseo e rim), desencadeando patologias na vida adulta (BRONZINO et al, 1990; TABER et al., 1980; BARKER, 1995; GIETZEN et al., 1996). Esses estudos demonstraram ainda que a administração de dietas hipoprotéicas durante a gestação em ratas resultaram em pequenas linhagens quando comparadas àquelas alimentadas com um teor normal de proteína (LANGLEY-EVANS; NWAGWU, 1998).

A desnutrição pode alterar também os sistemas de neurotransmissores (CHEN et al., 1995; MANJARREZ et al., 1994) dentre eles o sistema serotoninérgico (CHEN et al., 1995). No rato, os primeiros neurônios produtores de serotonina aparecem entre o 12º e 14º dia de gestação (LAUDER; BLOOM, 1971). A desnutrição no início da vida de ratos pode provocar redução na densidade das fibras serotoninérgicas e nos sítios de captação da serotonina, no hipocampo (BLATT et al., 1994).

A desnutrição crônica desencadeia aumento nas concentrações da 5-hidroxitriptamina e de seu principal metabólito, o ácido 5-hidroxiindolacético (SOBOTKA; COOK; BRODIE, 1974) e alteração dos níveis de serotonina e catecolaminas em diferentes regiões cerebrais (HISATOMI; NIIYAMA, 1980). Mesmo em casos de período mais curtos de restrição alimentar em ratos neonatos, verificou-se uma alteração no metabolismo da 5-HT, além de alterações nos níveis de outras substâncias como a dopamina (HISATOMI; NIIYAMA, 1980).

Um suprimento adequado de nutrientes é imprescindível para a manutenção do crescimento em todos os sistemas orgânicos, assim como para o desenvolvimento de suas respectivas funções (LEVITSKY; BARNES, 1972; LYNCH; SMART; DOBBING, 1975; MORGANE et al., 1993). Sendo assim, a desnutrição é considerada um dos principais fatores não genéticos que pode afetar o desenvolvimento orgânico (MORGANE et al., 1993). E as repercussões de uma desnutrição precoce sobre o sistema serotoninérgico podem estender-se até a idade adulta (ISHIDA, NAKAJIMA; TAKADA, 1997).

1.3. Alterações renais em função da deficiência nutricional

Animais submetidos à restrição alimentar, durante a vida intra-uterina, apresentam peso corpóreo reduzido e alguns órgãos tem seu desenvolvimento mais afetado, como o fígado, pâncreas e o rim. A deficiência em proteínas na gestão compromete a nefrogênese, com redução do número de néfrons na prole (MERLET-BENICHOU et al., 1994; LUCAS et al., 1997; LANGLEY-EVANS; WELHAN; JACKSON, 1999). Estudos epidemiológicos têm mostrado que o baixo peso ao nascer está associado a um aumento da incidência de hipertensão na vida adulta (BARKER et al., 1990), sugerindo uma ligação entre a desnutrição fetal e o aparecimento de doenças cardiovasculares.

Drásticas mudanças morfofuncionais são visualizadas microscopicamente quando determinadas agressões acontecem numa etapa vulnerável do desenvolvimento (NOVACK; EISENMAN, 1981). As alterações podem ser parcialmente reversíveis ou não, em função da magnitude das agressões e dos fatores ambientais aos quais estão submetidos os indivíduos (LEVITSKY, BARNES, 1972).

Sabe-se que o jejum aumenta a resistência vascular renal, reduz o fluxo plasmático renal, e leva a uma gradativa redução na filtração glomerular. Quatro fatores determinam a filtração glomerular (BRENNER; LAWER; MACKENZIE, 1996), o fluxo plasmático renal, a pressão oncótica sistêmica, a diferença de pressão transcapilar e o coeficiente de ultrafiltração glomerular. Brenner Et al (1988) referem que a redução da área de filtração glomerular no rim deve-se a um decréscimo no número de glomérulos e/ou na área de filtração glomerular, conduzindo a uma retenção de sódio e subseqüente aumento na pressão sanguínea arterial.

Há evidências que a deficiência dietética de sódio pode determinar, através do aumento de renina plasmática, retardo de crescimento em animais jovens (RAY et al 1992), sendo mais sensíveis as células imaturas, em especial as células renais, relacionadas com o transporte de sódio (ÖSTLUND et al., 1993).

1.4. Inibidores da recaptação da serotonina

Intervenção farmacológica no sistema serotoninérgico pode ser realizada em diversas etapas do metabolismo da 5-HT: na síntese, no armazenamento ou na liberação do neurotransmissor (BORNE, 1994; GRAEFF, 1998). Há drogas que atuam sobre receptores serotoninérgicos, potencializando ou inibindo a ação da bioamina, podendo inclusive, inativar sua recaptação nos terminais nervosos ou afetar seu metabolismo (GRAEFF, 1998).

Os inibidores de recaptura da 5-HT levam a um aumento da serotonina na fenda sináptica (YONEMURA et al., 1991) e conseqüentemente potencializam a ação desse neurotransmissor. Os Inibidores Seletivos de Recaptação da Serotonina (ISRS), como a fluoxetina, citalopram e zimelidina são usados como antidepressivos (MAGALHÃES, 2000; SILVEIRA, 2000). O uso de antedepressivos, do tipo inibidor da recaptação da serotonina, tem aumentado nos últimos anos na prática neurológica e psiquiátrica. Como são drogas de introdução, pouco se sabe sobre seus efeitos secundários precoces e tardios.

A fluoxetina (Figura 2), derivado propilamínico cíclico, é um inibidor potente e seletivo da recaptura de 5-HT nas fendas sinápticas do SNC e possui também efeito anorexígeno. A absorção gastrintestinal é boa, com início dos efeitos entre a primeira e a quarta semana e é excretada por via renal e biliar (CAVALLAZZI; GREZESIUK, 1999).

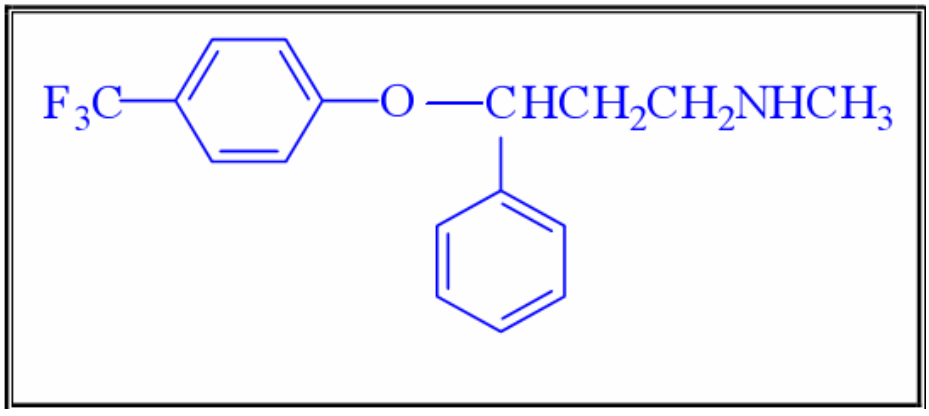

Figura 2 - Estrutura química da fluoxetina (Fonte: www.afm.org.br/dependencia).

Ratos tratados com ISRSs demonstram redução na tamanho, no peso corporal e no peso de diversos órgãos. Tais achados evidenciam o papel trófico da serotonina no desenvolvimento de tecidos (MAGALHÃES, 2000; DEIRÓ et al., 2002).

O uso de inibidores da recaptação de 5-HT, como o antidepressivo fluoxetina é capaz de regular a reabsorção de fosfato no interstício renal (BERNDT et al., 2001). De acordo com essa hipótese, níveis elevados de serotonina no interstício renal aumentariam a excreção de fosfato, acarretando um aumento da reabsorção de sódio a nível de túbulos renais, com repercussões para o organismo como um todo. O efeito da agressão farmacológica sobre os sistemas de neurotransmissão, particularmente o sistema serotoninérgico, merece atenção especial, pois este sistema elicia ou modula uma ampla variedade de funções do sistema nervoso central (CHOPIN et al., 1994).

2. JUSTIFICATIVA

O uso de antidepressivos no tratamento de crianças e adolescente com quadros depressivos, tem crescido substancialmente, o que mostra haver necessidade de se obter informações acerca do efeito dessas drogas sobre o desenvolvimento dos diferentes tecidos orgânicos. Trabalhos experimentais demonstraram que muitas dessas drogas, como a fluoxetina, utilizada durante o período neonatal, agem sobre o sistema serotoninérgico atuando sobre o desenvolvimento somático e sensório-motor e sobre o padrão adulto dos comportamentos agressivo e alimentar (BARROS, 1999; MAGALHÃES, 2000; MANHÃES DE CASTRO e col., 2001; DEIRÓ et al, 2002).

O estudo da redução de peso em animais desnutridos tem importância tanto do ponto de vista experimental como clínico, devido à diversidade de reações do organismo desnutrido mediante agressões durante o desenvolvimento e crescimento. Considerando-se a desnutrição uma realidade, principalmente na região Nordeste do Brasil, estudos que determinem suas conseqüências sobre o desenvolvimento de órgãos vitais (coração, fígado e na nossa análise, especialmente os rins), são de extrema relevância na caracterização de alterações estruturais que possam contribuir no esclarecimento de algumas doenças.

Sabe-se também, que alterações na estrutura renal podem determinar importantes modificações funcionais, sendo assim, o presente estudo sugere a necessidade de serem empreendidas análises das estruturas renais, para o esclarecimento dessas modificações em animais submetidos ao estado de desnutrição e sob influência do uso de drogas inibidoras da recapatação de serotonina, durante o período neonatal.

Desta forma, o presente estudo, fazendo uso do rato como modelo experimental, para avaliação do desenvolvimento, poderá fornecer subsídios para uma melhor compreensão dos eventuais efeitos causados por agressões nutricionais e/ou farmacológicas no tecido renal durante o período neonatal, e dessa forma esclarecer as possíveis repercussões destas agressões sobre o crescimento e desenvolvimento do rim.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar as repercussões decorrentes do efeito da desnutrição e/ou da manipulação do sistema serotoninérgico através do uso de um inibidor seletivo da recaptação da serotonina (fluoxetina) sobre o crescimento do rim de ratos.

3.2. Específicos

3.2.1. Avaliar o peso corpóreo dos animais aos 30 e 71 dias de vida.

3.2.2. Analisar a morfologia renal de animais desnutridos e/ou sob manipulação serotoninérgica.

3.2.3. Avaliar a área dos corpúsculos e dos glomérulos renais dos animais desnutridos e/ou sob manipulação serotoninérgica.

3.2.4. Determinar o tamanho do espaço urinário dos animais desnutridos e/ou sob manipulação serotoninérgica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados oitenta ratos albinos da linhagem *Wistar*, com 30 e 71 dias de vida, provenientes do biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de $23 \pm 1^{o}C$, num controle de ciclo de iluminação (12 horas, claro: 12 horas, escuro). Os mesmos tiveram livre acesso a água filtrada e ração padrão do biotério (LABINA-Purina do Brasil, contendo 23% de proteína).

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

Um dia após o nascimento dos filhotes foram constituídas ninhadas de seis neonatos por mãe. Foram escolhidos somente animais machos com peso entre 6 a 8 gramas. Os animais foram distribuídos entre as mães não existindo filhotes de uma mesma ninhada nos grupos experimentais.

4.2. Modelo Experimental

Os animais experimentais foram divididos em dois grandes grupos (Nutridos e Desnutridos), com 40 animais cada. O grupo nutrido foi subdividido em dois grupos com 20 animais cada (Nutrido Salina – **NS** e Nutrido Fluoxetina – **NF**). O grupo desnutrido também foi subdividido em dois grupos com 20 animais cada (Desnutrido Salina – **DS** e Desnutrido Fluoxetina – **DF**), (Figura 3).

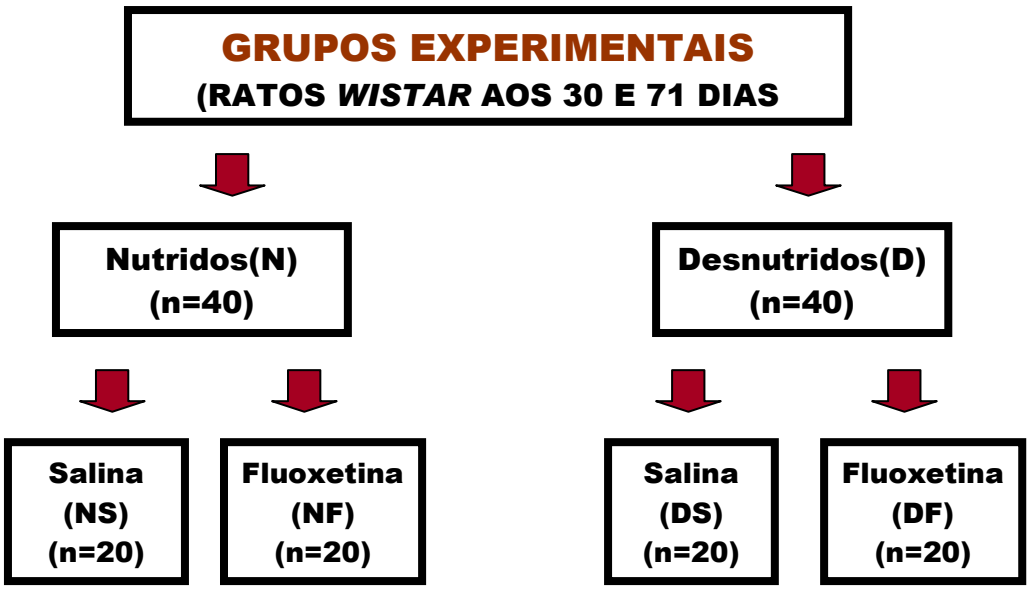

Figura 3 – Organograma dos grupos experimentais com ratos *Wistar* aos 30 e 71 dias de vida

4.2.1. Manipulação Nutricional

Grupo Nutrido (N): Composto por filhotes amamentados por nutrizes que receberam a dieta padrão utilizada no biotério, normoprotéica com 23% de proteínas (LABINA - Agribrands Purina do Brasil, LTDA), (**Anexo 1**).

Grupo Desnutrido (**D**): Composto por filhotes amamentados por nutrizes que receberam uma dieta hipoprotéica, com 8% de proteína (Dieta Básica Regional- DBR, conforme Teodósio et al. (1990), (**Anexo 2**). Após o desmame, os filhotes receberam a dieta padrão do biotério.

4.2.2. Manipulação Farmacológica

Os animais dos grupos nutrido e desnutrido foram divididos em dois grupos:

- Grupo Salina (**S**): Tratados com solução fisiológica de Cloreto de Sódio a 0,9%, 1mL/100g de peso corporal, via subcutânea, diariamente entre 7 e 8 horas da manhã, do 1º ao 21º dia de vida.
- Grupo Fluoxetina (**F**): Tratado com Fluoxetina na dose de 10mg/kg, 1mL/100g de peso corporal, via subcutânea, diariamente entre 7 e 8 horas da manhã, do 1º ao 21º dia de vida.

4.3. Obtenção da massa corpórea dos animais

A massa corpórea dos animais foi aferida em balança digital Filizola modelo MF-3, com capacidade de 3kg e sensibilidade de 0,5g, nas idades de 30 e 71 dias (Figura 4).

Figura 4. Demonstração da aferição do peso corpóreo dos ratos em balança digital Filizola MF-3.

4.4. Eutanásia e Coleta do material

Os animais dos diferentes grupos foram eutanasiados aos 30 e 71 dias de vida para estudo *post morten*. Inicialmente foram anestesiados via subcutânea com cloridrato de xilazina (Rompum®, Bayer; 0,03mL/100g de peso) e quetamina (Ketalar®; 0,25mL/100g de peso). Após a anestesia, foi feita a abertura do abdome para a retirada imediata do rim esquerdo dos animais e encaminhamento para processamento histológico (Figura 5).

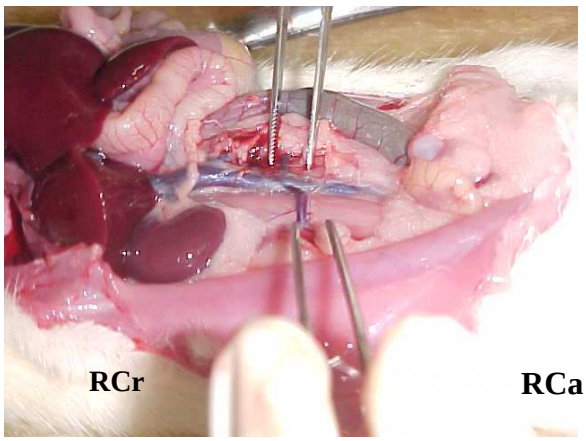

Figura 5. Procedimento da abertura do abdome para coleta do rim esquerdo. Abertura cirúrgica no sentido crânio-caudal: Região cranial (**RCr**) e Região caudal (**RCa**).

4.5. Processamento histológico das amostras renais

Com o auxílio de um bisturi, foi feito um corte frontal dividindo-se o órgão em duas partes iguais anterior e posterior, as quais foram fixadas em Carnoy por 45 minutos e em seguida em álcool a 70% (Figura 6: A, B, C, D). Após a fixação, foram desidratados em uma bateria crescente de álcoois (80 a 100ºC), diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Em seguida, realizaram-se cortes histológicos com espessura de 5µm. Os cortes foram corados pela técnica Hematoxilina-Eosina (H&E, **Anexo 3**) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética (Entellan®,Merck).

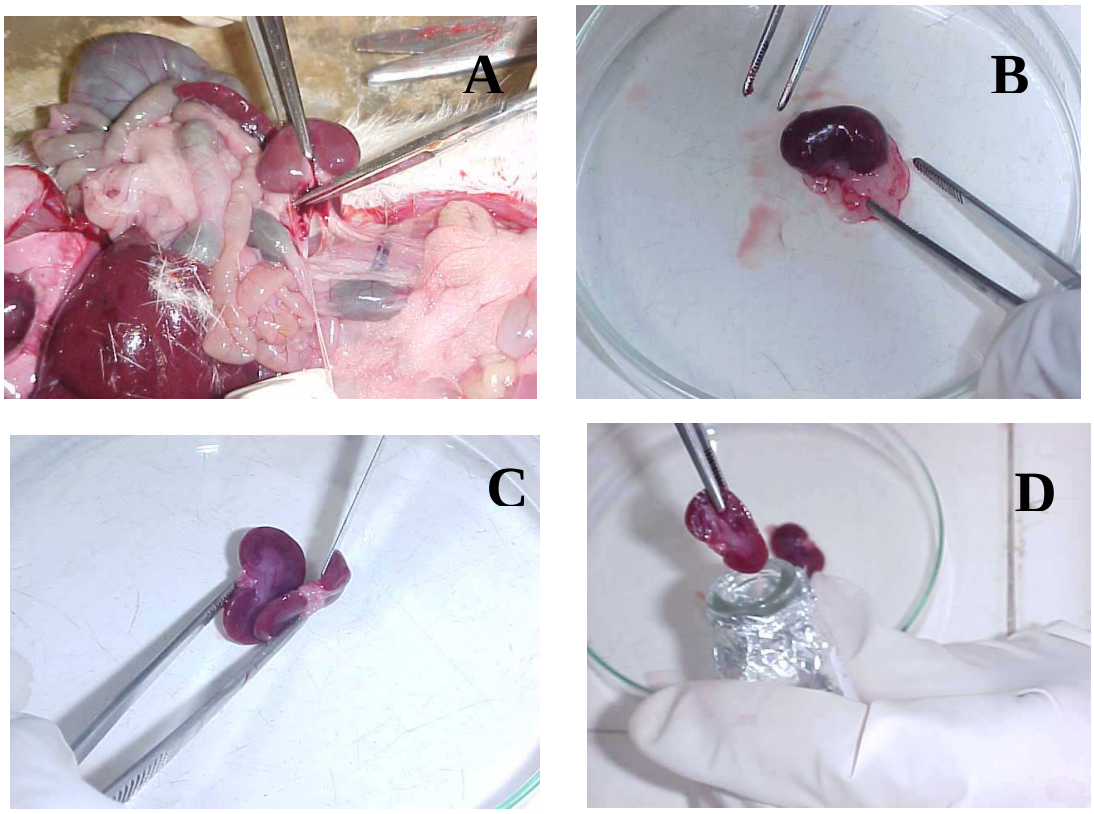

Figura 6. Material renal para processamento histopatológico. **A**) Excisão do rim, **B)** Material renal em solução fisiológica, para retirada de tecidos indesejáveis, **C)** Secção do rim em duas partes e **D)** Material sendo colocado em recipiente com fixador.

4.6. Análise morfométrica dos corpúsculos e glomérulos renais

Após a montagem, as lâminas foram avaliadas para a escolha dos cortes que seguiram para análise morfométrica. Foram realizadas as mensurações das áreas dos corpúsculos e glomérulos renais, através de um microscópio óptico OLYMPUS BX 50. Este microscópio foi aclopado a um microcomputador com programa para captação de imagem, VCRIII. De cada lâmina, foram obtidas 20 imagens de corpúsculos renais. Em seguida, através de outro programa, *Scion Imagem-Beta* 4.0:2, estas imagens dos corpúsculos renais foram submetidas a análise morfométrica.

A partir dos valores médios obtidos calculou-se a diferença entre a área dos corpúsculos e a área dos glomérulos renais que permitiu a avaliação das áreas dos espaços urinários (subcapsular).

4.7. Análise Estatística

As comparações entre os pesos médios, contagem de corpúsculos e análise das médias das áreas dos corpúsculos, glomérulos renais, assim como dos espaços urinário dos animais nutridos e denutridos, com e sem o uso da fluoxetina, foram realizadas pelo teste ANOVA, com *post hoc* de Tukey e Método de Dunnett´s ao nível de 5%.

4.8. Aspectos Éticos

O protocolo experimental desenvolvido no presente trabalho foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (CCB- Ofício nº 40/05) (**Anexo 4**).

5.0. RESULTADOS

5.1. Peso corpóreo

Na idade de 30 dias observamos redução do peso corpóreo (g) dos animais do grupo NF quando comparado ao grupo NS (p<0,05). O grupo DS também mostrou redução do peso corpóreo quando comparado ao grupo NS (p<0,05). O peso corpóreo do grupo DF não apresentou diferença em relação ao grupo DS (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios do peso corpóreo de ratos aos 30 dias sob efeitos da desnutrição e/ou manipulação farmacológica (fluoxetina).

GRUPOS	PESO CORPORAL 30 DIAS
Nutrido salina (NS)	90,32 ± 5,91
Nutrido fluoxetina (NF)	82,64 ± 7,53[a]
Desnutrido salina (DS)	27,35 ± 5,88[b]
Desnutrido fluoxetina (DF)	19,87 ± 2,93

Os resultados estão representados com média e desvio padrão do peso corporal em gramas com nível de significância(p<0,05), [a]Nutrido Fluoxetina *vs* Nutrido Salina, [b]Desnutrido Salina *vs* Nutrido Salina (ANOVA, *Dunnett´s Method*)

Aos 71 dias,de vida observamos que não houve redução do peso corpóreo dos animais grupo NF quando comparado ao grupo NS. Porém o grupo DS apresentou redução do peso corpóreo (g) quando ao grupo NS (p<0,05). O grupo DF não apresentou diferença quando comparado ao grupo DS (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios do peso corpóreo de ratos aos 71 dias sob efeitos da desnutrição e /ou manipulação farmacológica (fluoxetina).

GRUPOS	PESO CORPORAL 71 DIAS
Nutrido salina (NS)	292,7 ± 17,13
Nutrido fluoxetina (NF)	283,3 ± 26,60
Desnutrido salina (DS)	248,0 ± 45,43[a]
Desnutrido fluoxetina (DF)	227,3 ± 49

Os resultados estão representados com média e desvio padrão do peso corporal em gramas com nível de significância(p<0,05), [a]Desnutrido Salina *vs* Nutrido Salina, (ANOVA, *Dunnett´s Method*)

5.2. Análise histológica

A avaliação histológica dos rins de ratos *Wistar* com 30 dias, pertencentes ao grupo nutrido fluoxetina (NF), revelou glomérulos renais com acentuada redução do espaço subcapsular (espaço urinário) quando comparado ao grupo controle. Os túbulos contorcidos desses rins (região cortical) apresentaram-se agrupados com redução dos lumens (Figura **7**).

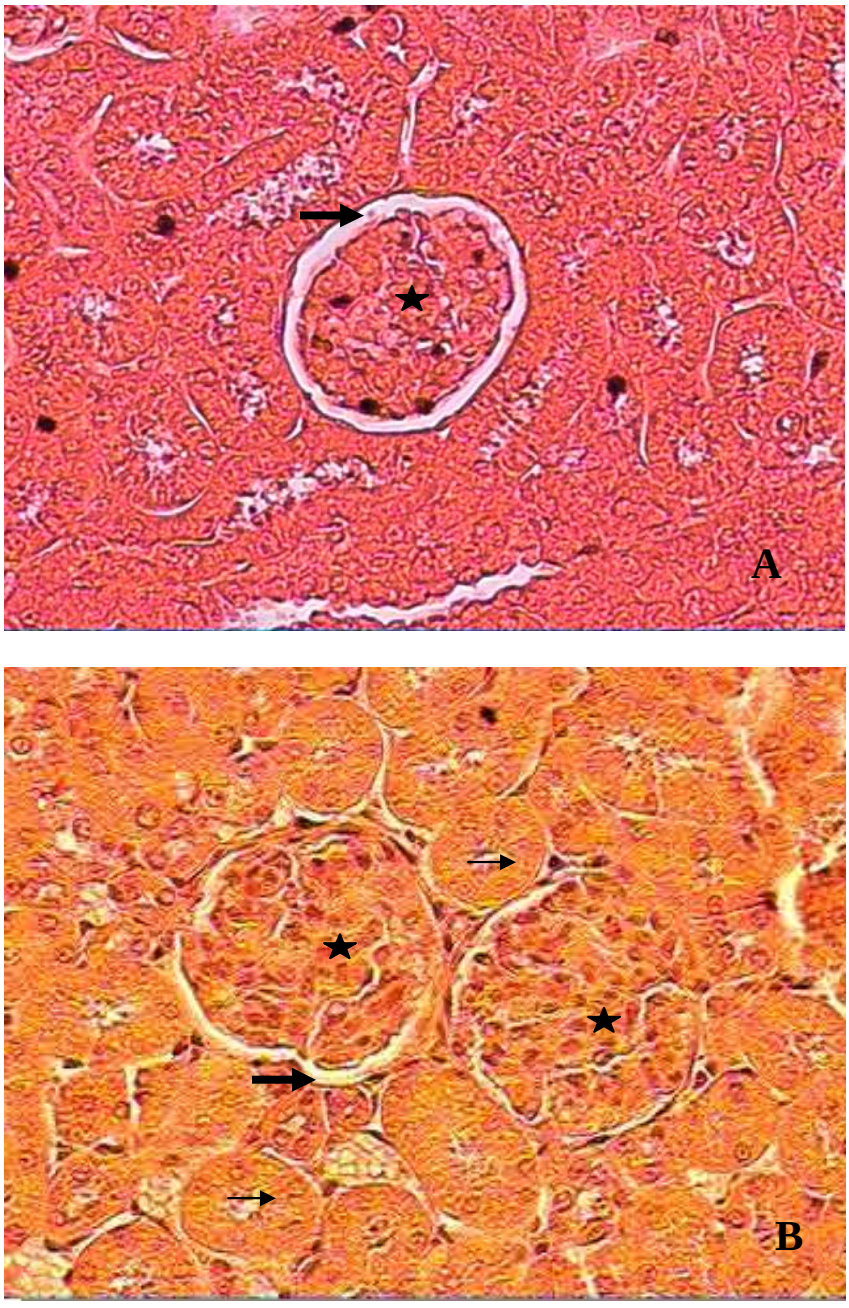

Figura 7 - Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 30 dias. **A)** Grupo nutrido salina (NS) com glomérulo renal (estrela) e espaço urinário (seta) preservados. **B)** Grupo nutrido fluoxetina (NF) com acentuada redução do espaço urinário (seta) e túbulos contorcidos agrupados com luzes reduzidas (seta fina). H.E.: 200X.

O grupo nutrido fluoxetina (NF), além das alterações já referidas, apresentou relevante congestionamento da vascularização e hipercelularidade do tufo capilar glomerular (Figura 8).

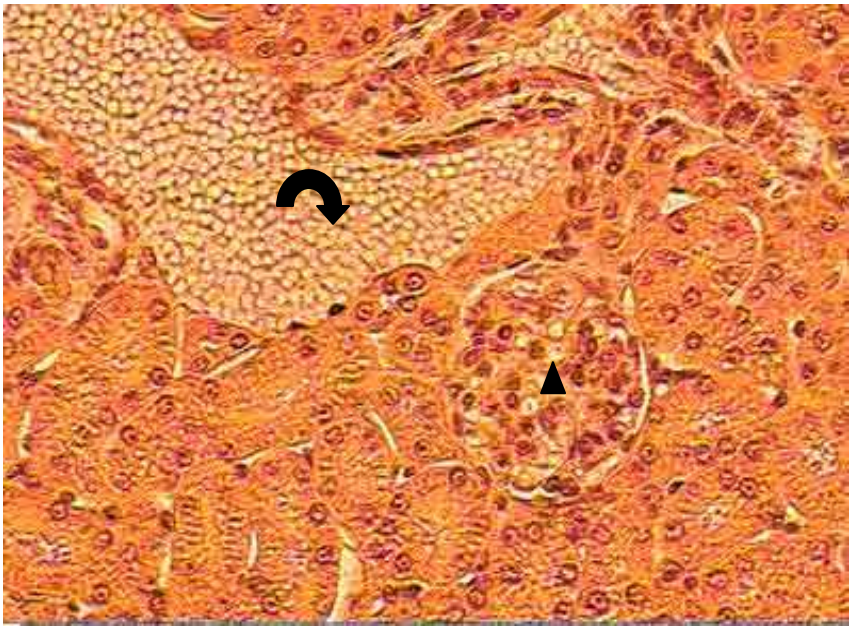

Figura 8 - Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 30 dias de vida. Grupo nutrido fluoxetina (NF) com evidente congestionamento vascular (seta curva) e hipercelularidade glomerular (triângulo). H.E.: 200X.

Os achados histológicos para o grupo desnutrido salina (DS) revelaram redução dos espaços urinários e da luz dos túbulos contorcidos, além de acentuada hipercelularidade no tufo glomerular (Figura 9A). O grupo desnutrido fluoxetina (DF) apresentou hipercelularidade glomerular, com uma concentração maior de células voltadas para a periferia do glomérulo, devido a uma proliferação do folheto parietal da cápsula de Bowman, preenchendo parcialmente o espaço subcapsular. Redução considerável da luz dos túbulos contorcidos também foi observada e assim como pequenos glomérulos em formação (Figura 9B).

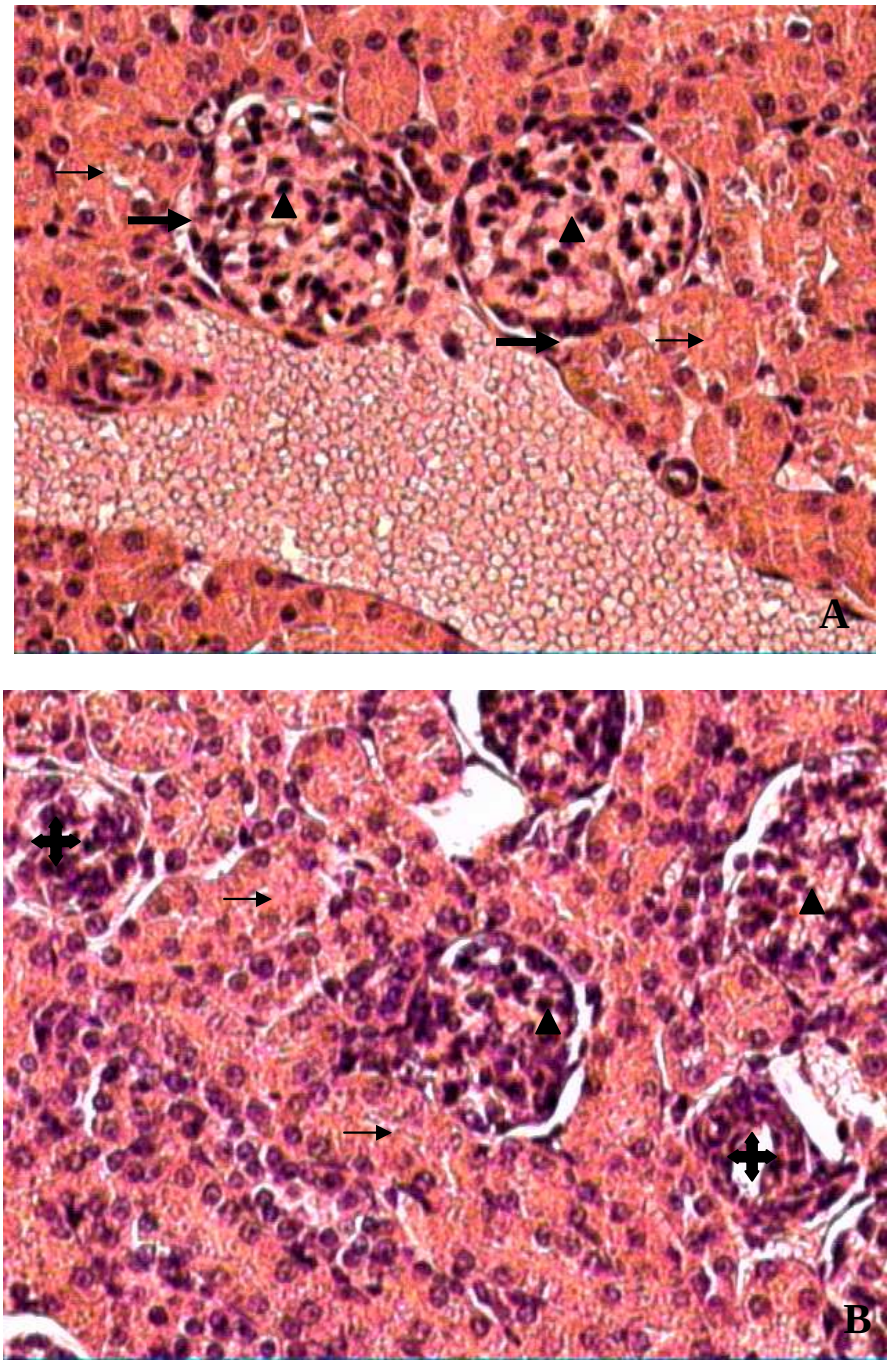

Figura 9 - Fotomicrografia dos rins de ratos Wistar com 30 dias de vida. **A)** Grupo desnutrido salina (DS) com redução dos espaços urinários (setas) e da luz dos túbulos contorcidos (setas finas) e hipercelularidade no tufo glomerular renal (triângulo). **B)** grupo desnutrido fluoxetina (DF) com hipercelularidade glomerular (triângulos), redução da luz dos túbulos contorcidos (setas finas) e formação de pequenos glomérulos (cruz), H.E.: 200X.

Os animais do grupo nutrido salina (NS) com 71 dias de vida apresentaram glomérulos renais com espaços urinários preservados e túbulos contorcidos próprios da região cortical (Figura 10A). Todavia, as características morfológicas referidas acima não foram às mesmas para o grupo nutrido fluoxetina (NF) na referida idade, evidenciando-se acentuada redução do espaço subcapsular (Figura 10B).

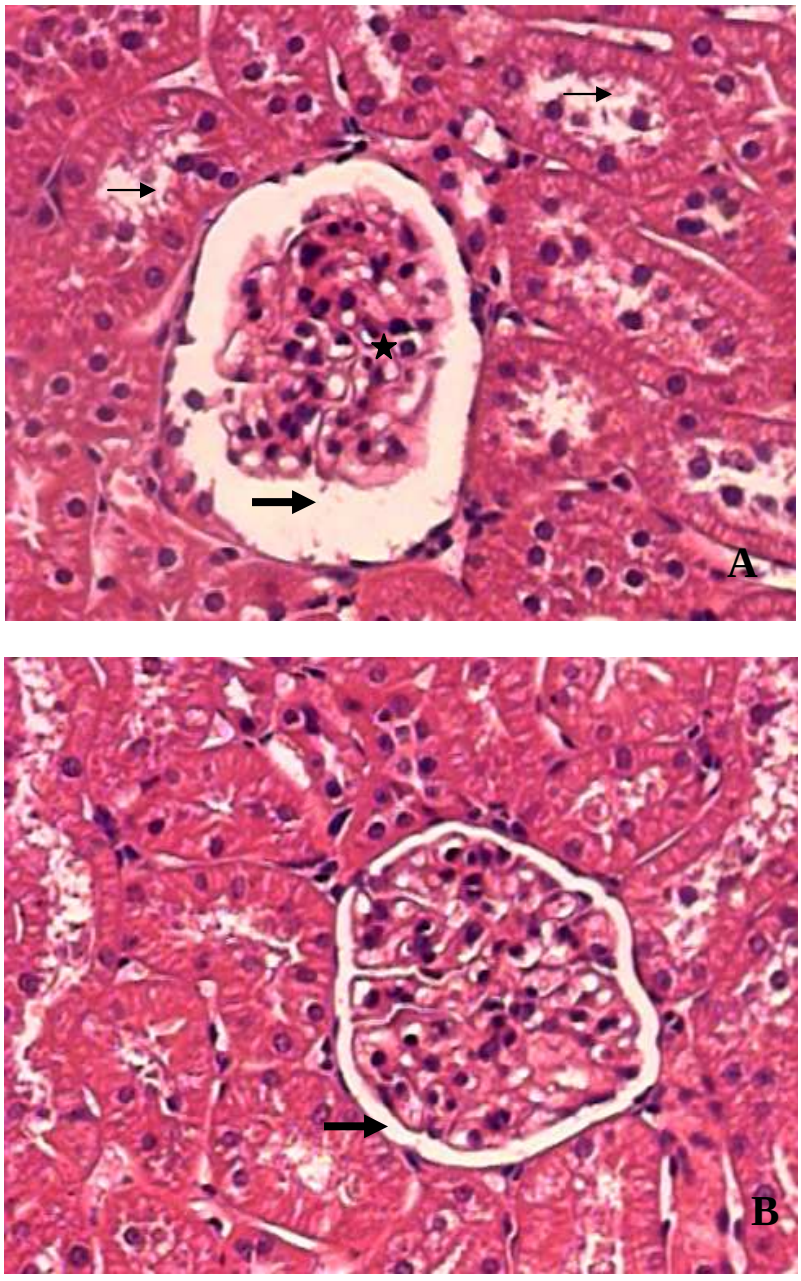

Figura 10 - Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 71 dias. **A)** Grupo nutrido salina (NS) com glomérulo renal (estrela) e espaço subcapsular (seta) preservados. Os lumens dos túbulos contorcidos apresentam-se íntegros (setas finas). **B)** Grupo nutrido fluoxetina (NF) com acentuada redução do espaço subcapsular (seta). H.E.: 400X.

Na figura 11A observamos que os animais do grupo desnutrido salina (DS) com 71 dias de vida apresentaram reduções do espaço urinário e da luz dos túbulos contorcidos, e hipercelularidade glomerular. O grupo desnutrido fluoxetina (DF) apresentou, além das referidas alterações já mencionadas, um acentuado congestionamento vascular (Figura 11B).

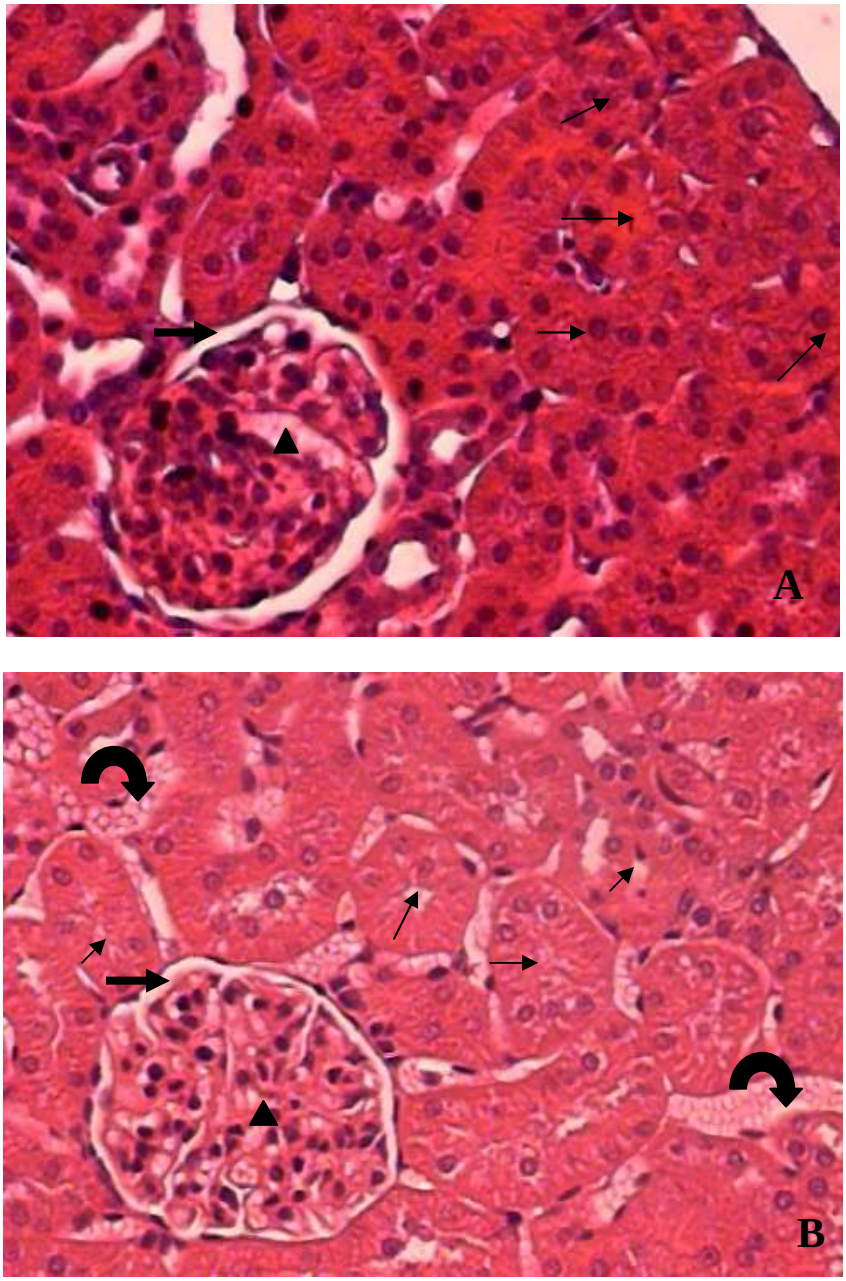

Figura 11 - Fotomicrografia dos rins de ratos *Wistar* com 71 dias. **A)** Grupo desnutrido salina (DS) com reduções do espaço urinário (seta) e da luz dos túbulos contorcidos (setas finas) e hipercelularidade glomerular (triângulo). **B)** Grupo desnutrido fluoxetina (DF) com redução do espaço subcapsular (seta), redução da luz dos túbulos contorcidos (setas finas), hipercelularidade glomerular (triângulo) e acentuado congestionamento vascular (setas curvas).HE.: 400X.

5.3. Análise morfométrica

5.3.1. Contagem total do número de Corpúsculos Renais

De cada grupo estudado, nutridos (NS-salina e NF-fluoxetina) e desnutridos (DS-salina e DF-fluoxetina), cinco preparações foram submetidas à contagem do número de corpúsculos renais, estabelecendo-se 50 campos de visualização por preparação. Observamos aumento do número de corpúsculos renais no grupo NF (2,64 ± 1,40*) quando comparado ao grupo NS (2,40 ± 1,29), aos 30 dias. Na mesma idade o grupo DS (5,67 ± 1,95*) exibiu diferença quando comparado ao grupo NS (2,40 ± 1,29). O grupo DF não apresentou aumento desse número quando comparado ao grupo DS. Aos 71 dias o grupo NF (2,52 ± 1,31) não exibiu diferença quando comparado ao grupo NS (2,43 ± 1,19). Já o grupo DS (6,57 ± 2,40*) apresentou diferença (aumento do número de corpúsculos) quando comparado ao grupo NS (2,40 ± 1,19), aos 71 dias (Figura 11).

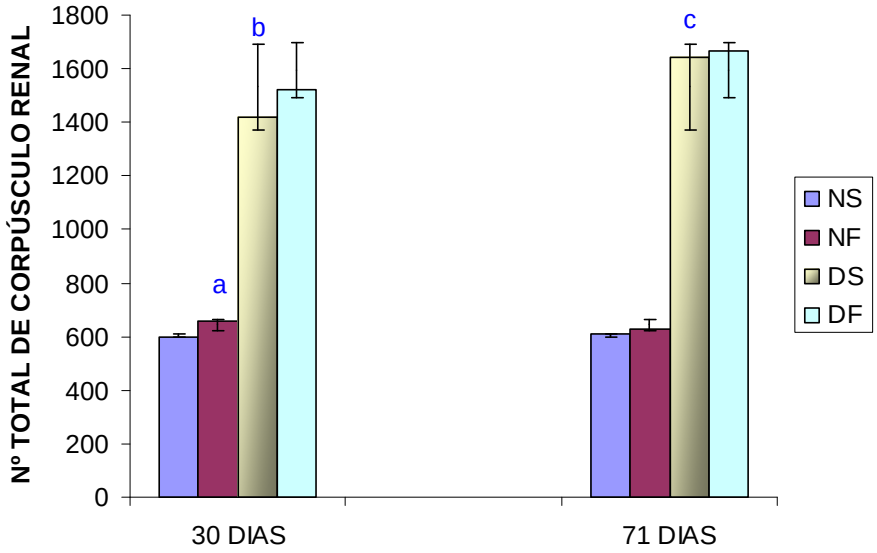

Figura 12. Número total de Corpúsculos renais de ratos aos 30 e 71 dias sob efeitos da desnutrição e/ou manipulação farmacológica (Fluoxetina) Os animais nutridos (N) foram amamentados por nutrizes que receberam a LABINA e os animais desnutridos (D) amamentados por nutrizes que receberam a DBR. Os animais (N) e (D) foram divididos (n=10 cada): tratados (NF, DF, Fluoxetina = 10mg/kg) e seus controles (NS.e DS, salina) aos 30 e 71 dias. Os resultados estão representados como número total e desvio padrão com nível de significância (p<0,05), a Nutrido Fluoxetina *vs* Nutrido Salina, b Desnutrido Salina *vs* Nutrido Salina, c Desnutrido Salina *vs* Nutrido Salina (ANOVA, *Dunnett´s Method*).

5.3.2. Áreas dos glomérulos renais, corpúsculos renais e espaços urinários

Através do estudo morfométrico de rins dos animais com 30 dias nutrido fluoxetina observamos que as áreas (µm²) dos corpúsculos e glomérulos renais não exibiram diferenças quando comparadas ao grupo controle. Por outro lado, observamos redução do espaço urinário que apresentou diferença significativa nos animais submetidos ao tratamento com a fluoxetina quando comparados ao controle. No grupo desnutrido salina observam-se diferenças significativas nas áreas dos corpúsculos renais, glomérulos renais e dos espaços urinários quando comparados ao grupo nutrido salina. Por outro lado, dentro do grupo desnutrido as alterações relacionadas as áreas dos corpúsculos, glomérulos renais e espaço urinário não foram estatisticamente significativas em relação aos animais submetidos ao tratamento com a fluoxetina (Tabela 3).

Tabela 3. Áreas dos corpúsculos renais (µm²), glomérulos (µm²) e espaços urinários (µm²) dos grupos nutrido (Salina e Fluoxetina) e desnutrido (Salina e Fluoxetina) aos 30 dias sob efeitos da desnutrição e /ou manipulação farmacológica (fluoxetina)

Parâmetros	Nutrido salina	Nutrido fluoxetina	Desnutrido salina	Desnutrido fluoxetina
Corpúsculo renal	266,01 ± 43,72	261,80 ± 47	185,20 ± 28[b]	148,34 ± 22,95
Glomérulo renal	194,01 ± 35,63	203,83 ± 42,68	130,54 ±23,25[b]	101,36 ± 19,73
Espaço urinário	71,64 ± 18,63	57,98 ± 16,07[a]	54,64 ± 11,12[b]	46,98 ± 9,49

Os resultados estão representados em média e desvio padrão com nível de significância (p<0,05), a Nutrido Fluoxetina *vs* Nutrido Salina, b Desnutrido salina vs Nutrido salina.(ANOVA, *Dunnett´s Method*).

Aos 71 dias, no grupo nutrido fluoxetina as médias das áreas dos glomérulos renais e espaço urinário exibiram redução significativa quando comparadas ao grupo nutrido salina (controle). Por outro lado, os glomérulos renais do grupo nutrido fluoxetina não exibiram diferença quando comparado ao respectivo controle. No grupo desnutrido salina as médias das áreas dos glomérulos renais, corpúsculos renais e espaço urinário exibiu diferença quando comparados áquelas do grupo nutrido salina. No entanto, o grupo desnutrido salina não apresentou diferença quando comparado ao grupo desnutrido fluoxetina (Tabela 4).

Tabela 4. Áreas dos corpúsculos renais (µm²), glomérulos (µm²) e espaços urinários (µm²) dos grupos nutrido (Salina e Fluoxetina) e desnutrido (Salina e Fluoxetina) aos 71 dias sob efeitos da desnutrição e/ou manipulação farmacológica (fluoxetina).

Parâmetros	**Nutrido salina**	**Nutrido fluoxetina**	**Desnutrido salina**	**Desnutrido fluoxetina**
Corpúsculo renal	527,19 ± 93,90	488,14±100,40[a]	461,04 ± 80,76[b]	428,16 ± 76,78
Glomérulo renal	373,32 ± 73,08	358,53 ± 76,51	331,35 ± 68,24[b]	327,33 ± 62,77
Espaço urinário	154,11 ± 45,63	129,57 ± 42,59[a]	130,31 ± 26,50[b]	100,05 ± 27,51

Os resultados estão representados em média e desvio padrão com nível de significância (p<0,05), a Nutrido Fluoxetina *vs* Nutrido Salina, b Desnutrido salina *vs* Nutrido salina (ANOVA, *Dunnett´s Method*).

6. DISCUSSÃO

A desnutrição é considerada um grave problema de saúde pública no nosso País, sobretudo no Nordeste e os efeitos mais graves estão relacionados com a forma crônica da doença que se manifesta principalmente como marasmo e kwashiorkor. Todavia, os efeitos tardios da desnutrição como àqueles produzidos pela má-nutrição intra-uterina e que se manifestam na vida adulta, tem chamado atenção da comunidade científica, inclusive de epidemiologistas. Portanto, estudos experimentais sobre os efeitos da desnutrição utilizam normalmente dietas hipoprotéicas, porém balanceadas quanto aos demais nutrientes (GARDNER et al. 2002; LANGLEY-EVANS; NAWAGWU et al., 1998) e variantes destes modelos seriam consideradas como restrição dietética crônica (WOODALL et al., 1996).

Os modelos mencionados na literatura têm demonstrado aspectos importantes da desnutrição, porém não reproduzem a realidade de algumas populações, quer seja pelos aspectos econômicos, quer seja pelos aspectos educacionais. A dieta básica regional (DBR) foi utilizada no nosso estudo por tratar-se de uma dieta multicarenciada (Anexo 2) e apresentar-se, portanto, maior semelhança com a realidade de algumas populações de nossa região.

Na presente pesquisa, os animais submetidos á dieta multicarenciada durante o período de aleitamento apresentaram baixo peso ao nascer, no desmame e na vida adulta. Achados da literatura mencionam que dietas hipoprotéicas administradas no período pós natal são capazes de reduzir os níveis dos fatores de crescimento semelhante á insulina (IGFs), comprometendo o crescimento num período crítico de proliferação e diferenciação celular (DESAI; HALES, 1997).

Nossos resultados revelaram redução estatisticamente significativa no peso corporal médio dos animais nutridos e tratados com Fluoxetina com 30 dias, quando comparados aos animais controles; o que não foi observado para o grupo desnutrido nas mesmas condições. É possível que a característica hipossódica da DBR tenha contribuído com o baixo peso

corpóreo desses animais, sendo mais agravante especialmente para aqueles tratados diariamente com fluoxetina de acordo com as condições experimentais estabelecidas. Segundo Ray et al (1992) a deficiência dietética de sódio pode determinar, através do aumento de renina plasmática, retardo do crescimento em animais jovens, cuja células imaturas são mais sensíveis, em especial as células relacionadas com o transporte de sódio (OSTLUND et al., 1993).

A redução do peso corporal nos ratos nutridos tratados com fluoxetina, numa fase precoce da vida, pode estar relacionada a ação inibitória da serotonina no controle da ingestão alimentar (BLUNDELL; LAWTON; HALFORD, 1995; HALDFOR; BLUNDELL, 1996). Alguns estudos demonstraram que filhos de usuários de IRSs durante a gestação e lactação apresentaram redução do peso ao nascimento e alterações pós-natais no ganho de peso (SIMON et al., 2002 ; HENDRICK et al., 2003).

Numa faixa de idade mais avançada, animais com 71 dias de vida apresentaram redução no peso médio corporal estatisticamente significativas, quando comparamos os grupos experimentais nutridos e desnutridos, sem o uso da fluoxetina. De acordo com Gardner et al (2002) e Dohert et al (2003) o peso ao nascer é considerado um resultado diretamente proporcional ao retardo fetal decorrido de um processo de deficiência nutricional no período de aleitamento.

Os aspectos morfológicos renais encontrados na nossa pesquisa são condizentes com o quadro de má-nutrição e foram mais acentuadas no grupo de animais provenientes de mães tratadas com fluoxetina. As modificações estruturais glomerulares provavelmente influenciaram no processo de filtração glomerular e este grupo pode ter desenvolvido mecanismos “adaptativos a economia metabólica”, como sugerem os estudos de Hales e Barker (1992), em decorrência de uma desnutrição prolongada até a amamentação. Além do que, alterações nos túbulos contorcidos (proximais e distais), locais responsáveis pela absorção de sódio, são influenciadas por substâncias intrarenais como serotonina e dopamina

capazes de regularem a reabsorção de fosfatos, estimulando e inibindo, respectivamente o processo de homeostase e a partir de modificações dessa modulação poder-se-ia sugerir um modelo de falha renal (BERNDT et al., 2001).

As alterações glomerulares dos grupos de animais nutridos e desnutridos tratados com fluoxetina, com 30 ou 71 dias foram as mesmas, ressaltando-se que os animais com 30 dias apresentaram evidente glomerulogenesis e proliferação do folheto parietal preenchendo parcialmente o espaço subcapsular formando crescentes ou semiluas compatível com a doença glomerular primária. Segundo Almeida et al (2005) a nefrogênese murina tem sido dividida em um período pré-natal de formação glomerular e um período pós-natal de multiplicação, desenvolvimento esse que ocorre durante o período de lactação. Nossos resultados apontam para uma possível modulação no desenvolvimento renal (glomerulogenesis), provavelmente no sentido de compensar a função de glomérulos com acentuada redução dos espaços urinários e conseqüentemente com decréscimo da taxa de filtração glomerular, corroborando com os estudos realizados por Regina et al. (2001).

A vasodilatação renal observada pela presença de vasos sangüíneos turgidos no interstício do grupo de animais desnutridos, pode representar um mecanismo de proteção para a hipertensão. Esta hipótese pode ser corroborada por Sherman et al. (1999) que demonstram que a má-nutrição intra-uterina aumenta a produção renal de prostaglandinas, as quais são produzidas no rim em condições nas quais ocorre redução do fluxo sangüíneo renal, como na hipertensão.

Sabe-se que o uso de ISRS aumenta a disponibilidade de 5-HT na fenda sináptica o que pode alterar o comportamento alimentar (SIMANSKY, 1996).

Isto poderia ocasionar redução na ingesta alimentar e no ganho de peso (SIMANSKY, 1996). Os ISRSs também podem induzir diminuição da superfície de absorção intestinal e conseqüente perda ponderal de peso (MOTA et al., 2000).

As agressões aos glomérulos resultam em vários tipos de lesões, devemos enfatizar que um mesmo tipo de lesão glomerular pode ser causado por doenças e mecanismos patogênicos os mais diversos possíveis. Modificação no volume, celularidade glomerular e espessura da parede capilar glomerular são alterações determinantes em microscopia óptica comum (GLASSOCK et al., 1986).

Estudos experimentais com modelos animais destacam o rim como um dos principais órgãos-alvo da hipertensão, a qual pode desenvolver-se progressivamente até uma grave deficiência renal, marcada por perda de glomérulos e severas alterações morfológicas e quantitativas das estruturas do parênquima renal (LUCAS et al., 1997; BRENNER; GARCIA; ANDENSON, 1998; CAETANO et al, 2001).

Nossos resultados revelaram importante aumento do número de corpúsculos renais em animais desnutridos com 30 e 71 dias de vida, tratados com um inibidor da recaptação da serotonina, a fluoxetina, quando comparado aos controles (nutridos: salina e fluoxetina). A partir desses achados sugerimos que a fluoxetina pode estar estimulando de forma compensatória a glomerulogenesis em ratas jovens e adultas, frente um modelo estabelecido de desnutrição; de forma similar ao que se observa em modelos de ablação renal (HOSTETTER et al, 1981; BRENNER et al, 1985).

Todavia, alguns autores referem que proles de ratas que foram submetidas à restrição calórica, em diferentes fases da gestação mostram uma redução da taxa de filtração, assim como do número de glomérulos e estabelecimento de nefroesclerose com três meses de idade (LUCAS et al., 1997; REGINA et al., 2001).

As reduções observadas nas áreas dos corpúsculos e glomérulos renais, bem como dos espaços urinários de animais desnutridos (jovens e adultos) foram significativas quando comparadas àquelas referentes aos grupos nutridos. Achados da literatura referem que a redução da área de filtração glomerular pode ser responsável por um comprometimento na

capacidade de excretar sódio e água, fatores importantes na gênese da hipertensão arterial primária (KUROKAVA, 1996; HALL et al., 1996).

Além do que, também observamos significativa redução do espaço urinário nos animais nutridos (jovens e adultos) tratados com a fluoxetina, cujos mecanismos envolvidos necessitam ser melhor esclarecidos; uma vez que constitui um achado não muito investigado e o fato desse medicamento ser a muito tempo utilizado na clínica médica tradicional.

Desta forma, o objetivo da nossa pesquisa não foi investigar os mecanismos responsáveis pela hipertensão e/ou diagnosticar doenças glomerulares primárias. No nosso trabalho avaliamos os efeitos de um conhecido inibidor da recaptação de serotonina, a fluoxetina, sobre um modelo de estudo já bem estabelecido, como a desnutrição, cujos resultados da presente investigação foram promissores em demonstrar alterações preliminares que podem causar uma falha renal com sérias conseqüências para o organismo. Achados da literatura referem que essas alterações, especialmente aquelas relacionadas à estrutura de determinados órgãos podem ser observadas em indivíduos com baixo peso ao nascimento (HOY et al., 1999; PAIXÃO et al., 2001).

7. CONCLUSÕES

- A manipulação farmacológica com um inibidor de recaptação da serotonina, a fluoxetina, produziu diminuição do peso corporal, numa fase precoce da vida comprovado pela literatura.

- A desnutrição e/ou manipulação serotoninérgica empregadas no presente estudo produziram importantes alterações histológicas com prejuízo para o parênquima renal.

- A manipulação serotoninérgica neonatal foi capaz de alterar o número de corpúsculos renais, numa fase precoce da vida.

- A desnutrição reduziu permanentemente a área dos corpúsculos e glomérulos renais.

- A manipulação farmacológica reduziu a área do espaço urinário de forma persistente mesmo após a fase adulta.

8. PERSPECTIVAS

- Identificar as repercussões promovidas pela desnutrição e/ou manipulação farmacológica sobre a morfologia renal.

- Estudar os efeitos da desnutrição e/ou manipulação farmacológica sobre o parênquima renal durante as principais fases do desenvolvimento.

- Verificar através de métodos imunohistoquímicos, a interação entre os ISRS e possíveis receptores serotoninérgicos presentes no parênquima renal.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. R.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Maternal gestational protein-calorie restriction decreases the number of glomeruli and causes glomerular hypertrophy in adult hypertensive rats, **Hypertension,** v. 192, p. 945- 51, 2005.

BARKER, D.J.P. e col. Fetal origins of coronary heart disease. **Br Med J**., v. 311, p.171-174,1995.

BARKER, D.J.P. e col. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. **Br Med J**., v. 301, p.259-62,1990.

BARNES, N. M.; KARP, T. A. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neurophamacology.** v. 38, n. 8, p. 1083-1152, 1999.

BARROS, K. M. F. T. **Efeito da desnutrição neonatal e/ou do tratamento com agonista 5-HT1A sobre o desenvolvimento sensório-motor e atividade exploratória em ratos**. Dissertação (Mestrado em Nutrição). Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, p. 59, 1999.

BERNDT, T. J et al. Intrarenal serotonin, and phosphate handling in remnant Kidneys. **Kidney International,** v. 59, p. 625-630, 2001.

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

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

BORNE, R. F. Serotonin: the neurotransmitter for the 90s. **Drugs Topics**, v. 10, p. 108, 1994.

BRENNER, B. M. Nephron adation to renal injury or ablation. **Am J Physiol.**, v. 249, p. 374-389, 1985.

BRENNER, B.M; GARCIA, D.L; ANDERSON, S. Glomeruli and blood pressure: Less of one, more the other? **Am J Hypertens**.; v. 1, p. 335-47, 1988.

BRENNER, M. B; LAWER, E. V; MACKENZIE, H. S. **The hyperfiltration theory: A paradigm shift in nephrology**. **Kidney Int**, v. 49, p. 1774-1777, 1996.

BRONZINO JD, ; AUSTIN-LA FRANCE JR, MORGANE PJ. Effects of prenatal protein malnutrition on perforant path Kindling in the rat. **Brain Research**, 515: 45-50, 1990.

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

CAETANO. E, R; ZATZ, R; SALDANHA. L.B; PRAXEDES, J.M. Hipertensive nephrosclerosis as a revelant cause of chronic renal failure. **Hypertension**; v. 38, p. 171-6, 2001.

CASTRO, C. A.; TRACY, M.; RUDY, J. W. Early life undernutrition impairs the development of learning and Short- term memory processes mediating performance in a conditional spatial discrimination task. **Behavioral Brain Research,** v.32, p. 255-264, 1989.

CAVALLAZZI, L. E GREZESIUK. Síndrome serotoninergica associada ao uso de paroxetina. **Arq Neuropsiquiatr.**; v. 57, n. 3, p. 886- 889, 1999.

CHEN, J.C.; TONKISS, J., GALLER, J.R; VOLICER, L.Effect of prenatal malnutrition on release of monoamines from hippocampal slices. **Life Sciences**, 57: 1467-1475, 1995.

CHOPIN, P.; MORET, C; BRILEY, M. Neuropharmacology of 5-hydroxytryptamine 1β/1D receptor ligands. **Pharmacology and Therapeutics**, 62: 385- 405, 1994.

DEIRÒ, T. C. B. J.; MANHÃES DE CASTRO R.; CABRAL- FILHO, J. E.; BARRETO-MEDEIROS, J. M.; SOUZA, S. L.; MARINMHO, S. M. O. C.; MANHÃES DE CASTRO, F. M.; TOSCANO, A. E.; DE BARROS, K. M. **Sertraline a serotonin selective reuptake inhibitor, administrated in suckling period delays the somatic maturation and reflex ontogeny**, 2004.

DEIRÓ, T. C. B. J.; MANHÃES DE CASTRO, R.; MANHÃES DE CASTRO, F. M.; SILVA JR., V.A.; SOUZA, S.L.; MORAES, S. R. A. Neonatal treatment with citalopram, a selective serotonin reuptake inhibitor, alters the growth of organs rats. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 47, n. 2, p. 107- 111, 2002.

DESAI, M.; HALES, C. N. Role of fetal and infant growth in programming metabolim in later life. **Biol. Ver. Camb. Philos Soc**., v. 72, p. 329-348, 1997.

DOHERTY, C. B.; LEWIS, R. M.; SHARKEY, A.; BURTON, G. J. Placental composition and surface area but not vascurizatin are altered by maternal protein restriction in the rat. **Placenta**. 24: 34- 8, 2003.

GARDNER, D. S.; JACKSON, A. A.; LANGLEY- EVANS, S. C. Maintenance of maternal diet-induce hypertension in the rat is dependent on glucocorticoids. **Hypertension**, v. 30, p. 1525- 1530, 1997.

GARDNER, D. S.; WARD, J. W.; GIUSSANI, D. A.; FOWDEN, A. L. The effect of a reversible period of adverse intrauterine conditions during late gestation on fetal and placental weight and placentone distribution in Sheep. **Placenta**, p.23, v. 459- 66, 2002.

GIETZEN D.W, DIXON K.D, TRUONG B.G, JONES A.C, BARRET J.A, WASHBURN D.S. Indispensable amino acid deficiency and increased seizure susceptibility in rats. **AM J Physiol** ;271: R_1-R_7, 1996.

GLASSOCK, R. J., et al. **Primary glomerular diseases**. In : The Kidney. 3ª ed. BRENNER, B. M.; RECTOR, Jr. F. C.(eds). Sauders Co: Philadelphia, 1986.

GRAEFF, F.G. Sistemas serotoninérgicos. In: Miguel, E. C.; Rauch, S. L.; LECKMAN, J. F. (Ed). **Neuropsiquiatria dos gânglios da base**. 2 ed . São Paulo: Lemos Editorial, p. 59- 79, 1998.

GRANTHAM, M.C.; GREGOR, S.M.; POWELL, C.; STEWART, M.; SCHOFIELD, W.N. Longitudinal study of growth and development of young Jamaican children recovering from severe protein-energy malnutrition. **Develop Med Child Neural**, v. 24, p.:321-31, 1982.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P.Type$_2$ (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: The thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**, v. 35, p. 595- 601, 1991.

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

HALL, J. E.; GUYTON, A. C.; BRANDS, M. W. Pressure-volume regulation in hypertension. **Kidney International**., v. 49, suppl. 55, p. 35-41, 1996.

HENDRICK, V.; SMITH, L. M.; SURI, R.; HWANG, S.; HAYNES, D.; ALTSHULER, L.Bisth outcome after prenatal exposure to antidepressant medication. **Am. J. Obstet. Gynecol.,** v. 188, p. 812- 815, 2003.

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

HOSTETTER,T.H; OLSON, J.L; RENNKE, H. G; VENKATACHALAM, M. A.; BRENNER, B. M. Hypertension in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. **Am J Physiology**, v. 241, p. 85-93, 1981.

HOY, W. E.; REES, M.; KILE, E.; MATHEWS, J. D.; WANNG, Z. A new dimension to the Barker hypothesis: Low birth weight and susceptility to renal disease. **Kidney International**, v. 6, p. 1072- 1077, 1999.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MERTIN, G. R. Molecular, pharmacological and function diversity of 5-HT receptors. **Pharmacol Biochem Behaviors**, v. 71, n. 4, p. 533-554, 2002.

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

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

KUROKAWA, K. Kidney, salt, and hypertension: How and why. **Kidney International**, v. 49, Suppl. 55, p. 46-51, 1996.

LANGLEY-EVANS, S. C.; BROWNER, R. F.; JACKSON, A. A. Altered glucose tolerance in rats exposed to maternal low protein diets in utero. **Biochem. Physiol.**, v. 109A, p. 223-229, 1994.

LANGLEY-EVANS, S.C.; NWAGWU, M. Impaired growth and increased glucocorticoid sensitive enzyme activities in tissues of rat fetuses exposed to maternal low protein diets. **Life Science,** v. 63, p. 605-615, 1998.

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. **Lif Science**, v. 64, p. 965- 974, 1999.

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

LAUDER, J. M.; BLOOM, F. E. Ontogeny of monoamine neurons in the locus coeruleus, raphe nuclei and substantia nigra of the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v.155, p. 469-482, 1971.

LAUDER, J. M. *et al*. Expression of $5HT_{2A,}$ $5HT_{2B}$ and $5HT_{2C}$ receptors in the mouse embryo. **International Journal of development Neuroscience**, v. 18, p. 653-662, 2000.

LAUDER, J. M.; WALLACE, J. A.; KREBS, H. Roles of serotonin in neuroembriogenesis. **Adv. Exp Med Biol.**, v.133, p. 477-506, 1981.

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

LUCAS, S. R.; COSTA SILVA, V. L,; MIRAGLIA, S. M,; ZALADEK GIL. F. Functional and morphometric evaluation of offspring Kidney after intrauterine undernutrition. **Pediatr Nephrol.,** v. 11, p. 719-23, 1997.

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

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

MANJARREZ, G. G.; CHAGOYA, G. G.; HERNÁNDEZ, R. Early nutricional changes modif. The Kinetics and phosphorilation capacity of tryptophan-5-hydroxilase. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 12, n. 8, p. 695-702, 1994.

MERLET-BENICHOU, C.; GILBERT. T.; MUFFAT-JOLY, M.; PÉGORIER-LELIÉVRE, M. ; LEROY, B. Intrauterine growth retardation leads to a permanent nephron deficit in the rat. **Pediatr. Nephrol.**, v. 8, p. 175-180, 1994.

MORGANE, P.J., AUSTIN-LAFRANCE, R.J., BRONZINO, J., TONKISS, J., DIAZCINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, T., GALLER, J.R. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 17, p. 91-128, 1993.

MOTA, D. L; MANHÃES DE CASTRO, R; BITTENCOURT, A. M. et al. Tratamento neonatal com Inibidor Seletivo de Recaptação da Serotonina (ISRS): mudanças na morfologia intestinal, **Neurobiologia**, v. 63, p. 55-59, 2000.

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

ÖSTLUND, E.V.C.; EKOLOF, A.C.; APERIA, A. Salt- deficient diet and early weaning inhibit DNA synthesis in immature rat proximal tubular cells. **Pediatr. Nephrol**, v. 7, p. 41-44, 1993.

PALÉN, K.; THORNEBY.L.; EMANELSSON,H. Effects of serotonin Antagonists on chick embriogenis**. Wilhelm Rou´s Arch Develop Biol.**, 187: 89-103, 1979.

PAIXÃO, A. D. O et al. Regional brasilian diet-induced low birth weights is correlated with changes in renal hemodynamics and glomerular morphometry in adult age. **Biol. Neonate**, v.80, p. 239-246, 2001.

RAY, P. E., et al. Plasm reinin activity as a marker for failure due to sodium deficiency in young rats. **Pediatr. Nephrol.,** v. 6, p. 523-526, 1992.

REGINA, S.; LUCAS, R.; MIRAGLIA, S. M.; ZALADEK GIL F.; MACHADO COIMBRA T.Intrauterine food restriction as a determinant of nephrosclerosis. **Am J Kidney Dis.**, 37: 467- 76, 2001.

SIMANSKY, K. J. Serotoninergic Control of the organization of feeding and satiety. **Behaviour Brain Research**, v. 73, p. 37- 42, 1996.

SHERMAN, R. C.; JACKSON, A. A.; LANGLEY- EVANS, S. C. Long- term modification of the excretion of prostaglandin E_2 by fetal expressure to a maternal mow protein diet in the rat. **Ann**. **Nutr. Metab.**, v. 43. p, 98- 106, 1999.

SIMON, G. E., et al.Outcomes of prenatal antidepressant exposure. **Am. J. Psichiatry,** v. 159, p. 2055- 2061, 2002.

SILVEIRA, B. **Estudo histológico e morfométrico do jejuno de ratos com 14 e 21 dias de vida pós- natal, tratados com inibidor seletivo de recaptura da serotonina(ISRs).** Dissertação: Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2000.

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

TABER KH, FULLER GN, STANLEY JC, DE FRANCE JF, WIGGINS RC. The effects of postnatal undernourishment on epileptiform Kindling of dorsal hippocampus. **Experientia,** 36:69-70, 1980.

TEODÓSIO, N. R.; LAGO, E. S.; ROMANISAM.; GUEDES , R. C. A. A regional basic diet from nostheast Brasil as a dietary model of experimental malnutrition. **Arch Latin de Nutr**., 40: 533- 47, 1990.

TOURINHO, H. **Desnutrição na infância**. In: DUCAN BB, SCHIMIDT MI, GIUGLIANI E, Eds. Medicina Ambulatorial. Porto Alegre: Editora Artes Médicas, p.85-91, 1992.

WHITEHEAD, R.G.; ALLEYNE, G.A.O. **British Medical Bulletin,** v. 28, p. 72, 1972.

WHITAKER-AZMITIA, P. M. Role of serotonin and other neurotransmitter Receptors in brain development: basis for development pharmacology. **Pharmacol Rev.**, v. 43, p. 553-561, 1991.

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

WOODALL, S. M.; JOHNSTON, B. M.; BREIER, B. H.; GLUCKAMAN, P. D. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. **Pediatr Res.**, v. 40, p. 438- 43, 1996.

YAN, W.; WILSON, C.C.; HARING, J.A. 5-HT1Aa receptors mediate the neurotrophic effects of serotonin on developing dentate cells. **Dev. Brain Res**., v. 98, p. 185-190, 1997.

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

YONEMURA Y et al. Tissue status of epidermal growth factor and its receptor as and indicator of poor prognosis in patients with gastric cancer. **Anal Cell Pathol**, v. 3, n. 6, p. 343- 350, 1991.

10. ANEXOS

Anexo 1

TABELA I – Composição da dieta padrão "Labina" (Purina do Brasil), utilizada na alimentação dos animais Bem-Nutridos (BN).

ENRIQUECIMENTO (KG DE RAÇÃO) (*):	
Vitamina A	20000UI
Vitamina D_3	6000 UI
Vitamina E	30 UI
Vitamina K	6 mg
Vitamina B_{12}	10 µg
Vitamina B_2	8 mg
Pantotenato de Cálcio	24 mg
Niacina	95 mg
Tiamina	4 mg
Colina	2000 mg
Piridoxina	6 mg
Biotina	0.1 mg
Ácido Fólico	0.5 mg
Manganês	50 mg
Iodo	2 mg
Ferro	65 mg
Zinco	35 mg
Cobre	26 mg
Antioxidante	100 mg

NÍVEIS DE GARANTIA (*):	
Umidade (máx.)	13%
Proteína (mín.)	23%
Extrato Etéreo (mín.)	2.5%
Matéria Fibrosa (máx.)	9.0%
Matéria Mineral (máx.)	8.0%
Cálcio (máx.)	1.8%
Fósforo (mín.)	0.0%

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

Anexo 2

TABELA II: Composição centesimal da Dieta Básica Regional (DBR)

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

Teodósio et al (1990).

Anexo 3

Protocolo para procedimentos técnicos com coloração de rotina e especiais

Coloração com Hematoxilina-Eosina(H.E.)

01-Despreza o fixador;

02-Desidratação (álcool etílico por três vezes durante 20 minutos na estufa);

03-Diafanização (álcool-xilol durante 20 minutos na estufa);

04-Clarificação (xilol por duas vezes durante 20 minutos na estufa);

05-Parafinização (parafina por duas vezes durante 20 minutos na estufa);

06-Inclusão (com auxílio de Leucart e parafina na bancada);

07-Congelamento em freezer;

08-Corte no micrótomo;

09-Pescagem com lâminas umedecidas em albumina numa cuba com água e álcool para auxílio do estiramento da fita de parafina, em seguida pescagem no banho-maria;

10-Desparafinização do excesso em estufa durante seis a dez minutos;

11-Desparafinização em xilol I por cinco minutos;

12-Desparafinização em xilol II por cinco minutos;

13-Desidratação em álcool-xilol por cinco minutos passando por álcool a 90% durante cinco minutos, álcool a 80% durante cinco minutos, álcool a 70% durante cinco minutos até a água por uma lavagem;

14-Banhos em Hematoxilina por três minutos;

15-Lavagem em água;

16-Banho rápido em álcool absoluto;

17-Banho em Eosina por três minutos;

18-Lavagem em água;

19-Banhos rápidos em álcool a 70% e álcool absoluto;

20-Limpeza das margens da lâmina;

21-Estufa para desidratação;

22-Clarificar no xilol;

23-Montagem.

Anexo 4

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

Oficio nº 40/05

Recife, 05 de julho de 2005

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE
Para: Profa. Sílvia Regina Arruda de Moraes
Departamento de Anatomia - UFPE

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram a resposta de V. Sa. referente ao primeiro parecer da CEEA sobre o projeto de pesquisa intitulado **"EFEITOS DAS AGRESSÕES NUTRICIONAL E FARMACOLÓGICA SOBRE A ESTRUTURA DO RIM DE RATOS WISTAR".**

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

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

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

Atenciosamente,

Profª. Silene Carneiro do Nascimento
Presidente CEEA

UFPE

CCB: Integrar para desenvolver

Anexo 5

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Pediatric Nephrology*.

Manuscript ID: pedneph-07-02-0103

Title: Early-life fluoxetine exposure impaired the renal morphology in rats

Authors: Melo, Suzy Andress
Medeiros, Paloma
Viana, Marcelo
Castro, Raul
Moraes, Silvia

Date Submitted: 25-Feb-2007

Print Return to Dashboard

Manuscript Central™ v3.52 (patent pending). © ScholarOne, Inc., 2006. All Rights Reserved.
Manuscript Central is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.
Terms and Conditions of Use - ScholarOne Privacy Policy