

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLÓGIA CARDIOVASCULAR
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - NUPEB**

***AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA EM
RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTÉICA***

Ouro Preto, 2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE FISIOLÓGIA CARDIOVASCULAR
NÚCLEO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - NUPEB**

***AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO VENTRICULAR ESQUERDA EM
RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTÉICA***

AUTOR: Arthur Moreira Alves

ORIENTADOR: Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior

CO-ORIENTADOR: Prof. MSc. Carlos Henrique Xavier Custódio

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação do Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre, em Ciências Biológicas, área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

Ouro Preto, 2011

A474a **Alves, Arthur Moreira.**

Avaliação da função ventricular esquerda em ratos submetidos à desnutrição protéica [manuscrito] / Arthur Moreira Alves - 2011.

xvi, 60f.: il.; graf., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior

Orientador: Prof. MSc. Carlos Henrique Xavier Custódio

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto.

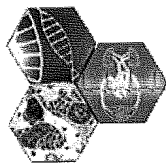
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Desnutrição - Teses. 2. Sistema cardiovascular - Teses. 3. Insuficiência cardíaca - Teses. 4. Coração - Ventriculos - Teses. 5. Coração - Doenças - Contratilidade cardíaca - Teses. I. Universidade Federal de Ouro Preto. II. Título.

CDU: 612.39:616.124

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



Universidade Federal de Ouro Preto
Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas - NUPEB
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

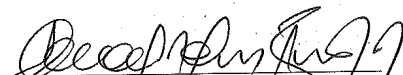


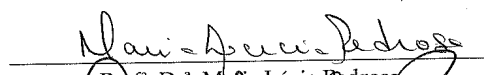
Ata da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação Intitulada:

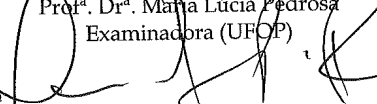
**“Avaliação da Função Ventricular Esquerda em Ratos Submetidos à
Desnutrição Proteica”**

Aos 16 dias do mês de dezembro de 2011, às 14:00, no Auditório do NUPEB da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Dissertação do aluno Arthur Moreira Alves. A defesa da dissertação iniciou-se pela apresentação oral feita pelo candidato e, em seguida, argüição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por APROVA o candidato. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

Membros da Banca Examinadora:


Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior
Presidente


Prof.ª. Dr.ª. Mafra Lúcia Pedrosa
Examinadora (UFOP)


Prof. Dr. Marco Antonio Peliky Fontes
Examinador (UFMG)

DATA DA DEFESA: 16/12/2011

Este trabalho foi realizado no *Laboratório de Fisiologia Cardiovascular* do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, com o auxílio do CNPq, FAPEMIG e UFOP.

“Tudo tem o seu tempo determinado e há tempo para todo propósito debaixo do céu: há tempo de nascer e tempo de morrer; tempo de chorar e tempo de rir; tempo de abraçar e tempo de afastar-se; tempo de amar e tempo de aborrecer; tempo de guerra e tempo de paz.”
(Eclesiastes)

Dedicatória

*À minha Vó **Carminha**, aos meus pais
Josefy e José Artur e ao grande amor da
minha vida **Marina** que sempre me
apoiaram e torceram para que esse sonho se
realizasse.
Amo vocês.*

Agradecimentos

A **Deus**, pelo dom da vida.

À **Maria Santíssima**, pelas constantes intercessões em minha vida.

À minha **Vó Carminha**, pelo apoio incondicional, por acreditar na minha vitória, desde o início.

À **Marina**, o grande amor da minha vida, por todo o apoio, paciência e incentivo. Obrigado amor, por ser o alicerce da minha caminhada, por sofrer com os meus tropeços e se alegrar com minhas vitórias, por ser o motivo das minhas lutas e também a razão das minhas vitórias, por estar sempre do meu lado, nas horas boas e ruins e por me proporcionar essa maravilhosa vida a dois, que sonhamos juntos e estamos realizando juntos. Te amo.

Aos Meus Pais, **José Artur e Josefy**, obrigado por todos os ensinamentos de uma vida, pelo amor incondicional, pelo exemplo de vida e pela dedicação ao longo de toda a minha vida, não medindo esforços para que eu fosse feliz.

Aos meus irmãos, **Mônica e João Felipe**, pelo amor, amizade e companheirismo.

Ao **Neto e Águida** pela receptividade, paciência, carinho, por torcer pela minha vitória e por me abrir as portas de sua casa e de seu coração.

Aos **Arautos do Evangelho**, em especial, de Contagem e Juiz de Fora, pela maravilhosa convivência e por ceder a capela para meus estudos.

Aos irmãos da **República Virakopos**, pela amizade e diversão, minha segunda casa.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior**, pelas oportunidades proporcionadas, pela confiança, pelos ensinamentos e, acima de tudo, pela amizade.

Ao amigo e **Prof. Carlos Henrique Xavier**, pela paciência em ensinar e pela amizade.

A todos do **Laboratório de Fisiologia Cardiovascular**, em especial, à **Fernanda (Bajú)** e ao **Luis Henrique** pela amizade, apoio, companheirismo e ensinamentos.

À **Universidade Federal de Ouro Preto**, gratuita e de qualidade, por todos os ensinamentos.

Ao **Miltinho** pelo auxílio no laboratório e pelo exemplo de esperança e amizade.

À **Cida**, pela amizade e por toda a assistência prestada.

Aos **colegas de mestrado e professores do NUPEB**, em especial ao **Rabuja**, pelo convívio, auxílio e companheirismo.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Desnutrição	1
1.2 – Os efeitos da desnutrição sobre os sistemas fisiológicos e a contratilidade cardíaca	2
1.3 – A função ventricular esquerda	5
1.3.1 – Sístole ventricular	6
1.3.1.1 – Contração isovolumétrica	7
1.3.1.2 – Fase de ejeção	7
1.3.2 – Diástole ventricular	7
1.3.2.1 – Relaxamento isovolumétrico	8
1.3.2.2 – Fase de enchimento rápido	8
1.3.2.3 – Diástase	8
1.4 – Avaliação da atividade ventricular esquerda	9
1.4.1 – Variação de pressão no ventrículo esquerdo (Δ PVE).....	9
1.4.2 – Frequência cardíaca (FC).....	10
1.4.3 – dP/dT máximo (dP/dT máx)	10
1.4.4 – dP/dT mínimo (dP/dT mín).....	11
1.4.5 – Duração sistólica (DS)	11
1.4.6 – Duração diastólica (DD)	11
1.4.7 – Duração do ciclo (DC).....	11
1.4.8 – Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE).....	11
1.4.9 – Tempo de relaxamento isovolumétrico (TAU).....	12
1.4.10 – dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico (IRP)	12
1.4.11 – índice de contratilidade (IC)	12
1.4.12 – Influência do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca.....	13
1.5 – Desnutrição protéica vs. Função ventricular esquerda	13
2 – OBJETIVOS	14
2.1 – Objetivo geral	14
2.2 – Objetivos específicos	14
3- MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 – Modelo animal	15
3.2 – Metodologia da alimentação normal ou desnutrição	15
3.3 – Composição química das dietas	16
3.4 - Preparo de drogas/substâncias utilizadas.....	17
3.5 – Confeção das cânulas	17
3.6 – Cirurgia de canulação do ventrículo esquerdo.....	18
3.7 – Instrumentação para registro dos dados	19
3.8 – Registro dos dados	19
3.9 – Cálculo dos parâmetros avaliativos da função ventricular esquerda	20
3.10 – Influência do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca.....	21
3.10.1 – Influência do braço simpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade	21
3.10.2 – Influência do braço parassimpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade	22
3.11 – Análise estatística	22
4 - RESULTADOS	23

4.1- Efeitos da desnutrição protéica pós-desmame sobre o peso corporal	23
4.2 – Efeito da desnutrição protéica sobre a FC basal	24
4.3 – Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração sistólica.....	25
4.4 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração diastólica	26
4.5 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração do ciclo cardíaco ..	27
4.6 – Efeito da desnutrição protéica sobre a variação de pressão intraventricular esquerda	28
4.7 - Efeito da desnutrição protéica sobre a medida de contratilidade - dP/dT máximo	29
4.8 - Efeito da desnutrição protéica sobre a dP/dT mínima.....	30
4.9 – Efeito da desnutrição protéica sobre o índice de contratilidade	31
4.10 - Efeito da desnutrição protéica sobre a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo	32
4.11 - Influência da desnutrição protéica sobre a dP/dT durante o relaxamento isovolumétrico	33
4.12 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de relaxamento isovolumétrico	34
4.13 – Análise porcentual dos resultados.....	35
4.14 – Influência do braço simpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade	35
4.15 – Influência do braço parassimpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade	36
5 – DISCUSSÃO	38
6 - CONCLUSÃO	44
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
8 – APÊNDICE	50
9 – PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	59
9.1 - Resumos publicados em congressos nacionais.....	59
9.2 – Resumos publicados em congressos internacionais.....	60
9.3 – Artigos completos publicados em periódicos	60

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Figura 1: *Diagrama de Wiggers*, mostrando os eventos do *ciclo cardíaco* que ocorrem no ventrículo esquerdo. Fonte: Physiology. Roger Thies, Kirk W. Barron. Pág. 84. 4ª Ed. Oklahoma notes, Springer – Verlag. 6
- Figura 2: Curvas de pressão ventricular esquerda com tangentes desenhadas para as porções mais íngremes dos ramos ascendentes, para indicar os valores de dp/dt máximos. A, controle; B, coração hiperdinâmico, como ocorre na administração de norepinefrina; C, coração hipodinâmico, como na insuficiência cardíaca. Fonte: Fisiologia. Robert Berne, Matthew N. Levy, Bruce M. Koeppen e Bruce A. Stanton. Pág 327. 5ª Edição, Elsevier Editora Ltda. 10
- Figura 3: Representação da análise off-line de 10 ciclos cardíacos de animal do grupo controle em janela de visualização do módulo Blood Pressure do software LabChart Pro 7.2 for Windows®. O trecho em azul representa o momento em que ocorre o relaxamento isovolumétrico. EDP é pressão diastólica final do ventrículo esquerdo. 12
- Figura 4: Cronograma da metodologia para alimentação normal ou desnutrição protéica. Após o nascimento, os animais foram amamentados por um período de 28 dias. Em seguida, foram divididos em dois grupos: Normonutridos (dieta com 15% de proteína) e Desnutridos (dieta com 6% de proteína) por um período de 35 dias. Após esse período, os animais foram utilizados para experimentação dentro de um período de, no máximo, 7 dias. 16
- Figura 5: Representação esquemática da cirurgia de canulação do ventrículo esquerdo através da artéria carótida direita. Fonte: (Smith e cols., 1979). 18
- Figura 6: Representação da janela de visualização do software Chart for Windows®, ilustrando, através da seta, o momento exato em que a cânula atinge a luz do ventrículo esquerdo, passando através da válvula aórtica. 19
- Figura 7: Representação esquemática do sistema utilizado para aquisição de dados. (A) transdutor de pressão; (B) amplificador analógico; (C) conversor analógico – digital. 20
- Figura 8: Representação da janela de visualização do software LabChart Pro 7.2 for Windows® durante o registro dos dados de um animal do grupo normonutridos. No canal superior está representada a curva da PVE e no canal inferior o gráfico da dp/dt 20
- Figura 9: Protocolo 1 para avaliação da influência do braço simpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca em ratos controles ou desnutridos. 21
- Figura 10: Protocolo 2 para avaliação da influência do braço parassimpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca em ratos controles ou desnutridos. 22
- Figura 11: Efeito da desnutrição protéica sobre o peso corporal de ratos. * *Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido* ($P < 0,05$). 24
- Figura 12: Efeito da desnutrição protéica sobre a frequência cardíaca basal de ratos. 24

Figura 13: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração da sístole no ventrículo esquerdo em ratos.	25
Figura 14: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração da diástole no ventrículo esquerdo em ratos.	26
Figura 15: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração do ciclo cardíaco em ratos.....	27
Figura 16: Variação de pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo de animais desnutridos e normonutridos.....	28
Figura 17: 1ª Derivada da PVE no tempo, durante a sístole em animais desnutridos e normonutridos. * Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido (P<0,05). .	29
Figura 18: 1ª Derivada da PVE no tempo, durante a diástole em animais desnutridos e normonutridos. * Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido (P<0,05). .	30
Figura 19: Índice de contratilidade do ventrículo esquerdo de animais desnutridos e normonutridos.....	31
Figura 20: Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo de animais desnutridos e normonutridos. * Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido (P<0,05). .	32
Figura 21: Valores máximos da 1ª derivada da PVE no tempo durante o período de relaxamento isovolumétrico em ratos desnutridos e normonutridos. *Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido (P<0,05).....	33
Figura 22: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração do relaxamento isovolumétrico em ratos desnutridos e normonutridos. *Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido (P<0,05).	34
Figura 23: Sumário. Resultados expressos como porcentagem dos valores do grupo normonutrido. FC=Freq. Cardíaca; DS=Duração sistólica; DD=Duração diastólica; DC=Duração do ciclo; Δ PVE=Variação de PVE; dP/dTmáx=1ªderivada da PVE na sístole; dP/dTmín= 1ª derivada da PVE na diástole; IC=Índice de contratilidade; PDFVE=Pressão diastólica final do VE; IRP= dP/dT durante relaxamento isovolumétrico e TAU=Duração do relaxamento isovolumétrico.	35
Figura 24: Variação dos parâmetros analisados, em relação ao basal, dos grupos controle e desnutrido, após administração de atenolol. (A) Variação de PAM (mmHg). (B) Variação de pico de PVE (mmHg). (C) Variação de FC (bpm). (D) Variação de pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s). *Diferença significativa comparado ao grupo controle, (P<0,05)	36
Figura 25: Variação dos parâmetros analisados, em relação ao basal, dos grupos controle e desnutrido, após administração de atropina. (A) Variação de PAM (mmHg).. (B) Variação de FC (bpm). (C) Variação de pico de PVE (mmHg) (D) Variação de pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s).*Diferença significativa comparado ao grupo controle, (P<0,05)	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química das dietas (g/100g de ração).	16
Tabela 2 - Dimensões das cânulas	17
Tabela 3 - Efeito da desnutrição protéica sobre o peso corporal dos ratos (g).	50
Tabela 4 - Efeito da desnutrição protéica sobre a FC basal (bpm).	50
Tabela 5 - Efeito da desnutrição protéica sobre DS (s).	51
Tabela 6 - Efeito da desnutrição protéica sobre DD (s).	51
Tabela 7 - Efeito da desnutrição protéica sobre DC (s).	52
Tabela 8 - Efeito da desnutrição protéica na Δ PVE (mmHg).	52
Tabela 9 - Efeito da desnutrição protéica no dP/dT máx (mmHg/s).	53
Tabela 10 - Efeito da desnutrição protéica no dP/dT mín (mmHg/s).	53
Tabela 11 - Efeito da desnutrição protéica no índice de contratilidade (1/s).	54
Tabela 12 - Efeito da desnutrição protéica na pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg).	54
Tabela 13 - Influência da desnutrição protéica sobre a dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico (mmHg/s).	55
Tabela 14 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de relaxamento isovolumétrico (s).	55
Tabela 15 – Protocolo 1 (atenolol) - Δ PAM (mmHg)	56
Tabela 16 – Protocolo 1 (atenolol) – Δ HR (bpm).	56
Tabela 17 – Protocolo 1 (atenolol) – Δ Pico de LVP (mmHg).	56
Tabela 18 – Protocolo 1 (atenolol) - Δ Pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s).	57
Tabela 19 – Protocolo 2 - (atropina) - Δ PAM (mmHg).	57
Tabela 20 – Protocolo 2 (atropina) – Δ HR (bpm)	57
Tabela 21 – Protocolo 2 (atropina) – Δ Pico de LVP (mmHg)	58
Tabela 22 – Protocolo 2 (atropina) - Δ Pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s) ...	58

LISTA DE ABREVIATURAS

Δ PVE	Variação de PVE
bpm	Batimentos por minuto
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
DC	Duração do Ciclo
DD	Duração Diastólica
dP/dT máx	1ª derivada da PVE pelo tempo na sístole
dP/dT mín	1ª derivada da PVE pelo tempo na diástole
DS	Duração Sistólica
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EDP	Pressão Diastólica Final
eNOS	Óxido Nítrico Sintase endotelial
FC	Frequência Cardíaca
g	Gramas
IC	Índice de Contratilidade
i.m.	Intramuscular
IRP	dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico
mL	Mililitros
mmHg	Milímetros de mercúrio
mRNA	Ácido Ribonucléico mensageiro
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAM	Pressão Arterial Média
PBS	Solução salina tamponada com fosfato (pH: 7,2)
PDFVE	Pressão Diastólica Final do Ventrículo Esquerdo
PE	Polietileno
p/v	Peso por volume
PVE	Pressão Ventricular Esquerda
PVPI	Solução de polivinilpirrolidona
RVLM	Bulbo rostroventrolateral
S	Segundos
SHR	Espontaneamente hipertensos
TAU	Tempo de relaxamento isovolumétrico

RESUMO

A desnutrição protéica pode afetar o funcionamento dos processos fisiológicos do organismo. Nosso laboratório mostrou que a desnutrição protéica pós desmame produz alterações envolvidas direta ou indiretamente com o sistema cardiovascular. Outros trabalhos mostraram que a desnutrição pré natal “programa” o feto para doenças cardiovasculares na vida adulta, assim como a desnutrição pós natal leva a importantes disfunções cardíacas.

Baseado nos achados que demonstraram prejuízo direto ao músculo cardíaco causado pela restrição alimentar e resultados obtidos em nosso laboratório, que mostraram diversas alterações no sistema cardiovascular causadas pela desnutrição protéica, decidimos avaliar se a desnutrição protéica pós desmame estaria causando um prejuízo direto ao músculo cardíaco, ao nível do ventrículo esquerdo.

Foram utilizados ratos fischer, divididos nos grupos: Normonutridos (n=10) e Desnutridos (n=10), que receberam, durante 35 dias, respectivamente, 15% e 6% de proteína na dieta. Sob anestesia, foi realizada uma cateterização do ventrículo esquerdo e, com os animais acordados, a aquisição dos dados. Os resultados mostraram que a desnutrição protéica reduziu o peso corporal ($229,2 \pm 17$ vs. $69,7 \pm 10,9$ g; $P < 0,05$) não modificando a frequência cardíaca (FC) basal ($393,1 \pm 51$ vs. $373,7 \pm 68,4$ bpm), a duração sistólica (DS) ($0,0891 \pm 0,01$ vs. $0,0975 \pm 0,02$ s), a duração diastólica (DD) ($0,0657 \pm 0,01$ vs. $0,0707 \pm 0,02$ s), a duração do ciclo (DC) ($0,1548 \pm 0,01$ vs. $0,1682 \pm 0,04$ s) e a variação de pressão intraventricular esquerda (Δ PVE) ($128,31 \pm 9,36$ vs. $119,58 \pm 12,37$ mmHg). A avaliação dos índices contráteis do ventrículo esquerdo mostra que a desnutrição não modificou o índice de contratilidade (IC) ($93,18 \pm 23$ vs. $82,38 \pm 14$ 1/s), entretanto, reduziu a medida de contratilidade dP/dT máximo ($5450,05 \pm 1164$ vs. $4165,65 \pm 1007$ mmHg/s; $P < 0,05$), a dP/dT mínimo ($4902,22 \pm 947$ vs. $3469,63 \pm 1030$ mmHg/s; $P < 0,05$) e a dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico (IRP) ($2934,22 \pm 605$ vs. $2205,29 \pm 645$ mmHg; $P < 0,05$); A desnutrição também aumentou a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) ($4,12 \pm 1,0$ vs. $5,78 \pm 1,6$ mmHg; $P < 0,05$) e o tempo de relaxamento isovolumétrico (TAU) ($0,015 \pm 0,003$ vs. $0,029 \pm 0,018$ s; $P < 0,05$). Foi avaliada a influência do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca através do bloqueio simpático ou parassimpático com atenolol e atropina, respectivamente. Nós observamos que o bloqueio simpático causou maior queda

de frequência cardíaca e contratilidade em animais desnutridos. E ainda, o bloqueio parassimpático causou menor aumento de frequência cardíaca nos animais desnutridos. Estes resultados mostram que o sistema nervoso simpático parece governar a performance cardíaca em animais desnutridos

Estes resultados sugerem que a desnutrição protéica pós-desmame foi capaz de alterar a função cardíaca, principalmente no que diz respeito à contratilidade e função diastólica, que são determinantes na caracterização da insuficiência cardíaca.

ABSTRACT

Protein malnutrition can affect the functioning of physiological processes in the body. Our laboratory showed that the post weaning protein malnutrition produces changes directly or indirectly involved with the cardiovascular system. Other studies have shown that prenatal malnutrition "program" the fetus for cardiovascular disease in adulthood, as well as postnatal malnutrition leads to significant cardiac dysfunction. Based on the findings that showed direct damage to the heart muscle caused by food restriction and results obtained in our laboratory, which showed several changes in the cardiovascular system caused by malnutrition, we decided to evaluate whether the post-weaning protein malnutrition was causing a direct damage to the heart muscle, at the left ventricle.

Fischer rats were divided into two groups: Normonutridos (n = 10) and Malnourished (n = 10) received during 35 days, respectively, 15% and 6% of dietary protein. Under anesthesia, we performed a catheterization of the left ventricle and with the animals awake, the data acquisition. The results showed that protein malnutrition reduced body weight (229.2 ± 17 vs. 69.7 ± 10.9 g, $P < 0.05$) without modifying heart rate (HR) baseline (393.1 ± 51 vs. 373.7 ± 68.4 bpm), systolic duration (DS) (0.0891 ± 0.01 vs. 0.0975 ± 0.02 s), diastolic duration (DD) (0.0657 ± 0 vs. 0.0707 ± 0.02 s), the cycle (DC) (0.1548 ± 0.01 vs. 0.1682 ± 0.04 s) and changes in intraventricular pressure (Δ PVE) (128.31 ± 9.36 vs. 119.58 ± 12.37 mmHg). The evaluation of left ventricular contractile indices shows that malnutrition did not alter the contractility index (CI) (93.18 ± 23 vs. 82.38 ± 14 1 / s), however, reduced the extent of contractility dP / dT max (5450.05 ± 1164 vs. 4165.65 ± 1007 mmHg / s, $P < 0.05$), dP / dT minimum (4902.22 ± 947 vs. 3469.63 ± 1030 mmHg / s, $P < 0.05$) and dP / dT in the isovolumetric relaxation period (IRP) (2934.22 ± 605 vs. 2205.29 ± 645 mmHg, $P < 0.05$); Malnutrition also increased the pressure left ventricular end-diastolic (LVEDP) (4.12 ± 1.0 vs. 5.78 ± 1.6 mmHg, $P < 0.05$) and isovolumetric relaxation time (TAU) (0.015 ± 0.003 vs. 0.029 ± 0.018 s, $P < 0.05$). The influence of the autonomic nervous system on cardiac contractility through sympathetic or parasympathetic blockade with atenolol and atropine, respectively, was evaluated. We note that the sympathetic blockade caused a greater drop in heart rate and contractility in malnourished animals. And yet, parasympathetic blockade caused a smaller increase of heart rate in malnourished animals. These results show that the

sympathetic nervous system appears to govern cardiac performance in malnourished animals.

These results suggest that post-weaning malnutrition was able to change the cardiac function particularly with respect to contraction and diastolic function, which are instrumental in the characterization of heart failure.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Desnutrição

A Organização Mundial de Saúde define desnutrição proteico-calórica como uma gama de condições patológicas decorrentes da deficiência de aporte, transporte ou utilização de nutrientes (principalmente energia e proteínas) pelas células do organismo.

Crianças com desnutrição protéico-calórica primária são geralmente encontradas em países em desenvolvimento, como resultado do insuficiente fornecimento de alimentos. A desnutrição é responsável pela morte de 60,7% das crianças com doenças diarreicas, 52,3% daquelas com pneumonia, 44,8% daquelas com sarampo e 57,3% das crianças com malária (Caulfield e cols., 2004). Mais de 50% de todas as mortes na infância são atribuíveis à desnutrição (Pelletier e cols., 1993; Pelletier & Frongillo, 2003; Pelletier e cols., 1995).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde a desnutrição protéico-calórica afeta uma em cada quatro crianças em todo o mundo: 150 milhões (26,7%) estão com baixo peso e 182 milhões (32,5%) têm o desenvolvimento retardado. Reconhece-se que 6,6 milhões das 12,2 milhões de mortes anuais entre crianças menores de cinco anos, ou seja, 54% das mortes infantis em países em desenvolvimento estão associadas à desnutrição. Além do sofrimento, a perda em termos de potencial humano traduz-se em custos sociais e econômicos que se tornam insustentáveis para esses países. Ainda de acordo com a OMS, a alimentação inapropriada de recém nascidos e crianças é responsável por um terço dos casos de desnutrição (World Health Organization, 2007).

O número de crianças desnutridas ainda é consideravelmente alto, embora as taxas de obesidade infantil, outro problema de saúde pública, tenham aumentado significativamente nos últimos anos (Mondini & Monteiro, 1997; Sawaya e cols., 1995).

No Brasil, a prevalência da desnutrição na população de crianças menores de cinco anos, aferida pela proporção de crianças com déficit de crescimento, foi de 7% em 2006. A distribuição espacial dessa prevalência indica frequência máxima do problema na região Norte (15%) e pouca variação entre as demais regiões (6% nas regiões Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste e 8% na região Sul) (Ministério da Saúde, 2006).

Estudo realizado em favelas de São Paulo demonstrou uma prevalência de 30% de desnutrição e 15% de obesidade dentro da mesma comunidade, sendo que, em 9% das

casas haviam, pelo menos, 01 membro que estava abaixo do peso e 01 que era obeso (Sawaya e cols., 1995). Ainda hoje a desnutrição é considerada a doença que mais mata crianças abaixo de cinco anos (Sawaya, 2006).

Pode-se proceder de várias formas para se induzir a desnutrição experimental em modelos animais. Especificamente, com relação ao modelo usado no presente trabalho, a espécie *Rattus Novergicus* (rato) apresenta resultados que geralmente refletem o padrão de respostas observado em humanos desnutridos. A utilização animal permite ainda um controle do tempo de exposição e dos níveis de desnutrição desejados, adequando quantitativa e qualitativamente a carência nutricional que se pretende estudar (GIACOMELLI & MARÇAL-NATALI, 1999). A desnutrição pós-desmame pode ser realizada através da diminuição do conteúdo protéico oferecido à fêmea no período da amamentação dos filhotes (Pedrosa & Moraes-Santos, 1987) ou através do aumento no número de filhotes da ninhada durante o período de aleitamento, levando à competição pelo leite materno e diminuição da disponibilidade de nutrientes para cada animal, individualmente (Bell & Slotkin, 1988). Outro método utilizado refere-se à indução da desnutrição durante a gestação, com redução do teor de proteínas oferecido às fêmeas gestantes (Tonkiss e cols., 1998). O modelo que tem sido adotado pelo nosso laboratório e, portanto, utilizado no presente estudo, provoca desnutrição pela diminuição do conteúdo protéico da dieta após o desmame (Agarwal e cols., 1981; Benabe e cols., 1993).

1.2 – Os efeitos da desnutrição sobre os sistemas fisiológicos e a contratilidade cardíaca

A desnutrição protéica afeta diversos sistemas, alterando o funcionamento de órgãos e, em consequência disto, provocando doenças. A fase da vida e o tempo de exposição a que o indivíduo é submetido contribuem para a determinação da gravidade das alterações.

Vários trabalhos realizados com humanos já demonstraram uma correlação entre a desnutrição nas fases iniciais da vida e a redução do peso e estatura. Em animais também se observou um prejuízo no desenvolvimento, com depleção de massa muscular e diminuição do peso (Winick & Noble, 1966).

Vários estudos que se basearam na hipótese da “programação” nutricional demonstraram que um estímulo ou insulto em período crítico ou sensível do desenvolvimento resulta em alterações fisiológicas e metabólicas a longo prazo, confirmando que a desnutrição nas fases iniciais da vida produz conseqüências no indivíduo adulto. Existem períodos críticos durante os quais a maturação deve ocorrer e a falha nesse processo de maturação pode ser irrecuperável (Barker & Clark, 1997). Em razão desta “programação”, perturbações do desenvolvimento durante a vida fetal e infância podem originar doenças cardiovasculares e algumas condições associadas a elas, tais como hipertensão e diabetes tipo II (Barker e cols., 1993; Phillips e cols., 1994).

Estudos da literatura associam as alterações no ambiente intra-uterino ao baixo peso ao nascer (Barker e cols., 1990), a doenças metabólicas como o Diabetes tipo II (Phillips e cols., 1994), doenças renais (Hoy e cols., 1999), doenças coronarianas (Barker e cols., 1993) e à hipertensão na fase adulta (Barker e cols., 1990; Sawaya & Roberts, 2003; Sawaya e cols., 2003; Sawaya e cols., 1995; Sawaya e cols., 2005). Alguns estudos sugerem ainda uma associação entre desnutrição na infância e risco aumentado de obesidade e doenças crônico-degenerativas na vida adulta (Sawaya e cols., 2003). Entretanto, os mecanismos através dos quais a desnutrição proteica induz ao surgimento das doenças acima citadas ainda necessita ser melhor investigado. Nesse sentido, muitos grupos de pesquisa têm estudado processos fisiopatológicos em modelos experimentais de desnutrição, fornecendo assim dados importantes sobre o tema.

Estudos realizados em ratos demonstraram que a desnutrição protéica resultou em alterações na hemodinâmica renal com uma redução na atividade de renina plasmática, diminuição na produção de prostaglandinas (Fernandez-Repollet e cols., 1987), aumento na resistência vascular intra-renal, diminuição do fluxo renal plasmático e da taxa de filtração glomerular (Ichikawa e cols., 1980). Outro estudo (Langley-Evans e cols., 1999) mostrou que ratos submetidos à desnutrição intrauterina apresentaram uma redução do número de néfrons e um aumento da PAM. Foi observado ainda um aumento da expressão de renina renal e de mRNA para enzima conversora de angiotensina (ECA) em animais submetidos à desnutrição protéica, o que pode estar envolvido com alterações na hemodinâmica renal desses animais (Benabe e cols., 1993).

A desnutrição também afeta, em grande escala e de uma forma muito ampla, o sistema cardiovascular. (Okoshi e cols., 2006) observaram que a restrição alimentar promoveu remodelamento e disfunção miocárdica em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Cicogna e colaboradores mostraram que a restrição alimentar prejudicou a função

do músculo papilar prolongando o período de contração em ratos, observando ainda, um aumento do conteúdo de colágeno no miocárdio (Cicogna e cols., 2001). Foi sugerido que a restrição alimentar estaria causando um prejuízo na performance miocárdica de ratos e que esse prejuízo poderia ser resultado de problemas no transporte intracelular de cálcio e no sistema beta-adrenérgico (Gut e cols., 2003). Mais recentemente, foi observado, em ratos hipertensos, que a restrição alimentar promoveu um prejuízo da função inotrópica do miocárdio (Gut e cols., 2008). A restrição alimentar também causou disfunção sistólica ventricular em ratos hipertensos, sem, no entanto, se observar alterações *in vitro* (Okoshi e cols., 2004). Em ratos submetidos à desnutrição intra-uterina, foi observado aumento da pressão sistólica e remodelamento cardíaco (Kawamura e cols., 2007). Adicionalmente, a exposição pré-natal à desnutrição materna induziu disfunção cardíaca no adulto. Os filhotes submetidos à desnutrição intra-uterina apresentaram um aumento do diâmetro do ventrículo esquerdo, com diminuição da espessura da parede até 3 semanas de vida, entretanto, após esse período, um progressivo aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo foi observado. Já com 40 semanas de vida, os animais apresentaram uma elevação, ao dobro, da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, redução do débito cardíaco, diminuição das taxas máximas de contração e relaxamento do ventrículo esquerdo e redução da pressão arterial média. Os autores afirmam ainda que a exposição do feto à desnutrição materna “programa” uma disfunção cardíaca na sua vida adulta (Cheema e cols., 2005). Franco e colegas mostraram que a restrição alimentar intrauterina, em ratos, induziu hipertensão e alterou a resposta endotélio-dependente em aorta. Os autores sugerem ainda que a disfunção endotelial está associada com uma diminuição na atividade/expressão da eNOS (Franco e cols., 2002). Também foi observado, em ratos, que a desnutrição protéico-calórica promoveu, no ventrículo esquerdo, uma redução da função sistólica, da complacência e da taxa máxima de elevação da pressão (+dP/dT), um remodelamento excêntrico e uma diminuição da elasticidade miocárdica (Okoshi e cols., 2002). Resultados parciais obtidos no mesmo modelo adotado em nosso laboratório mostram que a desnutrição protéica causou hipertrofia do ventrículo esquerdo em ratas sem, no entanto, verificar aumento no conteúdo de colágeno (Magno e cols., 2009).

Em vários estudos de nosso grupo, utilizando o modelo experimental de desnutrição pós-desmame, observamos alterações nos mecanismos de controle do sistema cardiovascular: i) aumento da sensibilidade do barorreflexo, do reflexo Bezold-Jarisch e do tônus vasomotor simpático (Tropia e cols., 2001); ii) aumento dos níveis basais de

frequência cardíaca (FC) e pressão arterial média (PAM), além do aumento da variabilidade desses parâmetros quando analisados no domínio do tempo (Oliveira e cols., 2004); iii) aumento da responsividade do quimiorreflexo (Penitente e cols., 2007); iv) perturbação da homeostase cardiovascular; v) alterações no ganho do barorreflexo vi) alteração no período de latência da resposta barorreflexa; vii) alterações na modulação da atividade autonômica eferente, responsáveis pela manutenção dos altos valores de FC e PAM basais (Loss e cols., 2007); viii) hiperatividade do eixo renina-angiotensina (Gomide e cols., 2007) dentre outros. Complementarmente, foi observado aumento da atividade eferente simpática e redução da atividade eferente parassimpática nos animais submetidos à dieta hipoprotéica, sendo que a análise da variabilidade da FC no domínio da frequência demonstrou um predomínio da atividade simpática sobre a parassimpática, sugerindo que a restrição protéica é capaz de promover uma disfunção autonômica cardíaca em ratos (Martins, 2007). Também observamos um prejuízo da neurotransmissão glutamatérgica nas vias do baroreflexo ao nível do RVLM (Rodrigues, 2008); Mais recentemente, foi observado que a desnutrição protéica promove importantes alterações na regulação reflexa cardiopulmonar, possivelmente alterando processos de plasticidade central, gerando um desbalanço autonômico que interfere negativamente sobre a homeostase cardiovascular (Bezerra, 2009).

1.3 – A função ventricular esquerda

Todas as etapas e eventos envolvidos no funcionamento do ventrículo esquerdo já estão bem descritos na literatura (Robert Berne e cols., 2004) (John Bullock e cols., 1995).

A atividade do ventrículo esquerdo inclui eventos elétricos (como a despolarização celular miocárdica) e mecânicos (encurtamento das células miocárdicas provocando geração de pressão e, desse modo, alterações de volume). Sendo que, os eventos elétricos precedem e iniciam os eventos mecânicos.

O início dos eventos que estão envolvidos na contração ventricular se dá com o influxo de Ca^{2+} a partir do líquido intersticial que, durante a excitação, deflagra a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático. O Ca^{2+} citosólico livre ativa a contração dos miofilamentos (sístole). Na diástole, o relaxamento do músculo cardíaco ocorre como

resultado da captação do Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático, pela extrusão do Ca^{2+} intracelular com a troca de $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ pela bomba de cálcio.

A pressão (energia potencial) gerada no ventrículo esquerdo pela contração das fibras musculares é convertida em fluxo sanguíneo (energia cinética), para suprir todas as células do organismo.

Os eventos envolvidos na dinâmica de funcionamento ventricular se dividem em duas etapas: Sístole ventricular e diástole ventricular. Todo o ciclo cardíaco pode ser observado na **Figura 1**.

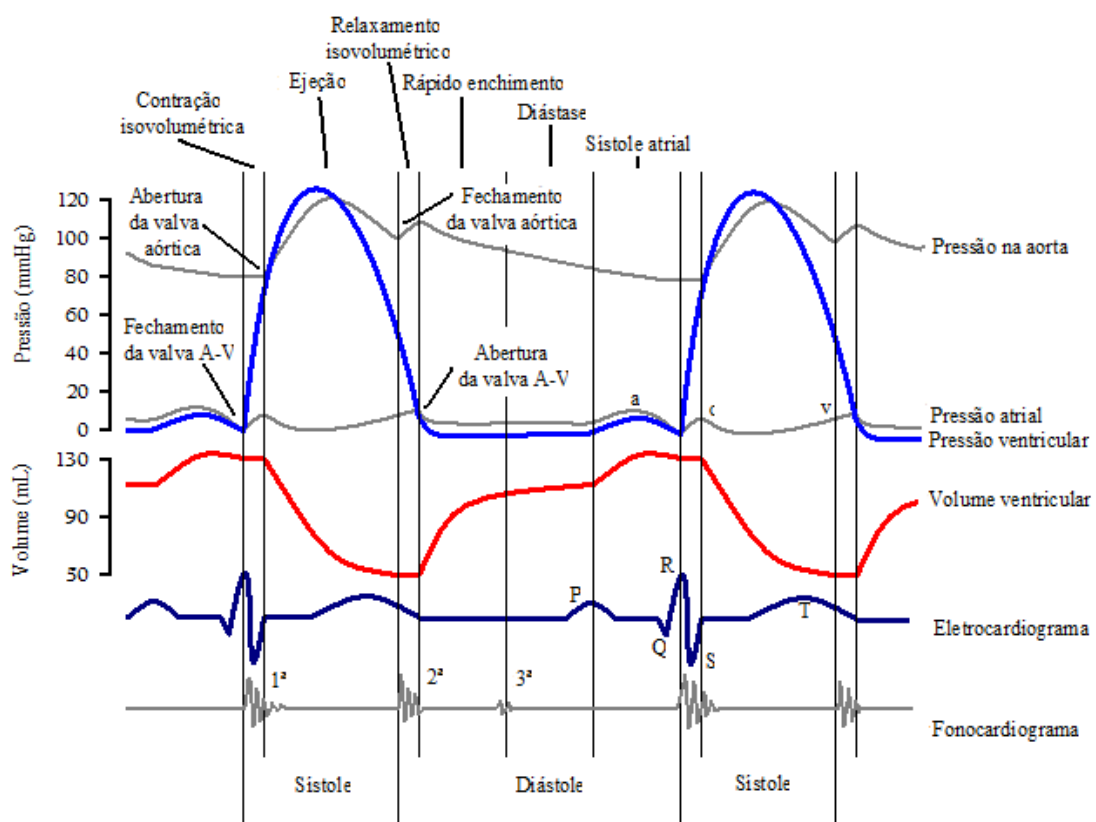


Figura 1: *Diagrama de Wiggers, mostrando os eventos do ciclo cardíaco que ocorrem no ventrículo esquerdo.* Fonte: Physiology. Roger Thies, Kirk W. Barron. Pág. 84. 4ª Ed. Oklahoma notes, Springer – Verlag.

1.3.1 – Sístole ventricular

O início da contração ventricular coincide com o pico da onda R no eletrocardiograma e a sístole ventricular se divide em duas fases: Contração isovolumétrica e fase de ejeção.

1.3.1.1 – Contração isovolumétrica

A contração isovolumétrica é caracterizada na curva de pressão ventricular como a primeira elevação de pressão após a contração atrial.

Logo que a válvula átrio-ventricular se fecha, a câmara ventricular esquerda fica fechada para o átrio e para a artéria aorta. Nessa etapa da sístole o volume ventricular permanece inalterado, até que a pressão ventricular exceda a pressão na artéria aorta.

1.3.1.2 – Fase de ejeção

Quando a pressão ventricular excede a pressão na aorta começa a ejeção ventricular esquerda. Logo que a ejeção ventricular começa, a pressão arterial aumenta em razão do aumento do volume arterial. A fração inicial da ejeção é rápida, sendo que, aproximadamente, dois terços do débito sistólico são ejetados durante o primeiro terço da sístole. Esta fase de ejeção rápida persiste até o pico das pressões ventricular e arterial.

Durante os últimos dois terços da sístole, a velocidade de ejeção diminui e os ventrículos começam a relaxar. Este período é conhecido como ejeção reduzida. As pressões ventricular e arterial começam a diminuir assim que a velocidade do fluxo sanguíneo, através dos vasos periféricos, excede a velocidade do fluxo sanguíneo a partir do ventrículo esquerdo.

Terminada a fase de ejeção, a válvula aórtica se fecha, impedindo o movimento de sangue de volta para o ventrículo, indicando o final da sístole e o início da diástole ventricular.

1.3.2 – Diástole ventricular

O fechamento da válvula aórtica marca o início da diástole ventricular, que por sua vez, é dividida em 3 fases: Relaxamento isovolumétrico, fase de enchimento rápido e diástase.

1.3.2.1 – Relaxamento isovolumétrico

É o período compreendido entre o fechamento da válvula aórtica e a abertura da válvula átrio-ventricular. Este período é caracterizado por uma queda abrupta na pressão ventricular, enquanto o ventrículo relaxa, sem, no entanto, ocorrer alteração no volume ventricular. O volume ventricular permanece constante desde o fechamento da válvula aórtica até a abertura da válvula átrio-ventricular, que ocorre quando a pressão ventricular tem valor menor do que a pressão atrial.

1.3.2.2 – Fase de enchimento rápido

Durante a sístole ventricular, o retorno venoso continua, dessa forma, a pressão atrial se torna sensivelmente alta e estimula a abertura da válvula átrio-ventricular. A pressão atrial elevada causa o início rápido do fluxo sanguíneo para o ventrículo. Logo que a válvula átrio-ventricular se abre, o átrio e o ventrículo formam uma câmara única e a pressão em ambas as cavidades diminui com o contínuo relaxamento ventricular e, dessa forma, há um aumento no volume ventricular. O período em que ocorre este fluxo rápido de sangue do átrio para o ventrículo esquerdo é conhecido como “fase de enchimento rápido”.

1.3.2.3 – Diástase

Próximo ao final da diástole a pressão nos átrios e ventrículos aumenta lentamente conforme o sangue continua a retornar para o coração. No caso do ventrículo esquerdo, o sangue proveniente dos pulmões flui lentamente para dentro do ventrículo esquerdo. Este pequeno e lento acréscimo ao enchimento ventricular determina a elevação gradual nas pressões atrial e ventricular, bem como no volume ventricular. O período em que ocorre este derradeiro enchimento lento do ventrículo esquerdo é chamado diástase.

1.4 – Avaliação da atividade ventricular esquerda

A atividade ventricular pode ser avaliada baseando-se nas análises de dois diferentes e complementares aspectos: Função sistólica e função diastólica.

À função sistólica diz respeito ao inotropismo ou contratilidade, que traduz o desempenho do coração frente a uma determinada pré-carga e pós-carga e pode ser quantificado relacionando-se as variáveis: Pressão desenvolvida no ventrículo e tempo de encurtamento (tempo decorrido para que se eleve a pressão intraventricular ao máximo). Essas duas variáveis são brilhantemente relacionadas na fórmula dP/dT , através da qual se obtém a variação de pressão em um determinado tempo, durante o aumento da pressão. Assim, o valor de pico (dP/dT máximo) consiste em um valioso índice de força do ventrículo e é considerado uma medida de contratilidade (John Bullock e cols., 1995).

A função diastólica está relacionada ao estado lusitropico, ou seja, à capacidade de relaxamento do ventrículo. De acordo com De e colaboradores a quantificação da taxa de relaxamento do ventrículo esquerdo em condições normais e patológicas é importante na avaliação da função de bomba do miocárdio (De e cols., 2001). Foi mostrado também que um relaxamento miocárdico prejudicado é um forte indício do início da insuficiência cardíaca (Lorell, 1991), (Leite-Moreira & Gillebert, 1994). Concluiu-se ainda que a disfunção diastólica é caracterizada pela insuficiência do relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo, confirmada pelo aumento da constante TAU (tempo de relaxamento isovolumétrico), pela diminuição do índice dP/dT de queda da pressão do ventrículo esquerdo (dP/dT mínimo) e por um aumento anormal da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) (Verma & Solomon, 2009).

Dessa forma, a avaliação da atividade ventricular esquerda pode ser realizada a partir do cálculo dos parâmetros discriminados a seguir.

1.4.1 – Variação de pressão no ventrículo esquerdo (Δ PVE)

É a diferença entre o valor máximo e mínimo de pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo. Representa a amplitude do aumento de pressão no ventrículo esquerdo durante um ciclo cardíaco.

1.4.2 – Frequência cardíaca (FC)

É calculada através da seguinte fórmula: $60/DC$, onde DC é duração do ciclo, em segundos. Descreve o número de ciclos cardíacos realizados em um minuto.

1.4.3 – dP/dT máximo (dP/dT máx)

1ª Derivada da curva da pressão em relação ao tempo, no período de aumento da pressão intraventricular esquerda. Representa a inclinação da reta tangente a cada ponto constituinte da curva da pressão, sendo considerado o valor máximo de inclinação, como representado na **Figura 2**.

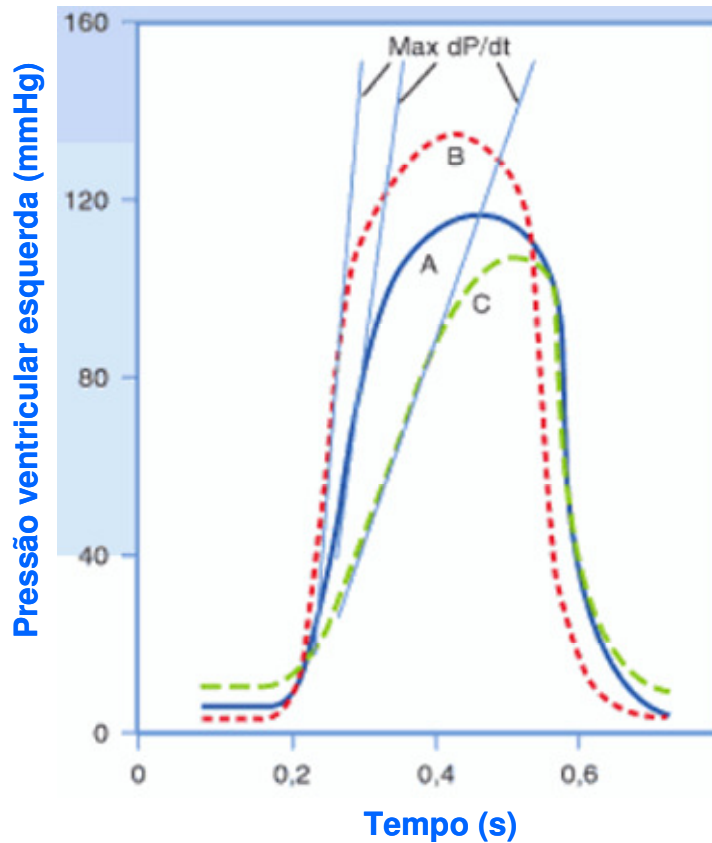


Figura 2: Curvas de pressão ventricular esquerda com tangentes desenhadas para as porções mais íngremes dos ramos ascendentes, para indicar os valores de dP/dT máximos. A, controle; B, coração hiperdinâmico, como ocorre na administração de norepinefrina; C, coração hipodinâmico, como na insuficiência cardíaca. Fonte: Fisiologia. Robert Berne, Matthew N. Levy, Bruce M. Koeppen e Bruce A. Stanton. Pág 327. 5ª Edição, Elsevier Editora Ltda.

1.4.4 – dP/dT mínimo (dP/dT mín)

1ª Derivada da curva da pressão em relação ao tempo, igualmente ao dP/dTmáx, entretanto, no período de queda da pressão intraventricular esquerda. Representa a inclinação da reta tangente a cada ponto constituinte da curva da pressão.

1.4.5 – Duração sistólica (DS)

Tempo decorrido entre o início do ciclo cardíaco, exatamente no ponto da pressão diastólica final (EDP), e o momento de pico de dP/dT mínimo. Representa o tempo necessário para que o coração realize toda a sístole.

1.4.6 – Duração diastólica (DD)

Tempo decorrido entre o momento de pico de dP/dT mínimo e o final do ciclo cardíaco (no ponto onde se identifica a pressão diastólica final – EDP). Representa o tempo necessário para que o coração realize toda a diástole.

1.4.7 – Duração do ciclo (DC)

Tempo decorrido entre o ponto onde se identifica a EDP de um ciclo cardíaco e o ponto de EDP do próximo ciclo cardíaco. Representa o tempo necessário para que o coração realize um ciclo cardíaco completo.

1.4.8 – Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE)

Representa a pressão registrada ao final do enchimento ventricular esquerdo, durante a diástole, determinada pela pré-carga. Coincide com o momento anterior ao início da contração ventricular.

1.4.9 – Tempo de relaxamento isovolumétrico (TAU)

Tempo decorrido durante o período de relaxamento isovolumétrico. O período de relaxamento isovolumétrico inicia-se no ponto de pico de dP/dT mín, coincidindo com o fechamento da válvula aórtica e persiste até o surgimento da PDFVE. Na **Figura 3** pode-se observar a região do ciclo cardíaco marcada em azul, ilustrando o período de relaxamento isovolumétrico na curva da PVE.

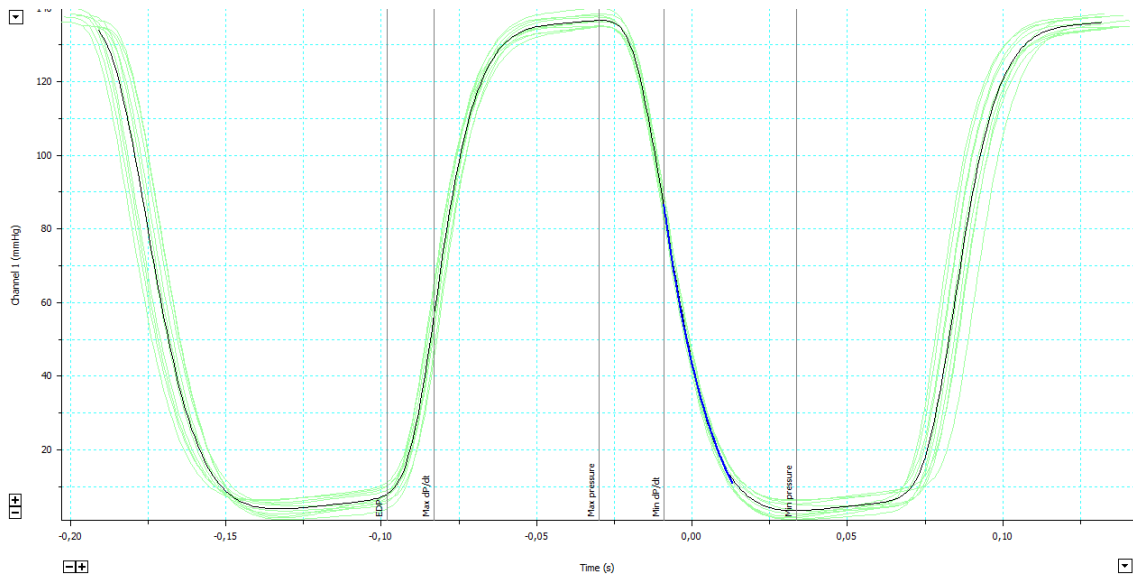


Figura 3: Representação da análise off-line de 10 ciclos cardíacos de animal do grupo controle em janela de visualização do módulo Blood Pressure do software LabChart Pro 7.2 for Windows®. O trecho em azul representa o momento em que ocorre o relaxamento isovolumétrico. EDP é pressão diastólica final do ventrículo esquerdo.

1.4.10 – dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico (IRP)

Representa a inclinação da curva de pressão ventricular esquerda durante o período de relaxamento isovolumétrico. IRP é a medida invasiva “padrão-ouro” na avaliação da taxa de relaxamento do ventrículo esquerdo (De e cols., 2001).

1.4.11 – índice de contratilidade (IC)

É calculado pela fórmula: $(dP/dT \text{ máx}) / PVE$, sendo que PVE no momento de dP/dT máx. Ou seja, inclinação máxima da curva da PVE dividido pela PVE nesse

momento. Este índice ilustra a capacidade de elevação de PVE do músculo cardíaco durante a sístole.

1.4.12 – Influência do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca

A exemplo de outros determinantes da função cardíaca, a contratilidade ou inotropismo tem uma grande importância fisiológica, pois permite que a função cardíaca seja rapidamente alterada e adaptada às necessidades do momento do organismo. Dentre os vários fatores que afetam a contratilidade miocárdica é possível destacar o sistema nervoso autônomo. Desta forma, fez-se necessário avaliar o sistema nervoso autônomo, tanto o braço simpático quanto o parassimpático, no que diz respeito à sua participação sobre a contratilidade cardíaca.

1.5 – Desnutrição protéica vs. Função ventricular esquerda

Nosso trabalho foi estimulado por duas vertentes.

A primeira, fundamenta-se em estudos que mostraram que a restrição alimentar materna “programa” o feto para doenças cardiovasculares na vida adulta, assim como mostraram que a restrição alimentar pós natal leva a importantes disfunções cardíacas, no que concerne ao desenvolvimento de remodelamento cardíaco, ao aumento do conteúdo de colágeno no músculo cardíaco, a problemas no transporte intracelular de cálcio e sistema adrenérgico, e ainda, prejuízo na função do músculo papilar.

A segunda, fundamenta-se nos achados do nosso laboratório, que mostraram que a desnutrição protéica pós desmame é capaz de produzir várias alterações envolvidas direta ou indiretamente com o sistema cardiovascular, tais como, prejuízo no controle do sistema autonômico, problemas de neurotransmissão ao nível do RVLM e modificação do eixo renina-angiotensina.

Diante dos achados que mostraram um prejuízo direto ao músculo cardíaco causado pela restrição alimentar pré e pós natal e diante dos resultados obtidos em nosso laboratório, que mostraram diversas alterações no sistema cardiovascular causadas, agora, pela desnutrição protéica pós desmame, decidimos avaliar se a desnutrição protéica pós desmame estaria causando um prejuízo direto ao músculo cardíaco, ao nível do ventrículo esquerdo.

2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo geral

Avaliar a influência da desnutrição protéica pós-desmame sobre a função ventricular esquerda cardíaca de ratos.

2.2 – Objetivos específicos

- ✓ Medir a variação de pressão dentro do ventrículo esquerdo nos animais desnutridos;
- ✓ Avaliar o tempo de duração da sístole, da diástole e do ciclo cardíaco como um todo nos animais desnutridos;
- ✓ Avaliar o nível basal de frequência cardíaca nos animais desnutridos;
- ✓ Avaliar dP/dT máximo e dP/dT mínimo no ventrículo esquerdo de ratos desnutridos;
- ✓ Avaliar a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo em ratos desnutridos;
- ✓ Avaliar a dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo de ratos desnutridos;
- ✓ Avaliar o tempo de duração do relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo de ratos desnutridos.
- ✓ Avaliar o índice de contratilidade do ventrículo esquerdo de ratos desnutridos.
- ✓ Avaliar a influência do sistema nervoso autônomo simpático sobre a contratilidade cardíaca através do bloqueio dos receptores β -adrenérgicos cardíacos
- ✓ Avaliar a influência do sistema nervoso autônomo parassimpático sobre a contratilidade cardíaca através do bloqueio dos receptores muscarínicos

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Modelo animal

Neste trabalho, utilizamos 62 ratos Fischer fornecidos pelo Laboratório de Nutrição Experimental, da Escola de Nutrição da UFOP-MG. Os animais foram mantidos em um biotério anexo ao Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, em regime de temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), ciclo de 12 horas claro (a partir de 7hs da manhã) e 12 horas escuro e livre acesso à água e à dieta.

Os procedimentos experimentais foram realizados em conformidade com as diretrizes da Comissão de Ética de Uso Animal da Universidade Federal de Ouro Preto (CEUA-UFOP). Todas as normas estabelecidas por esta comissão foram respeitadas, de forma a minimizar o sofrimento dos animais durante os experimentos.

3.2 – Metodologia da alimentação normal ou desnutrição

Após o desmame, realizado com 28 dias, os animais foram divididos em dois grupos:

- 1) Normonutridos: alimentado com dieta comercial Labcil/Socil® (dieta controle), contendo 15% de proteína.
- 2) Desnutridos: alimentado com dieta semi-purificada (dieta para desnutrição), contendo 6% de proteína.

Ambos os grupos receberam suas respectivas dietas por 35 dias. Após esse período, os animais foram utilizados para experimentação por no máximo sete dias - período em que continuaram recebendo a dieta previamente determinada. A sequência temporal da metodologia de desnutrição está representado na **Figura 4**.



Figura 4: Cronograma da metodologia para alimentação normal ou desnutrição protéica. Após o nascimento, os animais foram amamentados por um período de 28 dias. Em seguida, foram divididos em dois grupos: Normonutridos (dieta com 15% de proteína) e Desnutridos (dieta com 6% de proteína) por um período de 35 dias. Após esse período, os animais foram utilizados para experimentação dentro de um período de, no máximo, 7 dias.

3.3 – Composição química das dietas

As dietas utilizadas nos modelos experimentais diferiram apenas quanto ao teor proteico. A dieta do grupo controle foi ração comercial Socil® que apresentava 15% de proteína. A dieta para induzir a desnutrição apresentava 6% de proteína e foi preparada com elementos semi-purificados. A composição química das dietas está representada na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Composição química das dietas (g/100g de ração).

	Normonutridos	Desnutridos
Proteína (caseína)	15	6
Amido de Milho	70	79
Óleo de Soja	8	8
Mistura de Sais¹	5	5
Mistura de Vitaminas²	1	1
Fibra (Celulose)	1	1
Teor Calórico	422 Kcal	422 Kcal

¹Mistura de minerais (g/Kg de mistura): NaCl – 139,3 / KI – 0,79 / MgSO₄.7H₂O – 57,3 / CaCO₃ – 381,4 / MnSO₄.H₂O – 4,01 / FeSO₄.7H₂O – 27,0 / ZnSO₄.7H₂O - 0,548 / CuSO₄.5H₂O – 0,477 / CoCl₂.6H₂O – 0,023 / KH₂PO₄ – 389,0.

²Mistura de vitaminas (g/Kg de mistura): Acetato de retinol – 0,6 / Colecalciferol – 0,005/ Ácido p-aminobenzóico – 10,00 / I-Inositol – 10,00 / Niacina – 4,00 / Pantotenato de cálcio – 4,00 / Riboflavina – 0,80/ Tiamina HCl – 0,50 / Piridoxina HCl – 0,50 / Ácido fólico – 0,20 / Biotina – 0,04 / Vitamina B12 – 0,003 / Sacarose – q.s.p. 1000. / Colina – 200,0 / □-Tocoferol – 6,7.

3.4 - Preparo de drogas/substâncias utilizadas

PBS (Salina tamponada com fosfato; pH 7,2): solução preparada pela diluição de 8,18g de NaCl P.A., 1,98 g de Na₂HPO₄.7H₂O P.A. e 0,26 g de NaH₂PO₄.H₂O P.A. (Synth, LABSYNTH Produtos para Laboratórios Ltda, Diadema, SP) em água ultra-purificada (Milli – Q®) q.s.p. 1000,0 mL. Ajustou-se o pH da solução para 7,2 com soluções de HCl e NaOH, conforme necessidade. A solução foi esterilizada por autoclavação 120°C e 1,0 Kg/cm² durante 15 minutos, conforme protocolo em vigor no Laboratório de Fisiologia Cardiovascular.

Anestésico (Solução de Ketamina + Xilazina): solução preparada pela adição de 2 mL de Xilazina 2% (p/v) a 10 mL de Ketamina 10% (p/v). Utilizada da seguinte forma: dose (ketamina: 80mg/kg ; Xilazina: 7mg/kg) e volume (0,1mL/100g de animal; i.m.).

3.5 – Confecção das cânulas

Para a confecção das cânulas foram utilizados tubos de polietileno PE-50 (Clay Adams, Parsipanny, NJ, EUA) previamente soldados a tubos de polietileno PE-10 (Clay Adams, Parsipanny, NJ, EUA), de dimensões ajustadas de acordo com o grupo ao qual pertence o animal, de acordo com a **Tabela 2**.

Depois de prontas e no momento da cirurgia as cânulas foram preenchidas com solução salina fisiológica tamponada e ocluídas nas extremidades externas com pinos de metal.

Tabela 2 - Dimensões das cânulas

	PE-10	PE-50
<i>Normonutridos</i>	3,5 cm	7,0 cm
<i>Desnutridos</i>	2,5 cm	7,0 cm

3.6 – Cirurgia de canulação do ventrículo esquerdo

Os animais foram anestesiados com uma solução anestésica de ketamina 10% (0,1 mL/ 100g) e xilazina 2% (0,02 mL /100 g). Foi realizada então, tricotomia das regiões ventral e dorsal do pescoço, bem como, da região torácica do animal, seguida de assepsia destes locais com solução PVPI degermante. Posteriormente, foi realizada uma incisão na região torácica, através da qual foi possível ter acesso à artéria carótida direita (**Figura 5**). A cânula foi lentamente inserida na artéria carótida direita até atingir o interior do ventrículo esquerdo, quando foi fixada. O correto posicionamento da cânula na luz do ventrículo esquerdo foi confirmado através da ligação da outra extremidade da cânula ao sistema de registro de dados, detalhadamente descrito adiante. Através deste sistema foi possível observar o momento exato em que a cânula atingiu a luz do ventrículo esquerdo (**Figura 6**). Em seguida, a cânula foi exteriorizada no dorso do animal com o auxílio de um pequeno tubo de metal (trocáter) – essa disposição permitiu o registro dos dados de PVE, 24 horas após a cirurgia, com o animal acordado, permitindo-lhe livre movimentação. Terminado o procedimento, os locais de incisão foram suturados. Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais, mantidas na sala de experimentos sob condições de temperatura, luminosidade e níveis de ruído controlados, para recuperação. Após um período de 24 horas de recuperação foi dado início ao registro da PVE.

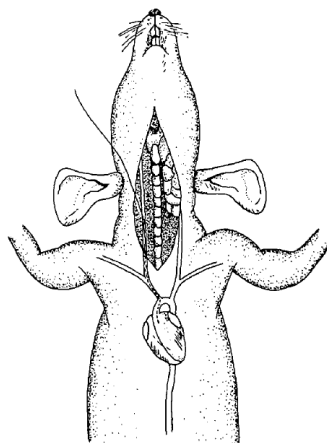


Figura 5: Representação esquemática da cirurgia de canulação do ventrículo esquerdo através da artéria carótida direita. Fonte: (Smith e cols., 1979).

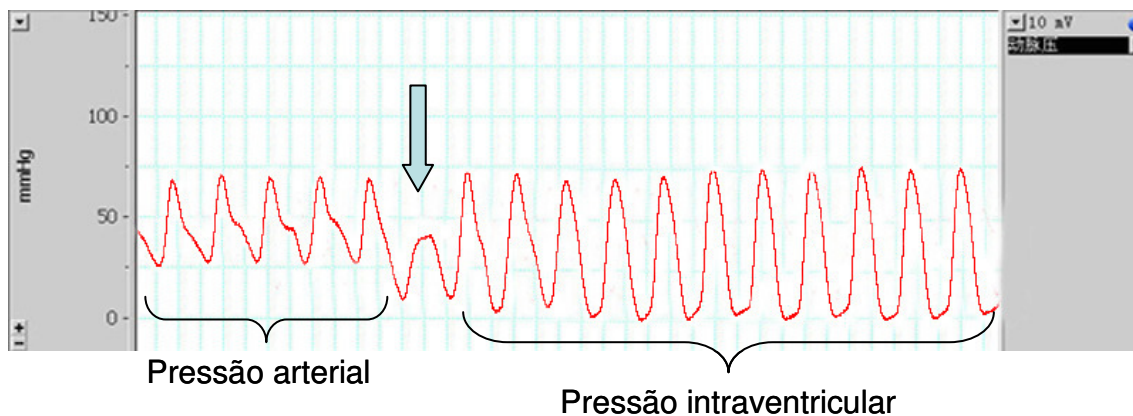


Figura 6: Representação da janela de visualização do software Chart for Windows®, ilustrando, através da seta, o momento exato em que a cânula atinge a luz do ventrículo esquerdo, passando através da válvula aórtica.

3.7 – Instrumentação para registro dos dados

Passado um período de 24 horas após a cirurgia, destinado à recuperação dos animais, iniciou-se o registro dos valores de pressão intraventricular esquerda (PVE). Para isto, a cânula já inserida no animal e preenchida com solução salina tamponada foi conectada a um transdutor de pressão MLT0699 (ADInstruments, Austrália) ligado a um amplificador de sinais ETH-400 (CB Sciences, Inc.). Esse amplificador foi conectado a um conversor analógico digital PowerLab/400(ADInstruments, Austrália). A transferência de dados entre o conversor e o computador foi feita por intermédio de uma placa SCSI onde o software Chart for Windows® gerava os registros de PVE a partir dos dados enviados pelo conversor analógico digital numa frequência de amostragem de 1000 Hz (**Figura 7**).

3.8 – Registro dos dados

Após a instrumentação descrita acima, os animais passaram por mais um período de estabilização, de aproximadamente 45 minutos, em uma gaiola específica para o registro dos dados. Esta gaiola permitiu livre movimentação do animal, que por ocasião do registro estava acordado. Realizou-se então a aquisição dos dados referentes à PVE. Um exemplo ilustrativo do registro de PVE em uma janela do software Chart for Windows® está representado na **Figura 8**.

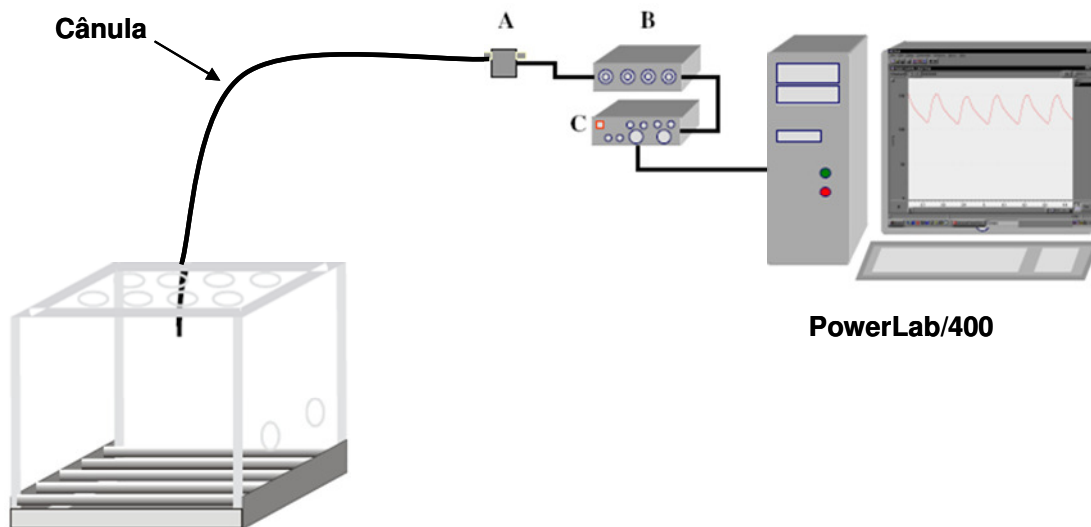


Figura 7: Representação esquemática do sistema utilizado para aquisição de dados. (A) transdutor de pressão; (B) amplificador analógico; (C) conversor analógico – digital.

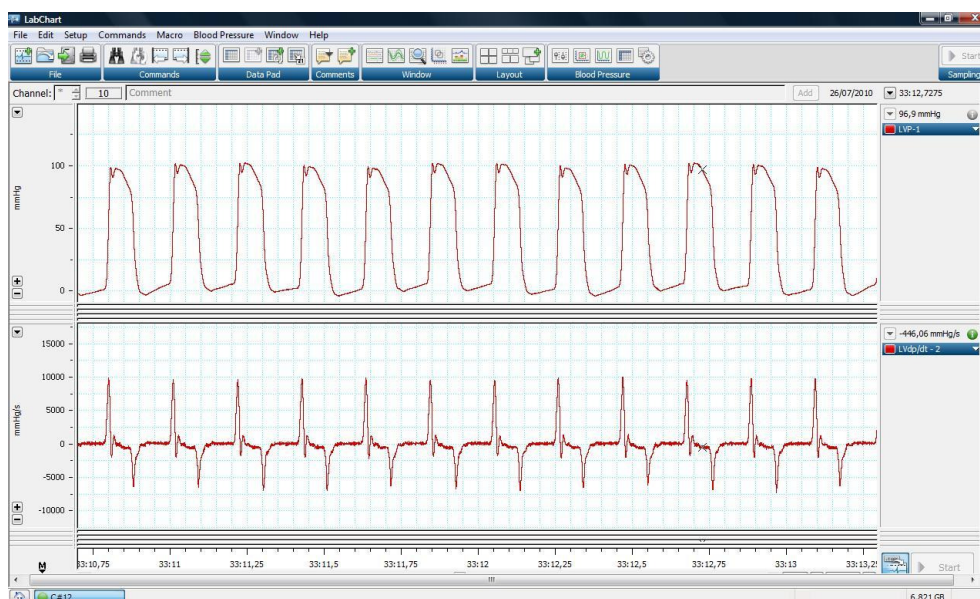


Figura 8: Representação da janela de visualização do software LabChart Pro 7.2 for Windows® durante o registro dos dados de um animal do grupo normonutridos. No canal superior está representada a curva da PVE e no canal inferior o gráfico da dP/dT.

3.9 – Cálculo dos parâmetros avaliativos da função ventricular esquerda

A partir do registro de PVE, utilizando 10 ciclos cardíacos por animal, foram calculados, “off line”, através da expansão Blood Pressure do software Chart for Windows® os seguintes parâmetros: Variação de PVE (Δ PVE), duração sistólica (DS), duração diastólica (DD), duração do ciclo (DC), frequência cardíaca (FC), dP/dT

máximo, dP/dT mínimo, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE), dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico (IRP), tempo de relaxamento isovolumétrico (TAU) e índice de contratilidade (IC).

3.10 – Influência do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca

Para avaliar a influência do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca foram realizados dois protocolos experimentais, 1 e 2, os quais avaliam, separadamente, o braço simpático e o parassimpático, respectivamente. Em ambos os protocolos foi realizada uma cirurgia de cateterização do ventrículo esquerdo e outra de cateterização da artéria e da veia femoral, para aquisição dos dados. Os dados foram coletados com os animais anestesiados (uretana 1,4g/Kg) e após um período de estabilização de 20 minutos os animais receberam a injeção das drogas, de acordo com o protocolo experimental, e tiveram registrados os 20 minutos subsequentes à injeção.

3.10.1 – Influência do braço simpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade

Para avaliar a influência do sistema nervoso autônomo simpático sobre a contratilidade, foram utilizados dois grupos de animais, grupo desnutrido (n=3) e controle (n=6). Foi realizado o bloqueio dos receptores β -adrenérgicos cardíacos com a injeção i.v. de atenolol (2 mg/Kg), de acordo com o protocolo 1, ilustrado abaixo. (**Figura 9**)

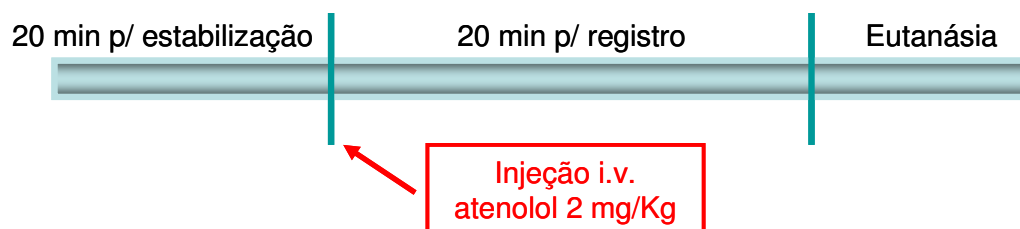


Figura 9: Protocolo 1 para avaliação da influência do braço simpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca em ratos controles ou desnutridos.

3.10.2 – Influência do braço parassimpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade

Para avaliar a influência do sistema nervoso autônomo parassimpático sobre a contratilidade, foram utilizados dois grupos de animais, grupo desnutrido (n=6) e controle (n=6). Foi realizado o bloqueio dos receptores muscarínicos cardíacos com a injeção i.v. de atropina (30,8 µg/Kg), de acordo com o protocolo 2, ilustrado abaixo. (Figura 10)

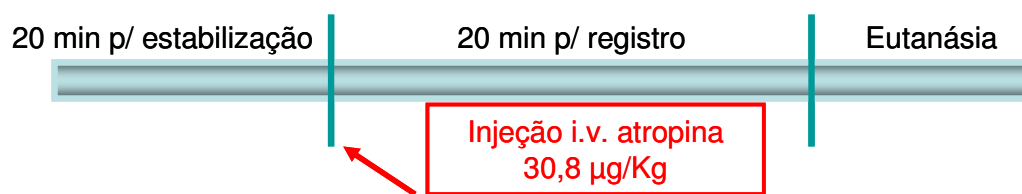


Figura 10: Protocolo 2 para avaliação da influência do braço parassimpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca em ratos controles ou desnutridos.

3.11 – Análise estatística

A análise estatística dos dados foi feita através do teste *t* de Student. O nível de significância considerado foi $P < 0,05$ (95% de intervalo de confiança). Os resultados dos parâmetros cardiovasculares do ciclo cardíaco estão mostrados como média \pm desvio padrão. Os parâmetros relacionados à avaliação do sistema nervoso autônomo estão mostrados como média \pm erro padrão.

4 - RESULTADOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados 41 ratos desnutridos, dos quais, apenas 10 estavam adequados para aquisição de dados e análise estatística. Para constituir o grupo normonutridos foram utilizados 21 ratos, dos quais, apenas 10 estavam adequados para as análises. Dessa forma, observamos que houve uma perda de aproximadamente 75% dos animais desnutridos e 52% dos animais normonutridos. Esta elevada perda, principalmente no grupo desnutrido, é justificada pela grande dificuldade em posicionar a extremidade da cânula exatamente na luz do ventrículo esquerdo, sem que esta encoste nas paredes do ventrículo (o que impossibilita o registro da PVE) ou seja expulsa de dentro do ventrículo esquerdo pela força do fluxo sanguíneo e da contração ventricular. No caso dos animais desnutridos, alia-se o descrito acima ao reduzido tamanho do animal e, conseqüentemente, ao reduzido tamanho do ventrículo esquerdo. É importante ressaltar ainda que as análises são realizadas 24 horas após a cirurgia, com o animal acordado e andando livremente pela gaiola. Isso torna ainda mais difícil a aquisição de um registro adequado da PVE.

4.1- Efeitos da desnutrição protéica pós-desmame sobre o peso corporal

A desnutrição protéica imposta fez com que os animais desnutridos apresentassem peso corporal inferior aos animais do grupo normonutrido ($69,7 \pm 10,9$ vs. $229,2 \pm 17,1$ g; $P < 0,05$) ao final dos 35 dias de dieta com 6% de proteína ou 15% de proteína, respectivamente. Estes resultados são mostrados na **Figura 11** e na **Tabela 3**.

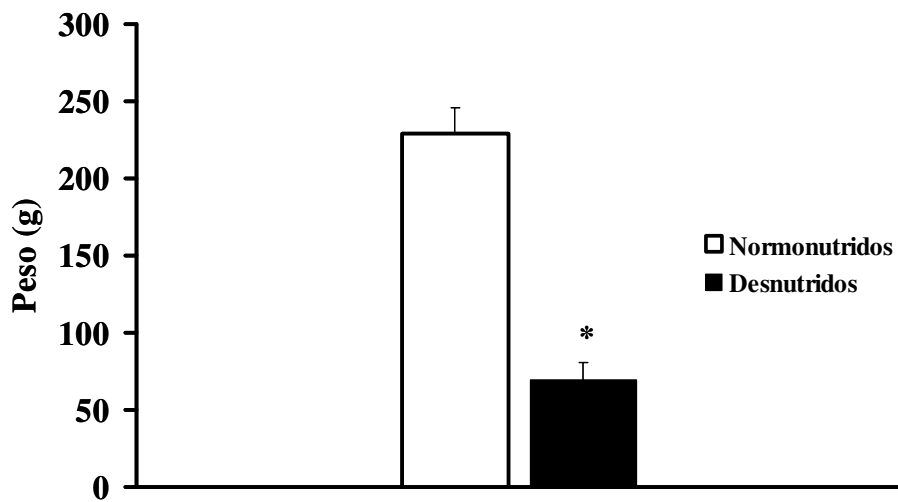


Figura 11: Efeito da desnutrição protéica sobre o peso corporal de ratos. * *Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido (P<0,05).*

4.2 – Efeito da desnutrição protéica sobre a FC basal

O nível basal de FC do grupo desnutrido não diferiu do grupo normonutrido ($373,7 \pm 68,4$ vs. $393,1 \pm 51$ bpm). Este resultado pode ser observado na **Figura 12** e na **Tabela 4**.

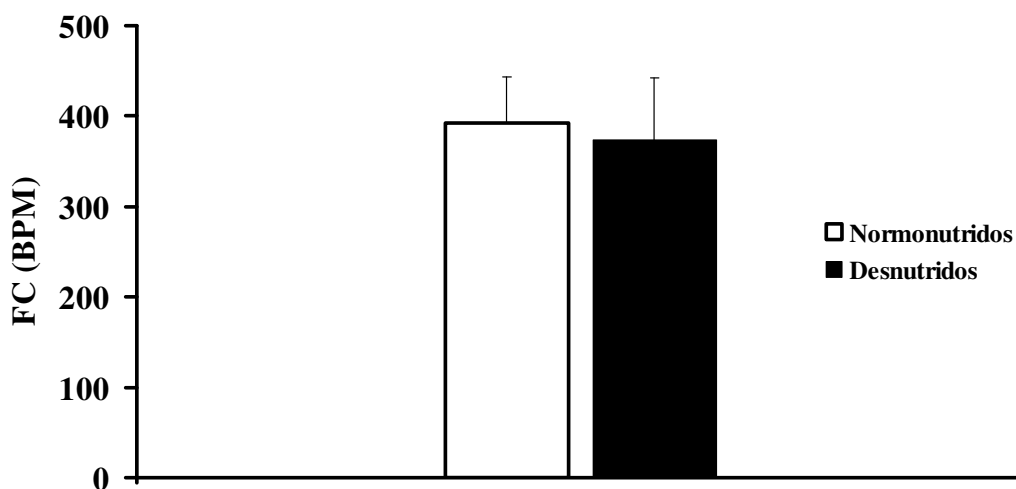


Figura 12: Efeito da desnutrição protéica sobre a frequência cardíaca basal de ratos.

4.3 – Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração sistólica

A desnutrição protéica não modificou o tempo de duração da sístole ventricular esquerda no grupo desnutrido, em relação ao grupo normonutrido ($0,0975 \pm 0,0248$ vs. $0,0891 \pm 0,0111$ s). Este resultado pode ser observado na **Figura 13** e na **Tabela 5**.

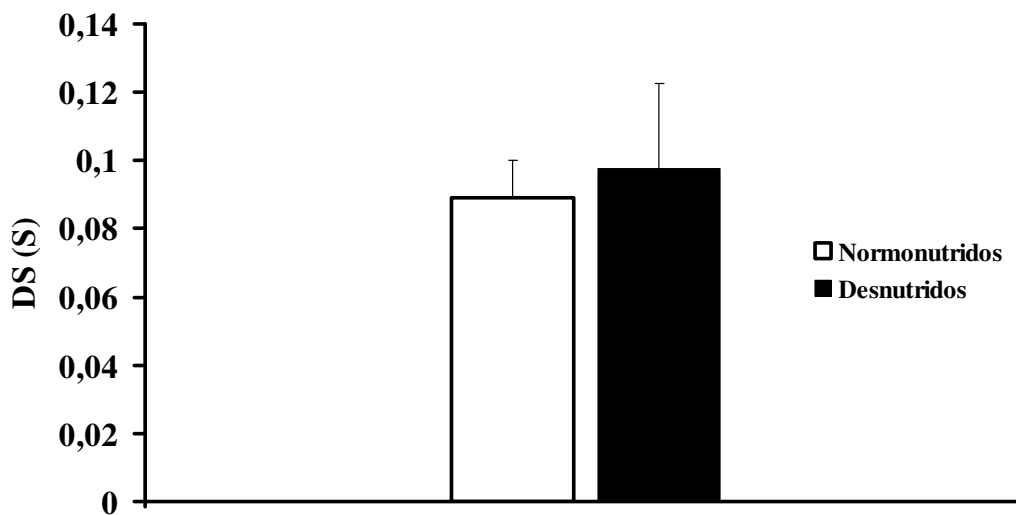


Figura 13: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração da sístole no ventrículo esquerdo em ratos.

4.4 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração diastólica

A desnutrição protéica não modificou o tempo de duração da diástole ventricular esquerda no grupo desnutrido, em relação ao grupo normonutrido ($0,0707 \pm 0,0236$ vs. $0,0657 \pm 0,0145$ s). Este resultado pode ser observado na **Figura 14** e na **Tabela 6**.

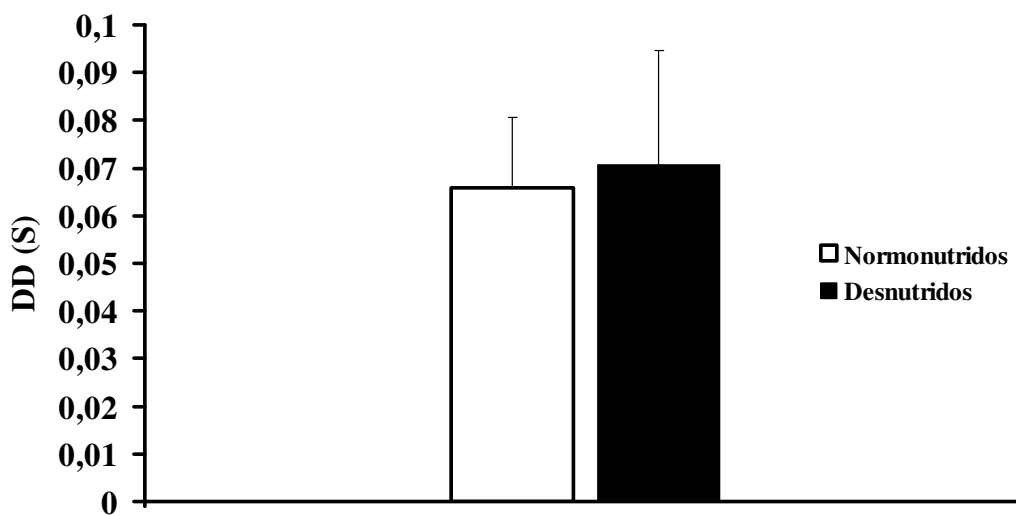


Figura 14: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração da diástole no ventrículo esquerdo em ratos.

4.5 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração do ciclo cardíaco

A desnutrição protéica não modificou o tempo de duração do ciclo cardíaco no grupo desnutrido, em relação ao grupo normonutrido ($0,1682 \pm 0,0474$ vs. $0,1548 \pm 0,0187$ s). Este resultado pode ser observado na **Figura 15** e na **Tabela 7**.

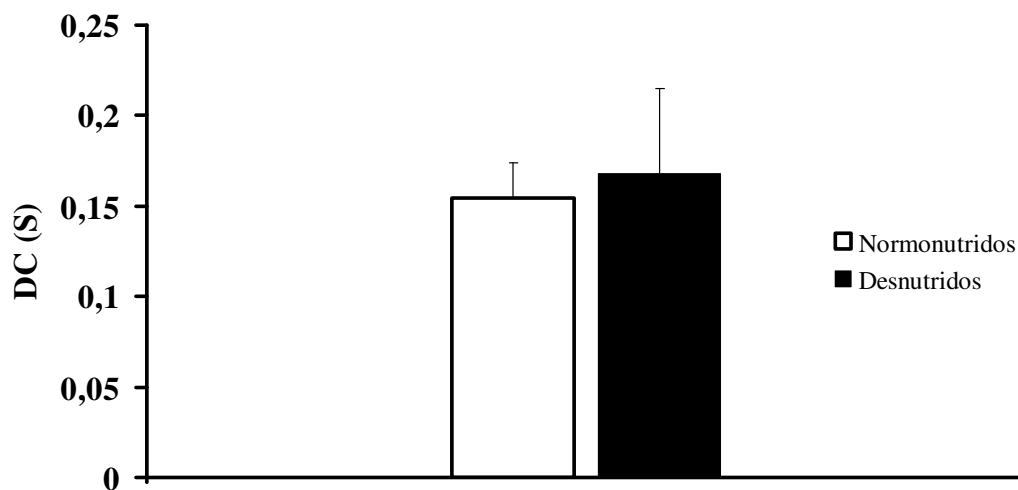


Figura 15: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração do ciclo cardíaco em ratos.

4.6 – Efeito da desnutrição protéica sobre a variação de pressão intraventricular esquerda

A desnutrição protéica não modificou a amplitude de variação da pressão intraventricular esquerda, quando comparado ao grupo normonutrido ($119,58 \pm 12,37$ vs. $128,31 \pm 9,36$ mmHg). Este resultado pode ser observado na **Figura 16** e na **Tabela 8**.

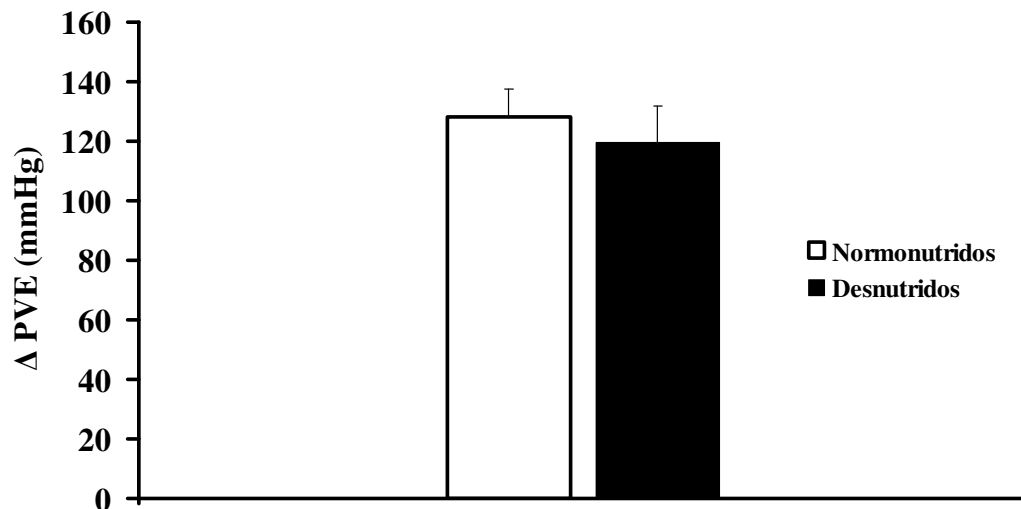


Figura 16: Variação de pressão desenvolvida no ventrículo esquerdo de animais desnutridos e normonutridos.

4.7 - Efeito da desnutrição protéica sobre a medida de contratilidade - dP/dT máximo

A desnutrição protéica foi capaz de reduzir significativamente os valores de dP/dT máximo, quando comparados aos animais do grupo normonutridos ($4165,65 \pm 1007,8$ vs. $5450,05 \pm 1164,63$ mmHg/s; $P < 0,05$). Este resultado pode ser observado na **Figura 17** e na **Tabela 9**.

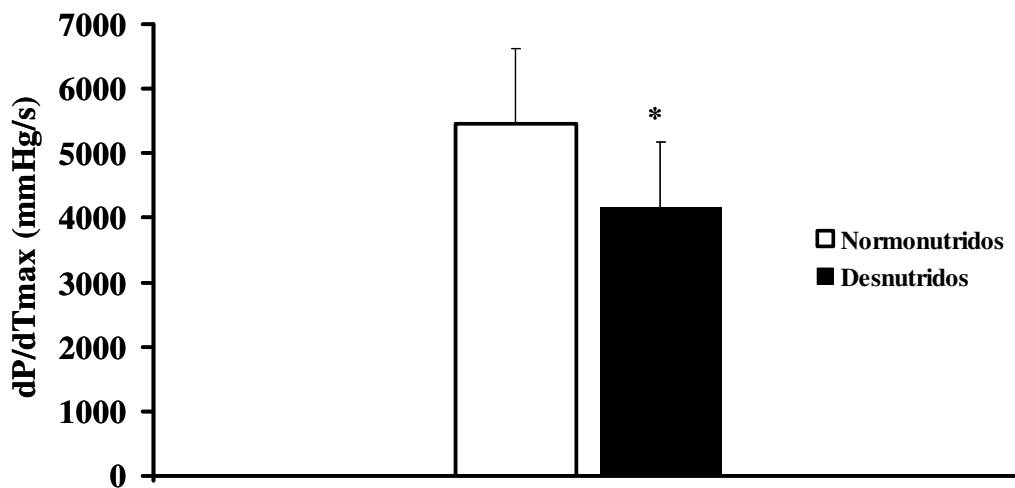


Figura 17: 1ª Derivada da PVE no tempo, durante a sístole em animais desnutridos e normonutridos.
* Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido ($P < 0,05$).

4.8 - Efeito da desnutrição protéica sobre a dP/dT mínima

Os animais submetidos à desnutrição protéica apresentaram níveis de dP/dT mínimo significativamente menores do que os animais do grupo normonutrido ($3469,63 \pm 1030,44$ vs. $4902,22 \pm 947,97$ mmHg/s; $P < 0,05$). Este resultado pode ser observado na **Figura 18** e na **Tabela 10**.

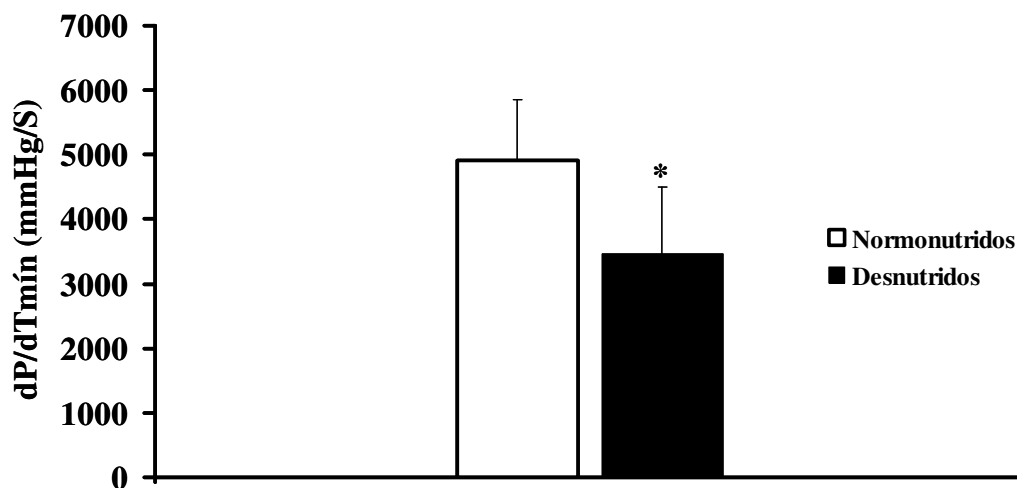


Figura 18: 1ª Derivada da PVE no tempo, durante a diástole em animais desnutridos e normonutridos. * Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido ($P < 0,05$).

4.9 – Efeito da desnutrição protéica sobre o índice de contratilidade

A desnutrição protéica não modificou o índice de contratilidade comparado ao grupo normonutrido no grupo desnutrido ($82,38 \pm 14,96$ vs. $93,18 \pm 23,03$ 1/s). Este resultado pode ser observado na **Figura 19** e na **Tabela 11**.

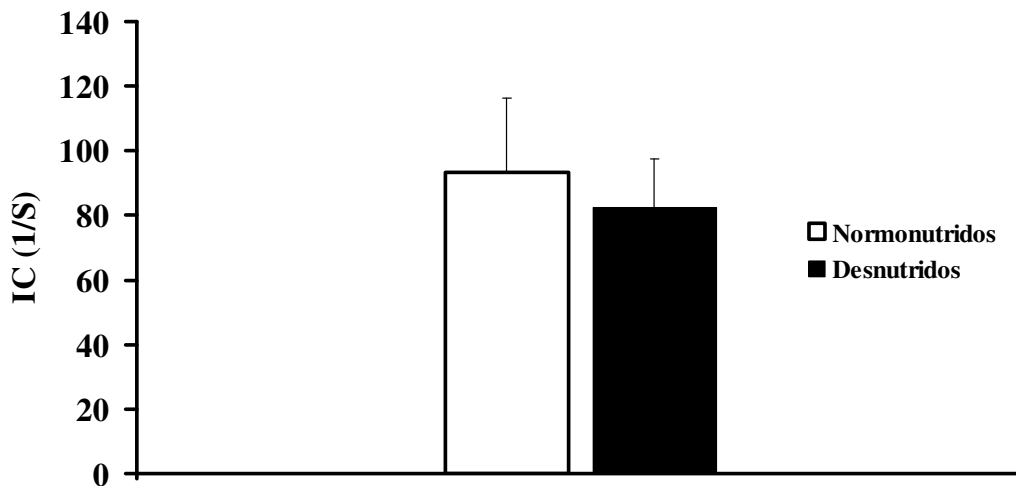


Figura 19: Índice de contratilidade do ventrículo esquerdo de animais desnutridos e normonutridos.

4.10 - Efeito da desnutrição protéica sobre a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo

A desnutrição protéica foi capaz de elevar significativamente os valores de pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, comparado aos animais do grupo normonutrido ($5,78 \pm 1,64$ vs. $4,12 \pm 1,02$ mmHg; $P < 0,05$). Este resultado pode ser observado na **Figura 20** e na **Tabela 12**.

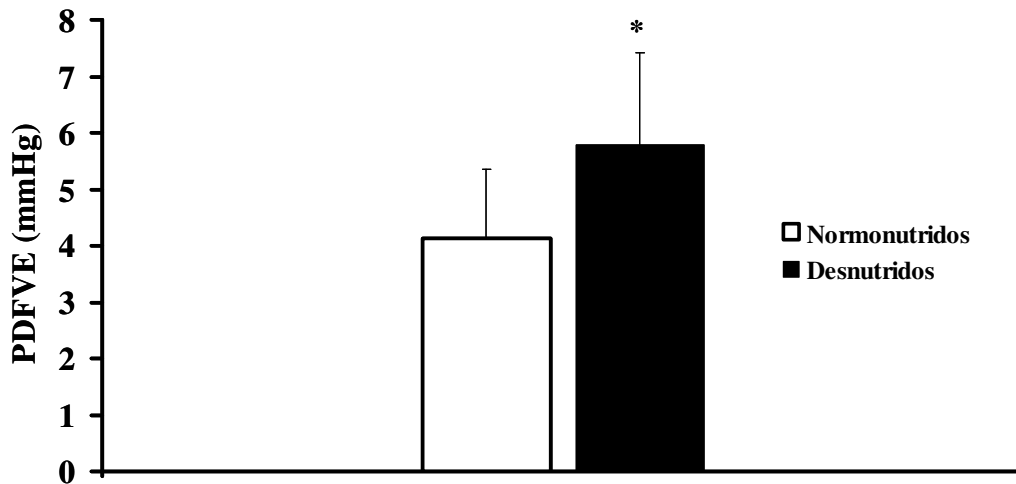


Figura 20: Pressão diastólica final do ventrículo esquerdo de animais desnutridos e normonutridos. * Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido ($P < 0,05$).

4.11 - Influência da desnutrição protéica sobre a dP/dT durante o relaxamento isovolumétrico

A desnutrição protéica promoveu uma redução significativa na taxa de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo, em relação aos animais do grupo normonutrido ($2205,29 \pm 645,33$ vs. $2934,22 \pm 605,89$ mmHg/s; $P < 0,05$). Este resultado pode ser observado na **Figura 21** e na **Tabela 13**.

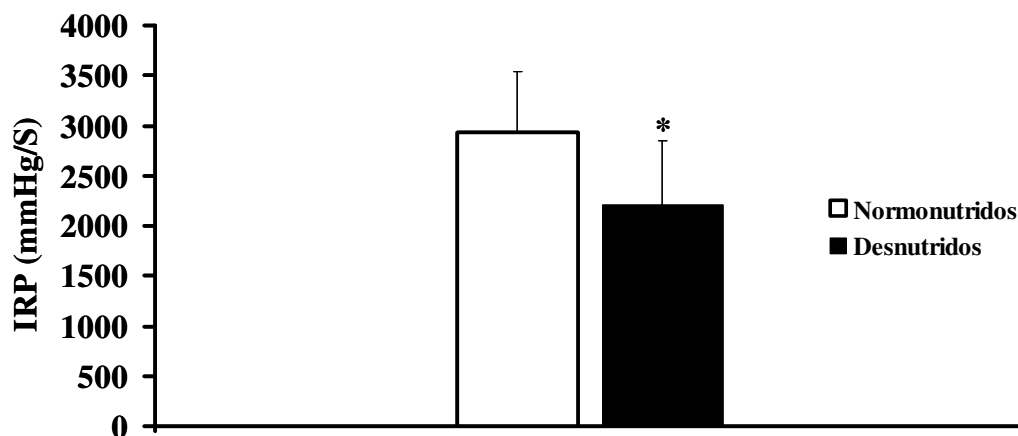


Figura 21: Valores máximos da 1ª derivada da PVE no tempo durante o período de relaxamento isovolumétrico em ratos desnutridos e normonutridos. *Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido ($P < 0,05$).

4.12 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de relaxamento isovolumétrico

A desnutrição protéica promoveu uma elevação significativa no tempo de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo, em relação os animais do grupo normonutrido ($0,029 \pm 0,018$ vs. $0,015 \pm 0,003$ s; $P < 0,05$). Este resultado pode ser observado na **Figura 22** e na **Tabela 14**.

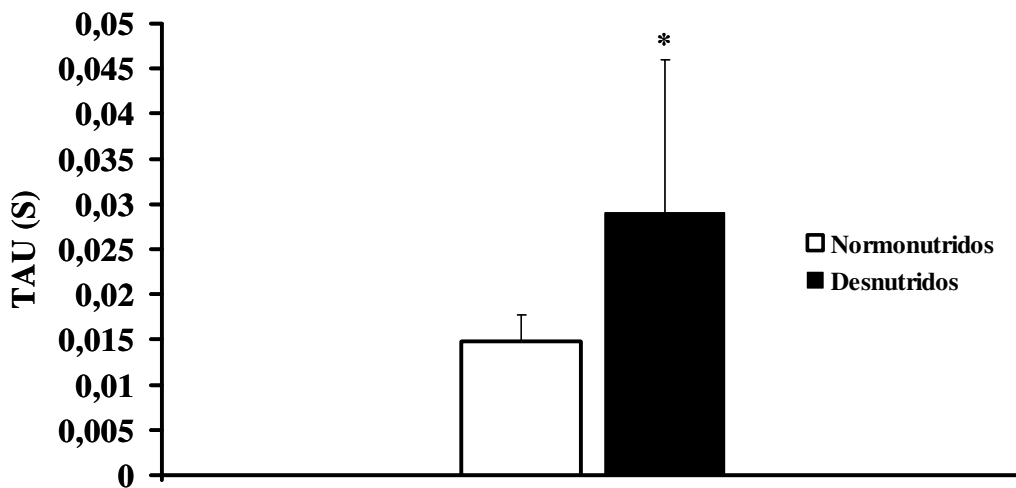


Figura 22: Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de duração do relaxamento isovolumétrico em ratos desnutridos e normonutridos. *Diferença significativa comparado ao grupo normonutrido ($P < 0,05$).

4.13 – Análise porcentual dos resultados

A **Figura 23** apresenta uma análise geral dos resultados, em termos porcentuais, considerando o resultado do grupo desnutrido como porcentagem em relação ao resultado do grupo normonutrido.

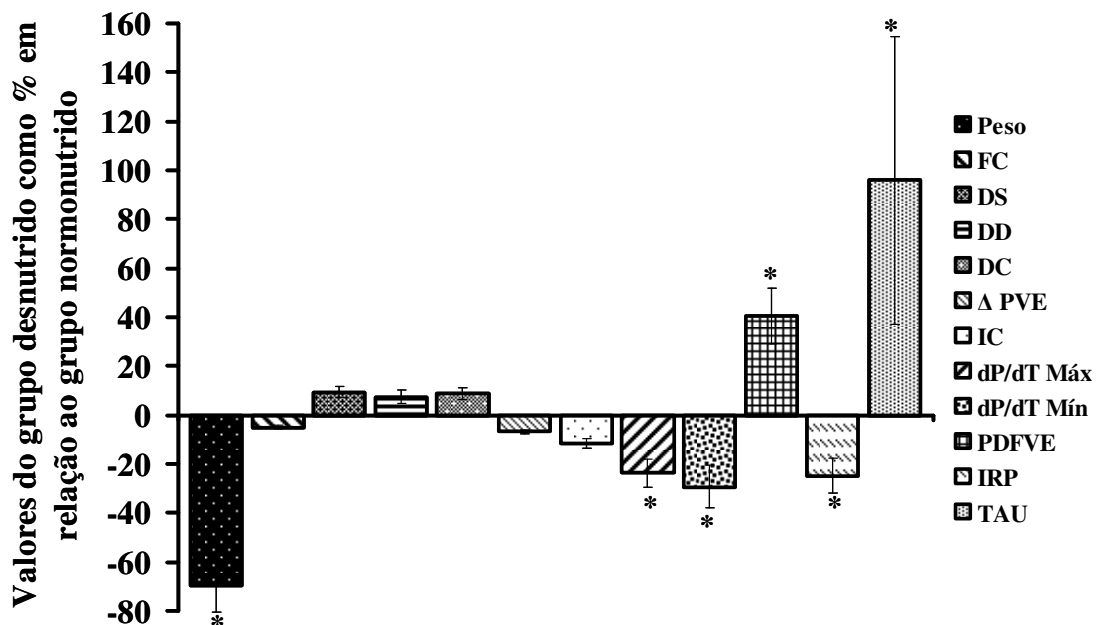


Figura 23: Sumário. Resultados expressos como porcentagem dos valores do grupo normonutrido. FC=Freq. Cardíaca; DS=Duração sistólica; DD=Duração diastólica; DC=Duração do ciclo; ΔPVE=Variação de PVE; dP/dTmáx=1ª derivada da PVE na sístole; dP/dTmín= 1ª derivada da PVE na diástole; IC=Índice de contratilidade; PDFVE=Pressão diastólica final do VE; IRP= dP/dT durante relaxamento isovolumétrico e TAU=Duração do relaxamento isovolumétrico.

4.14 – Influência do braço simpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade

Os resultados encontrados na avaliação da influência do braço simpático sobre a contratilidade cardíaca nos animais desnutridos podem ser observados na **Figura 24** e nas **Tabelas 15, 16, 17 e 18**. Em **A** observamos uma menor queda de pressão arterial média para os animais do grupo desnutrido, em relação ao grupo controle; Em **B** não

observamos diferença entre as quedas de pico de pressão ventricular esquerda, em ambos os grupos; em **C** e em **D** observamos, respectivamente, um aumento da queda da frequência cardíaca e aumento da queda de pico de dP/dT ventricular esquerdo, nos animais desnutridos, em relação aos animais do grupo controle.

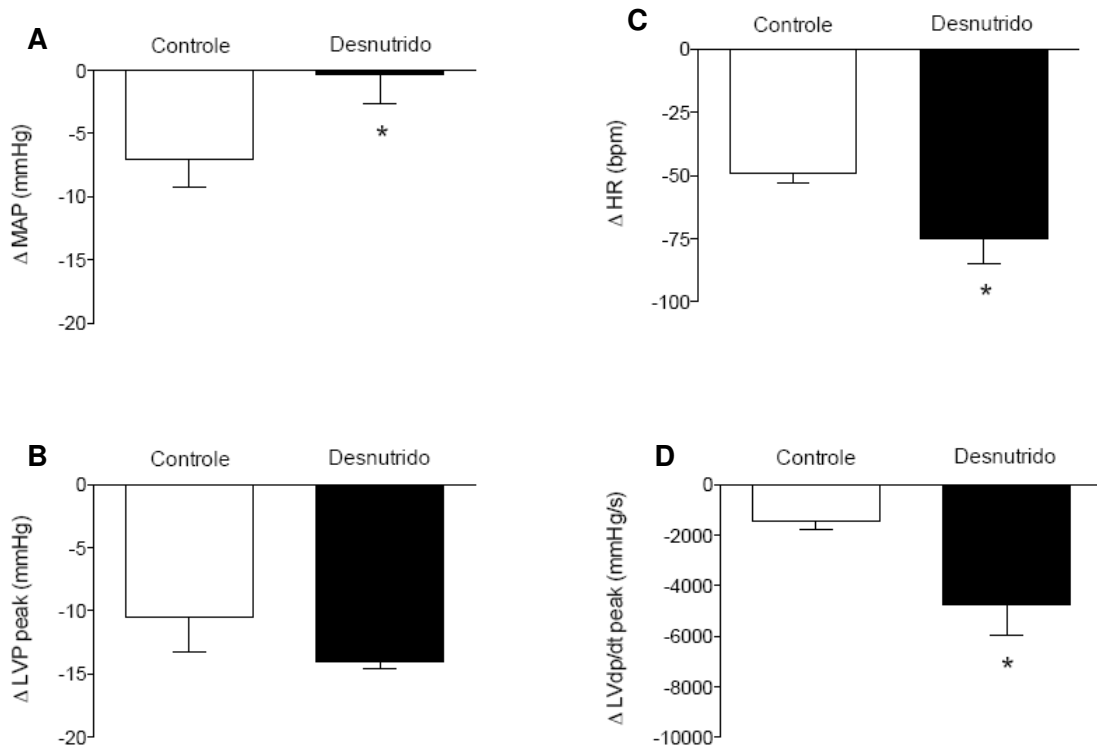


Figura 24: Variação dos parâmetros analisados, em relação ao basal, dos grupos controle e desnutrido, após administração de atenolol. (A) Variação de PAM (mmHg). (B) Variação de pico de PVE (mmHg). (C) Variação de FC (bpm). (D) Variação de pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s). *Diferença significativa comparado ao grupo controle, (P<0,05)

4.15 – Influência do braço parassimpático do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade

Os resultados encontrados na avaliação da influência do braço parassimpático sobre a contratilidade cardíaca nos animais desnutridos podem ser observados na **Figura 25** e nas **Tabelas 19, 20, 21 e 22**. Em **A, C e D** não observamos diferença entre as quedas de frequência cardíaca, pico de pressão ventricular esquerda e pico de dP/dT ventricular esquerdo, respectivamente, em ambos os grupos; Entretanto, observamos um menor aumento da frequência cardíaca nos animais desnutridos, em relação aos animais do grupo controle, após o bloqueio com atropina.

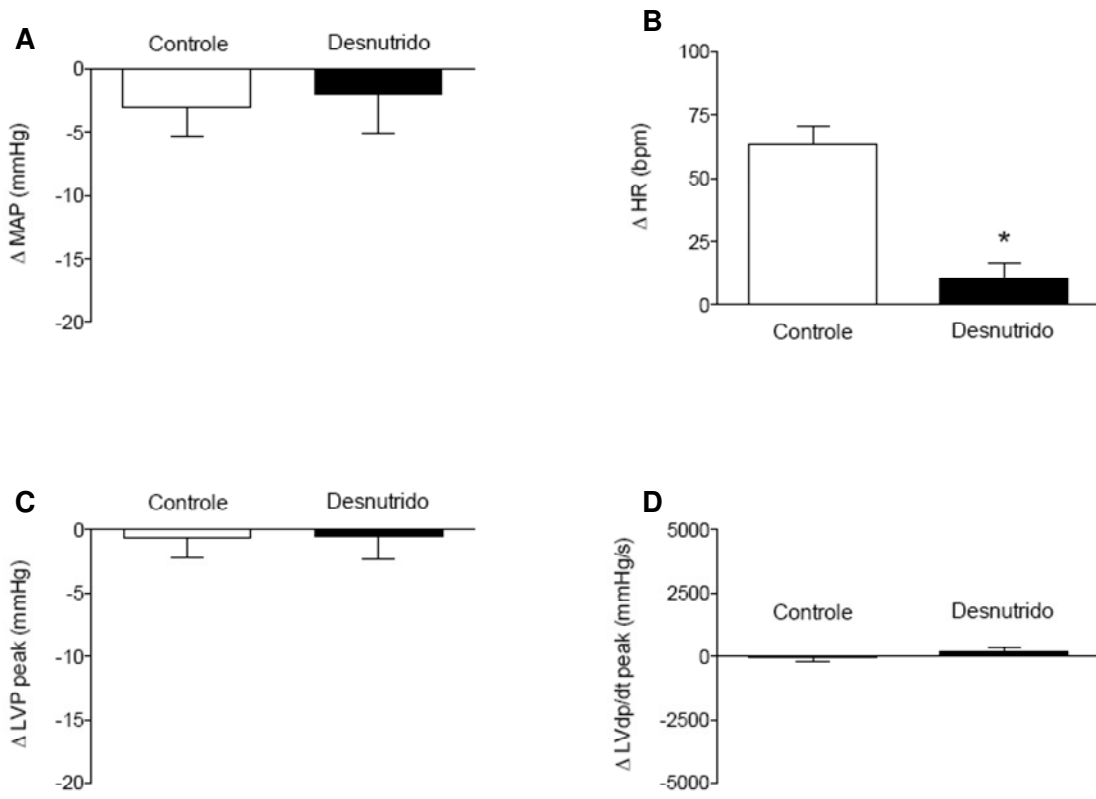


Figura 25: Variação dos parâmetros analisados, em relação ao basal, dos grupos controle e desnutrido, após administração de atropina. (A) Variação de PAM (mmHg).. (B) Variação de FC (bpm). (C) Variação de pico de PVE (mmHg) (D) Variação de pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s). *Diferença significativa comparado ao grupo controle, (P<0,05)

5 – DISCUSSÃO

Os principais achados do nosso trabalho demonstram que a desnutrição protéica causa: i) redução do peso corporal; ii) redução da dP/dT máx; iii) redução da dP/dT mín; iv) aumento da PDFVE; v) redução da IRP; vi) aumento do TAU; vii) o bloqueio dos receptores adrenérgicos cardíacos causou maior queda de frequência cardíaca e contratilidade em animais desnutridos e viii) o antagonismo colinérgico cardíaco causou menor aumento de frequência cardíaca nos animais desnutridos.

Apesar dos constantes avanços no combate à desnutrição, especialmente, as recentes políticas públicas sociais e de saúde desenvolvidas no Brasil, esta permanece sendo ainda um importante problema de saúde pública, não só no Brasil mas, de uma forma geral, nos países em desenvolvimento. Tanto em humanos como em animais, a desnutrição é responsável por efeitos adversos na homeostase de diversos sistemas fisiológicos. Especialmente em fases iniciais da vida, e aí podemos incluir também o desenvolvimento intra-uterino, a desnutrição é capaz de produzir impactos severos, levando inclusive a distúrbios cardiovasculares. Nesse sentido, é de suma importância o estudo da desnutrição em modelos experimentais, uma vez que possibilita o melhor entendimento de suas consequências nos organismos. No presente estudo, utilizamos ratos submetidos à desnutrição protéica pós desmame pois tais animais apresentam vantagens que estimulam sua escolha como baixo custo de manutenção e curto ciclo reprodutivo, além de serem de fácil manuseio.

Dentre as diversas metodologias possíveis para induzir um processo de desnutrição, utilizamos a redução do teor protéico da dieta isocalórica oferecida após a amamentação aos animais desnutridos de 15% para 6% em nossos experimentos, o que representa uma redução de 60 % da proteína (caseína) oferecida. Esta metodologia de desnutrição tem uso sistemático em nosso Laboratório e apresenta relativas similaridades com procedimentos empregados em outros trabalhos da literatura (Agarwal e cols., 1981), (Benabe e cols., 1993). Ao fim das 5 semanas, em que os animais estiveram submetidos a restrição protéica proposta, o grupo desnutrido exibiu um peso corporal médio reduzido a aproximadamente 1/3 do peso corpóreo do respectivo grupo normonutrido. Outros trabalhos que utilizaram o rato como modelo experimental também relataram o déficit no peso corporal promovido pela desnutrição (Oliveira e cols., 2004), (Penitente e cols., 2007), (Loss e cols., 2007) e (Silva, 2011). De uma maneira geral, a redução do peso corporal pode ser utilizada como um indicador básico de desnutrição (Lucas, 1998).

Outros fatores característicos de um quadro de desnutrição têm sido apresentados por nosso Laboratório com os baixos níveis de albumina plasmática e proteínas totais (Oliveira e cols., 2004) e (Tropia e cols., 2001). Diante desses parâmetros é possível afirmar que a ração composta de 6 % de proteína (caseína) vem sendo eficaz em promover um quadro de desnutrição experimental.

Em nosso trabalho a FC basal do grupo desnutridos não anestesiados não sofreu alteração significativa em relação ao grupo normonutridos. Os resultados de Tropia e colaboradores corroboram nossos dados, demonstrando que a restrição, por um período de 35 dias após a amamentação, não alterou os níveis basais de frequência cardíaca de ratos (Tropia e cols., 2001). Posteriormente, neste mesmo modelo experimental, níveis maiores de FC basal foram observados em alguns trabalhos realizados em nosso laboratório. Porém, a metodologia para coleta e análise dos dados e as condições experimentais diferiram do presente trabalho. Como exemplo dessa diferença metodológica podemos citar a cirurgia, que em nosso trabalho é realizada em local diferente dos demais, ou seja, na face ventral do pescoço, enquanto nos demais trabalhos é realizada na parte medial da pata traseira do animal. Outra diferença metodológica importante está relacionada ao local onde o cateter é inserido, sendo que, em nosso trabalho o mesmo é inserido no coração (ventrículo esquerdo) pela artéria carótida direita enquanto nos demais trabalhos é inserido na artéria femoral. Além disso, muitos dos trabalhos foram realizados em animais anestesiados, o que pode alterar o controle autonômico do sistema cardiovascular. Vários estudos foram realizados com o intuito de avaliar a função e a estrutura miocárdicas em diversos modelos experimentais que utilizaram restrição alimentar como forma de mimetizar uma condição de subnutrição. Diversos trabalhos basearam-se no modelo de restrição alimentar, no qual o grupo destinado à desnutrição recebeu 50% da quantidade de alimento que o grupo controle consumiu. Utilizando este modelo, Okoshi e colaboradores observaram remodelamento e disfunção miocárdica em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) (Okoshi e cols., 2006). Outro trabalho mostrou prejuízo da função do músculo papilar com prolongamento do período de contração e aumento do conteúdo de colágeno no miocárdio de ratos (Cicogna e cols., 2001). Em dois trabalhos distintos, Gut e colegas sugeriram um prejuízo na performance miocárdica de ratos e observaram, em ratos SHR, um prejuízo da função inotrópica do miocárdio (Gut e cols., 2003) (Gut e cols., 2008). Estes trabalhos usaram experimentos *ex-vivo*, utilizando coração ou músculo papilar isolados para a obtenção dos índices funcionais do miocárdio, relativos à contratilidade e à complacência. Conjuntamente, estes resultados demonstram

claramente que a restrição alimentar causa prejuízo da função miocárdica, o que suporta a nossa hipótese de que, no modelo de desnutrição protéica utilizado em nossos experimentos, há um prejuízo da função ventricular esquerda. Entretanto, os resultados supracitados não fornecem indícios das influências autonômicas, que sabidamente ocorrem, o que indica a necessidade de se realizar experimentos *in vivo*, como em nosso modelo experimental. Mesmo assim, a contribuição do sistema nervoso autônomo para o controle da contratilidade cardíaca em nosso modelo ainda precisa ser avaliado.

Experimentos que avaliaram *in vivo* a função cardíaca em ratos desnutridos anestesiados mostraram que a restrição alimentar promoveu uma redução da função sistólica, da complacência e da taxa máxima de elevação da pressão ($dP/dT_{\text{máx}}$), um remodelamento excêntrico e diminuição da elasticidade miocárdica do ventrículo esquerdo (Okoshi e cols., 2002). Experimentos com animais submetidos à desnutrição intra-uterina, no qual as fêmeas prenhes do grupo destinado à desnutrição receberam dieta com metade da quantidade de proteína das fêmeas prenhes do grupo controle, mostraram, em ratos anestesiados, disfunção cardíaca no filhote, na vida adulta, com uma elevação da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo, redução do débito cardíaco e diminuição das taxas máximas de contração e relaxamento do ventrículo esquerdo (Cheema e cols., 2005).

Portanto, os trabalhos descritos acima fornecem fortes indícios de que a injúria alimentar sinaliza para um prejuízo da função miocárdica e, nesse contexto, são de grande importância para a elucidação dos prejuízos que a desnutrição pode causar aos organismos. Por outro lado, observa-se que os experimentos já realizados avaliando função cardíaca adotam protocolos de experimentação *ex vivo*, que não contemplam as diversas alterações do sistema autonômico e as influências hemodinâmicas sobre o coração como um todo. Além disso, os experimentos que adotam protocolo de experimentação *in vivo* utilizam animais anestesiados, o que potencialmente pode interferir nas respostas cardiovasculares à injúria alimentar.

Nesse sentido, nosso trabalho ilustra de forma inédita os aspectos da função ventricular esquerda, incluindo os índices de contratilidade e complacência do ventrículo esquerdo em animais acordados submetidos à desnutrição protéica após o desmame.

No mesmo modelo de desnutrição protéica adotado em nosso trabalho, foi demonstrada hipertrofia do ventrículo esquerdo, corroborando com a hipótese de que as injúrias ao sistema cardiovascular neste modelo vão além do desbalanço autonômico, prejudicando diretamente o músculo cardíaco (Magno e cols., 2009).

Como já relatado, nosso trabalho mostrou que FC não sofreu alteração significativa, no grupo desnutridos. Dessa forma, é de se esperar que as variáveis analisadas, relativas ao tempo de duração do ciclo cardíaco e suas subdivisões também não tenham sofrido alterações. Analisando a duração sistólica (DS), a duração diastólica (DD) e a duração total do ciclo (DC) observamos que não houve alteração significativa nestes valores no grupo desnutridos. Entretanto, no grupo desnutridos DS e DD tenderam a serem maiores, o que, juntamente com o tempo de relaxamento isovolumétrico (TAU) significativamente maior, justifica a tendência de DC também ser maior. Mesmo o TAU sendo significativamente maior no grupo desnutridos, isso parece não ser suficiente para tornar DC também significativamente maior. Isto ocorre devido ao relaxamento isovolumétrico representar uma pequena parcela do tempo total do ciclo cardíaco e à variação de TAU ser muito sensível a pequenas variações de tempo.

Vários estudos têm colocado em evidência o estudo da função diastólica como sendo determinante para caracterizar a insuficiência cardíaca. De acordo com De e colaboradores, a quantificação da taxa de relaxamento do ventrículo esquerdo em condições normais e patológicas é importante na avaliação da função de bomba do miocárdio (De e cols., 2001). Foi mostrado também que um relaxamento miocárdico prejudicado é um forte indício do início da insuficiência cardíaca (Lorell, 1991) e (Leite-Moreira & Gillebert, 1994).

De uma forma mais específica, a análise do período de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo tem sido utilizada como ferramenta para caracterizar a disfunção diastólica. Nesse sentido, a disfunção diastólica é caracterizada pela insuficiência do relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo, que pode ser confirmada pelo aumento da constante TAU, pela diminuição do índice dP/dT de queda da pressão do ventrículo esquerdo (dP/dT mínimo) e por um aumento anormal da pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (LVEDP) (Verma & Solomon, 2009). Outro índice importante na avaliação do relaxamento isovolumétrico e, portanto, igualmente importante na análise da função de bomba do coração é o IRP, que representa a inclinação da curva de pressão ventricular esquerda durante o período de relaxamento isovolumétrico. Segundo De e colegas, IRP é a medida invasiva “padrão-ouro” na avaliação da taxa de relaxamento do ventrículo esquerdo (De e cols., 2001).

Conforme nós imaginamos, os índices que avaliamos referentes à função diastólica do ventrículo esquerdo, discutidos acima, apresentaram-se alterados no grupo desnutridos, o que sinaliza para uma disfunção diastólica. No presente trabalho,

observamos um aumento significativo dos valores de TAU e de PDFVE, e ainda, uma diminuição significativa nos valores de dP/dT mín e IRP no grupo desnutridos. O aumento no tempo de relaxamento no período isovolumétrico (TAU) suporta o achado de diminuição de (IRP), ou seja, a inclinação da curva da PVE no período de relaxamento isovolumétrico, assim como a diminuição de dP/dT mín. O aumento na PDFVE, ou seja, o aumento da pressão no ventrículo esquerdo após o final do enchimento sanguíneo ao término da diástole corrobora com os resultados de Magno e colaboradores, que descreveram uma hipertrofia do ventrículo esquerdo (Magno e cols., 2009). Isso pode implicar em redução da complacência miocárdica e sinalizar, novamente, para um prejuízo da função diastólica.

Com o objetivo de avaliar a função sistólica do ventrículo esquerdo nós analisamos os seguintes parâmetros: Δ PVE, IC e dP/dT máx. Nós encontramos que não houve diferença significativa de Δ PVE dos animais desnutridos, ou seja, a desnutrição não provocou redução na pressão de pulso, assim como também não houve diferença significativa em IC. Estes resultados apontam para uma relativa normalidade da função sistólica. Entretanto, dP/dT máx apresentou uma redução significativa nos animais desnutridos, indicando redução da força contrátil. Os resultados de IC e dP/dT máx sinalizam para uma discreta disfunção sistólica, tendo em vista a tendência de redução no IC e a redução significativa de dP/dT máx.

Diante de todo o exposto, é tácito de se inferir a gama de trabalhos existente, realizados em nosso laboratório ou não, que ilustram as diversas alterações cardiovasculares ligadas a todo tipo de injúria alimentar. Principalmente, no que diz respeito à regulação cardiovascular. E de um modo bem específico, traduzindo à luz do nosso modelo experimental, o desbalanço do sistema nervoso autônomo nos animais submetidos a uma desnutrição protéica. Além disso, neste trabalho, a desnutrição mostra-se intimamente relacionada a um prejuízo da função cardíaca, principalmente no que diz respeito à diástole ventricular. Neste contexto, surge a seguinte pergunta: Qual a influência do sistema nervoso autônomo sobre a contratilidade cardíaca? Para responder a esta pergunta nós avaliamos, separadamente, a influência do sistema nervoso autônomo simpático sobre a contratilidade cardíaca, através do bloqueio dos receptores β -adrenérgicos cardíacos e a influência do sistema nervoso autônomo parassimpático sobre a contratilidade cardíaca através do bloqueio dos receptores muscarínicos.

Nós observamos que o bloqueio dos receptores adrenérgicos cardíacos causou maior queda de frequência cardíaca e contratilidade em animais desnutridos. E ainda, o

antagonismo colinérgico cardíaco causou menor aumento de frequência cardíaca nos animais desnutridos. Estes resultados mostram que o sistema nervoso simpático parece governar a performance cardíaca em animais desnutridos, sustentando, na medida do possível, os índices de contratilidade cardíaca observados, haja vista que, ao se bloquear o braço simpático, há uma queda significativa na contratilidade. Por outro lado, o sistema nervoso parassimpático parece pouco influenciar na contratilidade cardíaca, uma vez que o braço simpático foi bloqueado e nenhuma variação foi observada, no que diz respeito à contratilidade.

Em consonância com todos os dados apresentados, por ocasião do bloqueio do braço parassimpático, nós observamos que o aumento da frequência cardíaca dos animais desnutridos não acompanhou o aumento dos animais controle, possivelmente, por o coração já estar trabalhando a uma taxa elevada de frequência cardíaca, impulsionado pela sobreposição do braço simpático, e não ter capacidade de elevar ainda mais a frequência dos batimentos.

Faz-se necessário realizar outras análises funcionais do miocárdio, ou mesmo realizar experimentos com um número maior de animais, afim de que seja melhor esclarecida a real condição funcional sistólica do ventrículo esquerdo. Além disso, experimentos que avaliem a contribuição de mecanismos intrínsecos e extrínsecos, como a influência do cronotropismo e da pós-carga, respectivamente, sobre a contratilidade ainda necessitam ser realizados.

A partir dos experimentos que realizamos, com os animais acordados, foi possível observar a atividade do músculo cardíaco, não só no que diz respeito à capacidade intrínseca do músculo, mas sim considerando o organismo do animal como um sistema fechado em funcionamento, sob a influência de diversos mecanismos autonômicos, já observados em nosso laboratório.

Dessa forma, esperamos que nossos achados possam contribuir para o melhor entendimento dos prejuízos que o insulto nutricional pode causar ao sistema cardiovascular.

6 - CONCLUSÃO

De modo sumarizado, nossos experimentos apontaram que:

- ✓ A desnutrição protéica promovida após o período de amamentação causou uma severa redução do peso corporal em ratos.
- ✓ Não houve diferença significativa nos valores de pressão de pulso (Δ PVE) e frequência cardíaca (FC) dos animais submetidos à desnutrição protéica.
- ✓ Os tempos de duração da sístole (DS), da diástole (DD) e de todo o ciclo cardíaco (DC) não se alteraram com a desnutrição.
- ✓ O índice de contratilidade (IC) não apresentou diferença significativa nos animais desnutridos.
- ✓ A desnutrição protéica foi capaz de reduzir dP/dT máximo e dP/dT mínimo no ventrículo esquerdo.
- ✓ A pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (PDFVE) apresentou-se significativamente aumentada nos animais submetidos ao protocolo de desnutrição.
- ✓ A desnutrição promoveu uma diminuição significativa de dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo (IRP).
- ✓ Os animais desnutridos tiveram um aumento significativo no tempo de duração do relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo (TAU).
- ✓ O sistema nervoso simpático parece governar a performance cardíaca em animais desnutridos.
- ✓ O sistema nervoso parassimpático pouco influencia na contratilidade cardíaca.

Nós concluímos que a desnutrição protéica pós-desmame altera o controle da função ventricular cardíaca de maneira similar ao observado na insuficiência cardíaca, sendo capaz de promover alteração, principalmente no que diz respeito à função diastólica, que é determinante na caracterização da insuficiência cardíaca.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL K.N., PRASAD C. & TANEJA V. (1981) Protein deprivation and the brain: effect on enzymes and free amino acids related to glutamate metabolism in rats. *Ann.Nutr.Metab* **25**, 228-233.
- BARKER D.J., BULL A.R., OSMOND C. & SIMMONDS S.J. (1990) Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ* **301**, 259-262.
- BARKER D.J. & CLARK P.M. (1997) Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev.Reprod.* **2**, 105-112.
- BARKER D.J., GLUCKMAN P.D., GODFREY K.M., HARDING J.E., OWENS J.A. & ROBINSON J.S. (1993) Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* **341**, 938-941.
- BELL J.M. & SLOTKIN T.A. (1988) Postnatal nutritional status influences development of cardiac adrenergic receptor binding sites. *Brain Res.Bull.* **21**, 893-896.
- BENABE J.E., WANG S., WILCOX J.N. & MARTINEZ-MALDONADO M. (1993) Modulation of ANG II receptor and its mRNA in normal rat by low-protein feeding. *Am.J.Physiol* **265**, F660-F669
- BEZERRA V.M. (2009) Avaliação da responsividade do reflexo Bezold-jarisch em ratos desnutridos e submetidos à desnervação sino-aórtica. *Dissertação de mestrado.Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto.*
- CAULFIELD L.E., DE O.M., BLOSSNER M. & BLACK R.E. (2004) Undernutrition as an underlying cause of child deaths associated with diarrhea, pneumonia, malaria, and measles. *Am.J.Clin.Nutr.* **80**, 193-198.
- CHEEMA K.K., DENT M.R., SAINI H.K., AROUTIOUNOVA N. & TAPPIA P.S. (2005) Prenatal exposure to maternal undernutrition induces adult cardiac dysfunction. *Br J.Nutr.* **93**, 471-477.
- CICOGNA A.C., OKOSHI K., PADOVANI C.R., OKOSHI M.P., MATSUBARA L.S. & ARAGON F.F. (2001) The influence of temporal food restriction on the performance of isolated cardiac muscle. *Nutrition Research* **21**, 639-648.
- DE M.S., THOMAS J.D., GREENBERG N.L., VANDERVOORT P.M. & VERDONCK P.R. (2001) Assessment of the time constant of relaxation: insights from simulations and hemodynamic measurements. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **280**, H2936-H2943
- FERNANDEZ-REPOLLET E., TAPIA E. & MARTINEZ-MALDONADO M. (1987) Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on altered renal hemodynamics induced by low protein diet in the rat. *J.Clin.Invest* **80**, 1045-1049.
- FRANCO M.C., ARRUDA R.M., DANTAS A.P., KAWAMOTO E.M., FORTES Z.B., SCAVONE C., CARVALHO M.H., TOSTES R.C. & NIGRO D. (2002) Intrauterine undernutrition: expression and activity of the endothelial nitric oxide synthase in male and female adult offspring. *Cardiovasc.Res.* **56**, 145-153.

- GIACOMELLI F.R.B. & MARÇAL-NATALI M.R. (1999) A utilização de ratos em modelos em modelos experimentais de carências nutricionais. *Arq.Ciênc.Saúde Unipar* 239-249.
- GOMIDE J.M.C., SEIXAS C.M.R., SILVA F.C.S., SILVA M.E., PEDROSA M.L., MORAES M.F.D., FERNANDES L.G. & CHIANCA-JR D. (2007) Participação do Sistema Renina Angiotensina na gênese da elevação da pressão arterial de ratos submetidos a uma desnutrição proteica. *In: XXII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental* 23-24.
- GUT A.L., OKOSHI M.P., CICOGNA A.C., PADOVANI C.R. & ARAGON F.F. (2003) Myocardial dysfunction induced by food restriction is related to calcium cycling and beta-adrenergic system changes. *Nutrition Research* **23**, 911-919.
- GUT A.L., SUGIZAKI M.M., OKOSHI M.P., CARVALHO R.F., PAI-SILVA M.D., ARAGON F.F., PADOVANI C.R., OKOSHI K. & CICOGNA A.C. (2008) Food restriction impairs myocardial inotropic response to calcium and beta-adrenergic stimulation in spontaneously hypertensive rats. *Nutr.Res.* **28**, 722-727.
- HOY W.E., REES M., KILE E., MATHEWS J.D. & WANG Z. (1999) A new dimension to the Barker hypothesis: low birthweight and susceptibility to renal disease. *Kidney Int.* **56**, 1072-1077.
- ICHIKAWA I., PURKERSON M.L., KLAHR S., TROY J.L., MARTINEZ-MALDONADO M. & BRENNER B.M. (1980) Mechanism of reduced glomerular filtration rate in chronic malnutrition. *J.Clin.Invest* **65**, 982-988.
- JOHN BULLOCK, JOSEPH BOYLE & MICHAEL B.WANG (1995) *Fisiologia National Medical Series*. 3ª Ed. Guanabara Koogan. pp. 162-174.
- KAWAMURA M., ITOH H., YURA S., MOGAMI H., SUGA S., MAKINO H., MIYAMOTO Y., YOSHIMASA Y., SAGAWA N. & FUJII S. (2007) Undernutrition in utero augments systolic blood pressure and cardiac remodeling in adult mouse offspring: possible involvement of local cardiac angiotensin system in developmental origins of cardiovascular disease. *Endocrinology* **148**, 1218-1225.
- LANGLEY-EVANS S.C., WELHAM S.J. & JACKSON A.A. (1999) Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sci.* **64**, 965-974.
- LEITE-MOREIRA A.F. & GILLEBERT T.C. (1994) Nonuniform course of left ventricular pressure fall and its regulation by load and contractile state. *Circulation* **90**, 2481-2491.
- LORELL B.H. (1991) Significance of diastolic dysfunction of the heart. *Annu.Rev.Med.* **42**, 411-436.
- LOSS I.O., FERNANDES L.G., MARTINS C.D., CARDOSO L.M., SILVA M.E., AS-DA-SILVA V.J., MORAES M.F. & CHIANCA D.A., Jr. (2007) Baroreflex dysfunction in rats submitted to protein restriction. *Life Sci.* **81**, 944-950.

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

MAGNO T., SOUZA B., SILVA G., ALMEIDA F., CHIANCA D.A., Jr. & FERREIRA A. (2009) Morphological cardiac changes induced by a low protein diet. In: *XIII Simpósio brasileiro de fisiologia cardiovascular* 69

MARTINS C.D. (2007) Avaliação do balanço autonômico cardíaco de ratos submetidos a uma dieta hipoprotéica. *Dissertação de mestrado. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto*

MINISTÉRIO DA SAÚDE (2006) Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher - PNDS 2006 : dimensões do processo reprodutivo e da saúde da criança. In: *bvsms.saude.gov.br/bvs/pnds/*

MONDINI L. & MONTEIRO C.A. (1997) The stage of nutrition transition in different Brazilian regions. *Arch.Latinoam.Nutr.* **47**, 17-21.

OKOSHI K., FIORETTO J.R., OKOSHI M.P., CICOGNA A.C., ARAGON F.F., MATSUBARA L.S. & MATSUBARA B.B. (2004) Food restriction induces in vivo ventricular dysfunction in spontaneously hypertensive rats without impairment of in vitro myocardial contractility. *Braz.J.Med.Biol.Res.* **37**, 607-613.

OKOSHI K., MATSUBARA L.S., OKOSHI M.P., CICOGNA A.C., FIORETTO J.R., PADOVANI C.R., ARAGON F.F. & MATSUBARA B.B. (2002) Food restriction-induced myocardial dysfunction demonstrated by the combination of in vivo and in vitro studies. *Nutrition Research* **22**, 1353-1364.

OKOSHI M.P., OKOSHI K., MATSUBARA L.S., PAI-SILVA M.D., GUT A.L., PADOVANI C.R., PAI V.D. & CICOGNA A.C. (2006) Myocardial remodeling and dysfunction are induced by chronic food restriction in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition Research* **26**, 567-572.

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

PEDROSA M.L. & MORAES-SANTOS T. (1987) Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats. *Braz.J.Med.Biol.Res.* **20**, 331-338.

PELLETIER D.L. & FRONGILLO E.A. (2003) Changes in child survival are strongly associated with changes in malnutrition in developing countries. *J.Nutr.* **133**, 107-119.

PELLETIER D.L., FRONGILLO E.A., Jr. & HABICHT J.P. (1993) Epidemiologic evidence for a potentiating effect of malnutrition on child mortality. *Am.J.Public Health* **83**, 1130-1133.

PELLETIER D.L., FRONGILLO E.A., Jr., SCHROEDER D.G. & HABICHT J.P. (1995) The effects of malnutrition on child mortality in developing countries. *Bull.World Health Organ* **73**, 443-448.

PENITENTE A.R., FERNANDES L.G., CARDOSO L.M., SILVA M.E., PEDROSA M.L., SILVA A.L., HAIBARA A.S., MORAES M.F. & CHIANCA D.A. (2007) Malnutrition enhances cardiovascular responses to chemoreflex activation in awake rats. *Life Sci.* **81**, 609-614.

PHILLIPS D.I., BARKER D.J., HALES C.N., HIRST S. & OSMOND C. (1994) Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia* **37**, 150-154.

ROBERT BERNE, MATTEW N.LEVY, BRUCE M.KOEPPEN & BRUCE A.STANTON (2004) *Fisiologia*. 5ª Ed. Elsevier Editora Ltda. pp. 319-335.

RODRIGUES F.A. (2008) Reposta pressora à microinjeção de L-glutamato no bulbo rostroventrolateral de ratos submetidos à desnutrição protéica. *Dissertação de mestrado. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto*

SAWAYA A.L. (2006) Desnutrição: Consequências em longo prazo e efeitos da recuperação nutricional. *Estudos Avançados* **20**,

SAWAYA A.L., DALLAL G., SOLYMOS G., DE SOUSA M.H., VENTURA M.L., ROBERTS S.B. & SIGULEM D.M. (1995) Obesity and malnutrition in a Shantytown population in the city of Sao Paulo, Brazil. *Obes.Res.* **3 Suppl 2**, 107s-115s.

SAWAYA A.L., MARTINS P., HOFFMAN D. & ROBERTS S.B. (2003) The link between childhood undernutrition and risk of chronic diseases in adulthood: a case study of Brazil. *Nutr.Rev.* **61**, 168-175.

SAWAYA A.L. & ROBERTS S. (2003) Stunting and future risk of obesity: principal physiological mechanisms. *Cad.Saude Publica* **19 Suppl 1**, S21-S28

SAWAYA A.L., SESSO R., FLORENCIO T.M., FERNANDES M.T. & MARTINS P.A. (2005) Association between chronic undernutrition and hypertension. *Matern.Child Nutr.* **1**, 155-163.

SILVA F.C.S. (2011) Efeitos da injeção intracerebroventricular da tityustoxina escorpiônica (TsTX) sobre o sistema cardiovascular de ratos submetidos à desnutrição protéica. *Dissertação de mestrado. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto.*

SMITH S.M., MYERS J.H. & KAPLAN H.M. (1979) Catheterization of the left cardiac ventricle of the rat. *Lab Anim* **13**, 15-16.

TONKISS J., TRZCINSKA M., GALLER J.R., RUIZ-OPAZO N. & HERRERA V.L. (1998) Prenatal malnutrition-induced changes in blood pressure: dissociation of stress and nonstress responses using radiotelemetry. *Hypertension* **32**, 108-114.

TROPIA F.C., CARDOSO L.M., PEDROSA M.L., SILVA M.E., HAIBARA A.S., MORAES M.F. & CHIANCA D.A., Jr. (2001) Effects of low-protein diet on the baroreflex and Bezold-Jarisch reflex in conscious rats. *Nutr.Neurosci.* **4**, 99-107.

VERMA A. & SOLOMON S.D. (2009) Diastolic dysfunction as a link between hypertension and heart failure. *Med.Clin.North Am.* **93**, 647-664.

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2007) Annual Report. *Disponível em* <http://www.who.int/nutrition/en/>

8 – APÊNDICE

Tabela 3 - Efeito da desnutrição protéica sobre o peso corporal dos ratos (g).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	Peso (g)	Animal	Peso (g)
01	205	01	57
02	205	02	63
03	215	03	65
04	216	04	65
05	233	05	66
06	239	06	69
07	242	07	71
08	244	08	71
09	254	09	71
10	248	10	98
Média ± D.P.	229,2 ± 17	Média ± D.P.	69,7 ± 10*

*, Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$, Test t de *student*).

Tabela 4 - Efeito da desnutrição protéica sobre a FC basal (bpm).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	FC (bpm)	Animal	FC (bpm)
01	460,21	01	416
02	358,37	02	431,92
03	402,73	03	391,07
04	370,58	04	442,35
05	358,47	05	352,71
06	355,31	06	383,33
07	435,31	07	201,12
08	370,65	08	344,86
09	333,05	09	372,47
10	485,86	10	401,17
Média ± D.P.	393 ± 51	Média ± D.P.	373,7 ± 68

Tabela 5 - Efeito da desnutrição protéica sobre DS (s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	DS (s)	Animal	DS (s)
01	0,090	01	0,080
02	0,090	02	0,075
03	0,085	03	0,090
04	0,085	04	0,090
05	0,095	05	0,100
06	0,105	06	0,095
07	0,080	07	0,165
08	0,105	08	0,095
09	0,088	09	0,095
10	0,068	10	0,090
Média ± D.P.	0,0891 ± 0,011	Média ± D.P.	0,0975 ± 0,024

Tabela 6 - Efeito da desnutrição protéica sobre DD (s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	DD (s)	Animal	DD (s)
01	0,0404	01	0,0641
02	0,0774	02	0,0639
03	0,0639	03	0,0456
04	0,0769	04	0,0701
05	0,0723	05	0,0615
06	0,0638	06	0,0634
07	0,0578	07	0,1333
08	0,0568	08	0,0789
09	0,0921	09	0,0660
10	0,0555	10	0,0595
Média ± D.P.	0,0657 ± 0,014	Média ± D.P.	0,0706 ± 0,023

Tabela 7 - Efeito da desnutrição protéica sobre DC (s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	DC (s)	Animal	DC (s)
01	0,1303	01	0,1441
02	0,1674	02	0,1389
03	0,1489	03	0,1534
04	0,1619	04	0,1356
05	0,1673	05	0,1701
06	0,1688	06	0,1565
07	0,1378	07	0,2983
08	0,1618	08	0,1739
09	0,1801	09	0,1610
10	0,1235	10	0,1495
Média ± D.P.	0,1547 ± 0,018	Média ± D.P.	0,1681 ± 0,047

Tabela 8 - Efeito da desnutrição protéica na Δ PVE (mmHg).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	Δ PVE (mmHg)	Animal	Δ PVE (mmHg)
01	130,69	01	95,48
02	143,70	02	115,12
03	136,20	03	119,90
04	120,48	04	113,03
05	131,32	05	132,60
06	118,49	06	132,77
07	125,41	07	136,73
08	125,60	08	123,15
09	137,59	09	115,85
10	113,61	10	111,21
Média ± D.P.	128,31 ± 9,3	Média ± D.P.	119,58 ± 12,3

Tabela 9 - Efeito da desnutrição protéica no dP/dT máx (mmHg/s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	dP/dTmáx (mmHg/s)	Animal	dP/dTmáx (mmHg/s)
01	6463,35	01	3403,69
02	6899,85	02	4582,27
03	5320,32	03	3673,08
04	4369,75	04	4033,44
05	4858,16	05	3109,05
06	4203,74	06	3243,53
07	3982,31	07	3627,08
08	4866,30	08	6264,19
09	6869,12	09	4359,30
10	6667,55	10	5360,93
Média ± D.P.	5450 ± 1164	Média ± D.P.	4165,6 ± 1007*

*; Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$, Test t de *student*).

Tabela 10 - Efeito da desnutrição protéica no dP/dT mín (mmHg/s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	dP/dTmín (mmHg/s)	Animal	dP/dTmín (mmHg/s)
01	5641,58	01	2223,65
02	6198,83	02	2418,09
03	5544,06	03	3032,95
04	4273,86	04	2943,52
05	4434,64	05	3473,60
06	3686,26	06	3486,98
07	3693,43	07	2902,56
08	4221,12	08	5639,08
09	6031,36	09	4110,47
10	5297,07	10	4465,39
Média ± D.P.	4902,2 ± 947	Média ± D.P.	3469,6 ± 1030*

*; Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$, Test t de *student*).

Tabela 11 - Efeito da desnutrição protéica no índice de contratilidade (1/s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	IC (1/s)	Animal	IC (1/s)
01	131,34	01	78,05
02	133,00	02	68,70
03	80,97	03	81,26
04	86,90	04	84,06
05	83,51	05	67,49
06	72,52	06	69,41
07	71,12	07	79,95
08	68,14	08	104,98
09	108,50	09	112,00
10	125,80	10	77,84
Média ± D.P.	93,18 ± 23	Média ± D.P.	82,37 ± 14

Tabela 12 - Efeito da desnutrição protéica na pressão diastólica final do ventrículo esquerdo (mmHg).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	PDFVE (mmHg)	Animal	PDFVE (mmHg)
01	2,68	01	6,24
02	3,77	02	5,51
03	3,93	03	4,58
04	5,42	04	7,97
05	3,75	05	4,00
06	3,58	06	3,29
07	3,07	07	5,66
08	3,96	08	8,21
09	5,66	09	5,10
10	5,38	10	7,23
Média ± D.P.	4,12 ± 1,0	Média ± D.P.	5,78 ± 1,6*

*; Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$, Test t de *student*).

Tabela 13 - Influência da desnutrição protéica sobre a dP/dT no período de relaxamento isovolumétrico (mmHg/s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	IRP (mmHg/s)	Animal	IRP (mmHg/s)
01	3607,36	01	1593,17
02	3289,13	02	1965,47
03	3252,38	03	1743,90
04	2463,13	04	1889,83
05	2453,71	05	1802,03
06	2552,47	06	2072,43
07	3578,62	07	1959,91
08	1856,67	08	3731,92
09	2719,85	09	2792,13
10	3568,91	10	2502,08
Média ± D.P.	2934,22 ± 605	Média ± D.P.	2205,29 ± 645*

*; Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$, Test t de *student*).

Tabela 14 - Influência da desnutrição protéica sobre o tempo de relaxamento isovolumétrico (s).

Normonutridos		Desnutridos	
Animal	TAU (s)	Animal	TAU (s)
01	0,0122	01	0,0459
02	0,0110	02	0,0679
03	0,0121	03	0,0250
04	0,0158	04	0,0217
05	0,0141	05	0,0219
06	0,0176	06	0,0234
07	0,0176	07	0,0425
08	0,0215	08	0,0112
09	0,0133	09	0,0182
10	0,0123	10	0,0118
Média ± D.P.	0,0147 ± 0,003	Média ± D.P.	0,0289 ± 0,017*

*; Diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$, Test t de *student*).

Tabela 15 – Protocolo 1 (atenolol) - Δ PAM (mmHg)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ PAM (mmHg)	Animal	Δ PAM(mmHg)
01	-1	01	2
02	-1	02	2
03	-8	03	-5
04	-7		
05	-16		
06	-9		

Tabela 16 – Protocolo 1 (atenolol) – Δ HR (bpm)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ HR (bpm)	Animal	Δ HR (bpm)
01	-62	01	-94
02	-39	02	-63
03	-51	03	-68
04	-38		
05	-55		
06	-51		

Tabela 17 – Protocolo 1 (atenolol) – Δ Pico de LVP (mmHg)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ Pico de LVP (mmHg)	Animal	Δ Pico de LVP (mmHg)
01	1	01	-13
02	-6	02	-14
03	-13	03	-15
04	-15		
05	-17		
06	-13		

Tabela 18 – Protocolo 1 (atenolol) - Δ Pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ Pico de dP/dT (mmHg/s)	Animal	Δ Pico de dP/dT (mmHg/s)
01	-90	01	-2560
02	-695	02	-6800
03	-2275	03	-4889
04	-1862		
05	-2220		
06	-1515		

Tabela 19 – Protocolo 2 - (atropina) - Δ PAM (mmHg)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ PAM (mmHg)	Animal	ΔPAM(mmHg)
01	-1	01	-7
02	-3	02	0
03	-14	03	10
04	1	04	2
05	1	05	-7
06	-2	06	-10

Tabela 20– Protocolo 2 (atropina) – Δ HR (bpm)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ HR (bpm)	Animal	Δ HR (bpm)
01	46	01	5
02	36	02	35
03	71	03	13
04	75	04	17
05	70	05	-12
06	81	06	5

Tabela 21 – Protocolo 2 (atropina) – Δ Pico de LVP (mmHg)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ Pico de LVP (mmHg)	Animal	Δ Pico de LVP (mmHg)
01	0	01	-8
02	1	02	0
03	-7	03	5
04	1	04	2
05	4	05	1
06	-3	06	-3

Tabela 22 – Protocolo 2 (atropina) - Δ Pico de dP/dT ventricular esquerdo (mmHg/s)

Controle		Desnutridos	
Animal	Δ Pico de dP/dT (mmHg/s)	Animal	Δ Pico de dP/dT (mmHg/s)
01	-74	01	77
02	-14	02	756
03	373	03	170
04	-590	04	-44
05	255	05	442
06	-283	06	-414

9 – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

9.1 - Resumos publicados em congressos nacionais

ALVES, A. M., Chianca-Jr D.A., CARDOSO, L. M., MORAES, M. F. D., SILVA, M.E. Avaliação da função ventricular esquerda em ratos acordados e submetidos à desnutrição protéica In: XIV Simpósio brasileiro de fisiologia cardiovascular, 2010, Araraquara-SP.

ALVES, A. M., MORAES, M. F. D., CARDOSO, L. M., FERNANDES, L. G., Chianca-Jr D.A. Avaliação da dP/dT ventricular esquerda em ratos acordados e submetidos a uma desnutrição protéica In: XIII Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 2009, Ouro Preto – MG.

ALVES, A. M., CARDOSO, L. M., FERNANDES, L. G., Chianca-Jr D.A. Avaliação da atividade cardíaca em ratos acordados e submetidos a desnutrição protéica In: 2º Seminário Estadual de Iniciação Científica FAPEMIG, 2008, Belo Horizonte - MG.

ALVES, A. M., SILVA, M. E., MORAES, M. F. D., FERNANDES, L. G., Chianca-Jr D.A. Avaliação da atividade cardíaca em ratos acordados e submetidos a uma desnutrição protéica In: XVI Seminário de iniciação científica - SIC, 2008, Ouro Preto – MG.

ALVES, A. M., SILVA, M. E., MORAES, M. F. D., FERNANDES, L. G., Chianca-Jr D.A. Avaliação da dP/dT ventricular esquerda em ratos acordados submetidos à dieta hipoprotéica In: XII Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 2008, Vitória - ES.

ALVES, A. M., FERNANDES, L. G., SILVA, M. E., MORAES, M. F. D., Chianca-Jr D.A. Avaliação da atividade cardíaca em ratos submetidos à desnutrição protéica In: XV Seminário de iniciação científica - SIC, 2007, Ouro Preto – MG.

ALVES, A. M., SILVA, M. E., MORAES, M. F. D., FERNANDES, L. G., Chianca-Jr D.A. Avaliação da dP/dT ventricular esquerda em ratos anestesiados submetidos à dieta hipoprotéica In: XXII Reunião Anual da FESBE, 2007, Águas de Lindóia - SP.

ALVES, A. M., CARDOSO, L. M., FERNANDES, L. G., MORAES, M. F. D., Chianca-Jr D.A. Avaliação da dP/dT ventricular esquerda em ratos anestesiados submetidos à dieta hipoprotéica In: XI Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 2007, São Paulo – SP.

ALVES, A. M., CARDOSO, L. M., LOSS, I. O., MARTINS, C. D. D., MORAES, M. F. D., SILVA, M. E., Chianca-Jr D.A.

Avaliação da dP/dT intraventricular esquerda em ratos submetidos à suplementação parenteral com ferro In: XIV Seminário de iniciação científica - SIC, 2006, Ouro Preto – MG.

ALVES, A. M., MARTINS, C. D. D., LOSS, I. O., CARDOSO, L. M., SILVA, M. E., Chianca-Jr D.A. Função ventricular em ratos submetidos à suplementação parenteral de ferro In: X Simpósio Brasileiro de Fisiologia Cardiovascular, 2006, Ribeirão Preto – SP.

9.2 – Resumos publicados em congressos internacionais

ALVES, A. M., MARTINS, C. D. D., LOSS, I. O., MORAES, V. B., CARDOSO, L. M., SILVA, M. E., MORAES, M. F. D., Chianca-Jr D.A. Evaluation of the left ventricular dP/dT in anesthetized rats submitted to low protein diet In: 41st Congress of the Brazilian Physiological Society & Joint Meeting with The Physiological Society, 2006, Ribeirão Preto – SP.

9.3 – Artigos completos publicados em periódicos

CARDOSO, L. M., FERNANDES, L. G., ALVES, A. M., PEDROSA, M. L., SILVA, M. E., COLOMBARI, E., MORAES, M. F. D., Chianca-Jr D.A. Reflexo cardiopulmonar é atenuado em ratos acordados submetidos a sobrecarga de ferro. *Nutritional Neuroscience*, v.10, p.121 - 128, 2007.