

SANDRA LÚCIA SCHULER

**DESNUTRIÇÃO INTRA-UTERINA EM RATOS WISTAR E SUAS
ALTERAÇÕES NO FÍGADO DE FILHOTES RECÉM-NASCIDOS
AO NASCIMENTO E NO DESMAME**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau acadêmico de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lúcia de Noronha

**Coordenador: Prof. Dr. Waldemiro
Gremski**

CURITIBA

2006

Ao João Ricardo, com muito amor.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. LÚCIA DE NORONHA, orientadora desta tese, pelo apoio, tolerância e incansável espírito científico.

Ao Dr. SÉRGIO OSSAMU IOSHI, pelo incentivo a este projeto.

À bióloga e técnica responsável pela patologia do Laboratório de Patologia Experimental do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, ANA PAULA CAMARGO MARTINS, pelo processamento do material coletado e pelo carinho dedicado.

À bióloga FABIANE BONAFINI ZANATTA FLIZIKOWSKI, por ter me ensinado e me ajudado com o programa de computador na leitura das lâminas.

À acadêmica de Biologia MARINA LUISA VIOLA DE AZEVEDO, pelo valioso apoio na leitura de alguns parâmetros histológicos.

À Dr^a. IZABEL CRISTINA LEMOS e DR^a. JOCEMARA GURMINI, colaboradoras deste trabalho.

Aos colegas CLAUDIO SCHULZ e LUIZ ROBERTO FARION, pela verdadeira amizade.

“A adversidade é o microscópio que nos ensina a olhar a vida com mais profundidade”.

(Dinamor)

SUMÁRIO

	LISTA DE QUADROS, FIGURAS E GRÁFICOS	vii
	LISTA DE TABELAS	viii
	LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS	ix
	LISTA DE SIGLAS	x
	RESUMO	xi
	ABSTRACT	xiii
1	INTRODUÇÃO	2
2	OBJETIVOS	5
3	REVISÃO DE LITERATURA	7
3.1	A CRIANÇA NO CONTEXTO GERAL.....	7
3.2	A IMPORTÂNCIA DA DESNUTRIÇÃO.....	9
3.2.1	Aspectos Gerais.....	9
3.2.2	Mortalidade e Morbidade.....	12
3.3	O PERÍODO DE GESTAÇÃO.....	15
3.4	RETARDO DO CRESCIMENTO INTRA-UTERINO.....	16
3.5	O PAPEL DO LEITE MATERNO.....	18
3.6	MODELOS EXPERIMENTAIS DE DESNUTRIÇÃO.....	21
3.6.1	Indução da Desnutrição Intra-uterina em laboratório.....	22
3.7	ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA DESNUTRIÇÃO EM HUMANOS.....	24
3.8	O FÍGADO DOS ROEDORES.....	26
3.8.1	Aspectos Morfofisiológicos do Fígado dos Roedores.....	27
3.8.2	Aspectos Morfofisiológicos de Alguns Órgãos e Sistemas dos Roedores Submetidos à Desnutrição	26
3.8.3	Aspectos Histológicos do Fígado.....	31
3.8.4	O Emprego da Morfometria Computadorizada.....	32
4	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1	A AMOSTRA.....	36
4.2	MÉTODO UTILIZADO.....	37
4.2.1	Fertilização.....	37
4.2.2	Período de Gestação.....	38
4.2.3	Nascimento dos Filhotes e Mensuração da Albumina Sérica.....	39
4.2.4	Período de Lactação e Desmame.....	40
4.2.5	Sacrifício dos Animais.....	40
4.3	RETIRADA DOS ÓRGÃOS TÓRACO-ABDOMINAIS.....	41
4.4	ESTUDO HISTO-MORFOMÉTRICO DO FÍGADO.....	41
4.4.1	Coleta e Preparo das Amostras.....	41
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	47
4.6	FLUXOGRAMA DO EXPERIMENTO.....	48
5	RESULTADOS	50
5.1	ANÁLISE DAS MATRIZES.....	50
5.1.1	Controle do peso.....	50
5.1.2	Número de Filhotes por Ninhada.....	53
5.1.3	Mensuração da Albumina Sérica.....	54
5.2	ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS FILHOTES.....	55
5.2.1	Ao Nascimento (d0).....	55
5.2.2	No Desmame (d21).....	56
5.3	ANÁLISE HISTO-MORFOMETRICA DO FIGADO.....	58

5.3.1	Ao Nascimento.....	58
5.3.2	No Desmame.....	63
6	DISCUSSÃO	67
6.1	O MODELO DE DESNUTRIÇÃO EMPREGADO.....	67
6.3	ANÁLISE DAS MATRIZES.....	68
6.3.1	Controle de Peso.....	68
6.3.2	Dosagem da Albumina Sérica.....	69
6.4	ANÁLISE DOS FILHOTES.....	69
6.4.1	Variáveis Macroscópicas.....	69
6.4.2	Análise Histo-Morfométrica do Fígado.....	73
6.5	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	75
7	CONCLUSÃO	78
8	REFERÊNCIAS	80
	APÊNDICES	90
	ANEXOS	103

LISTA DE QUADROS, FIGURAS E GRÁFICOS

QUADRO 1	COEFICIENTE DE MORTALIDADE INFANTIL DO ESTADO DO PARANÁ.....	14
QUADRO 2	ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA DESNUTRIÇÃO.....	25
QUADRO 3	COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO PARA RATOS.....	37
QUADRO 4	SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS, AO NASCIMENTO (d0) E NO DESMAME (d21).....	41
FIGURA 1	BALANÇA ELETRÔNICA E RÉGUA UTILIZADA.....	39
FIGURA 2	MICROSCÓPIO ACOPLADO AO COMPUTADOR.....	42
FIGURA 3	MÉTODO DE ANÁLISE DA HEMATOPOIESE E ÍNDICE MITÓTICO.....	43
FIGURA 4	MÉTODO DE ANÁLISE DO TAMANHO NUCLEAR DOS HEPATÓCITOS.....	44
FIGURA 5	MÉTODO DE ANÁLISE DA ESTEATOSE HEPÁTICA.....	46
FIGURA 6	O EMPREGO DA MORFOMETRIA DE CORES PARA ANÁLISE DA ESTEATOSE HEPÁTICA.....	46
FIGURA 7	FLUXOGRAMA DO EXPERIMENTO.....	48
FIGURA 8	FOTOMICROGRAFIA DE UM NINHO HEMATOPOIÉTICO E UMA CÉLULA EM MITOSE.....	60
FIGURA 9	FOTOMICROGRAFIA MOSTRANDO OTAMANHO NUCLEAR DO HEPATÓCITO.....	61
GRÁFICO 1	CRESCIMENTO FETAL.....	17
GRÁFICO 2	ACOMPANHAMENTO DO PESO DAS MATRIZES DURANTE A PREENHEZ.....	52

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	PESO DAS MATRIZES NO INÍCIO DA PRENHEZ.....	50
TABELA 2	GANHO DE PESO DAS MATRIZES DURANTE A PRENHEZ.....	51
TABELA 3	PESO DAS MATRIZES NO FINAL DA PRENHEZ.....	52
TABELA 4	PESO DAS MATRIZES NO PERÍODO DO DESMAME (d21).....	53
TABELA 5	NUMERO DE FILHOTES POR NINHADA.....	54
TABELA 6	VALORES DA ALBUMINA SÉRICA.....	54
TABELA 7	PESO CORPORAL E PESO DAS VÍSCERAS TORACO-ABDOMINAIS DOS FILHOTES.....	55
TABELA 8	COMPRIMENTO DO CORPO E CAUDA E COMPRIMENTO DO INTESTINO DOS FILHOTES.....	56
TABELA 9	PESO CORPORAL E PESO DAS VÍSCERAS TORACO-ABDOMINAIS DOS FILHOTES.....	57
TABELA 10	COMPRIMENTO DO CORPO E CAUDA E COMPRIMENTO DO INTESTINO DOS FILHOTES.....	58
TABELA 11	NÚMERO DE NINHOS HEMATOPOIÉTICOS E ÍNDICE MITÓTICO DOS FILHOTES.....	59
TABELA 12	MEDIDA DO VOLUME NUCLEAR DOS HEPATÓCITOS DOS FILHOTES.....	61
TABELA 13	MEDIDA DA ÁREA E DENSIDADE DA ESTEATOSE HEPÁTICA DOS FILHOTES.....	62
TABELA 14	TAMANHO NUCLEAR DOS HEPATÓCITOS DOS FILHOTES.....	64
TABELA 15	MEDIDA DA ESTEATOSE HEPÁTICA DOS FILHOTES.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

cm :	Centímetro
m ² :	Metro quadrado
ml :	Mililitro
g :	Gramma
kg:	Quilograma
Kcal:	Quilocaloria
n :	Tamanho da amostra
x :	Veze (aumentu no microscópio)
g/dl:	Gramas por decilitro
N :	Nutrido
D :	Desnutrido
GN:	Grupo nutrido
GD:	Grupo desnutrido
HE :	Hematoxilina-eosina
dp :	Desvio padrão
AIG :	Adequado para a idade gestacional
PIG :	Pequeno para a idade gestacional
GIG :	Grande para a idade gestacional
IG:	Idade gestacional
RN:	Recém-nato
RNBP:	Recém-nato de baixo peso
RNMBP:	Recém-nato de muito baixo peso
RNMMBP:	Recém-nato de muitíssimo baixo peso
11βHSD:	11-β-Hidroxi-esteróide desidrogenase

LISTA DE SIGLAS

WHO:	World Health Organization
OMS:	Organização Mundial da Saúde
LPE:	Laboratório de Patologia Experimental
CCBS:	Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
PUCPR:	Pontifícia Universidade Católica do Paraná
UFPR:	Universidade Federal do Paraná
TECPAR:	Instituto de Tecnologia do Paraná
SESA:	Secretaria de Saúde
CDC:	Center for Disease Control and Prevention
ONG:	Organização não governamental
UNICEF:	Fundo das Nações Unidas para a Infância
TMI:	Taxa de Mortalidade Infantil

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os efeitos da desnutrição intra-uterina dependem da fase de desenvolvimento em que o feto ou órgão está, serão mais intensos e permanentes quanto mais precocemente ocorrer, e se prolongará ao longo da vida quanto mais tarde se iniciar a recuperação nutricional. **OBJETIVOS:** Avaliar comparativamente parâmetros antropométricos de filhotes de ratos Wistar de matrizes que foram desnutridas durante a prenhez, bem como as alterações morfológicas sofridas pelo fígado, quando do nascimento. Foi usado como grupo controle matrizes adequadamente nutridas. Durante a lactação as ratas foram alimentadas com dieta padrão para a espécie. Após o desmame, dados antropométricos e morfológicos foram novamente coletados e analisados para verificar se haverá recuperação nutricional com a lactação. **MATERIAL E MÉTODOS:** As ratas prenhes foram divididas em: grupo controle, chamado de grupo nutrido que recebeu dieta *ad libitum* normocalórica; e o grupo com restrição alimentar, grupo desnutrido, que recebeu somente 50% da dieta ofertada ao grupo controle. Após o parto os grupos foram avaliados quanto ao número e peso de filhotes, comprimento corporal e da cauda, comprimento do intestino, peso das vísceras toraco-abdominais e parâmetros histo-morfométricos do fígado, como, ninhos hematopoiéticos, contagem de mitose, quantidade de esteatose e tamanho nuclear dos hepatócitos. Após o parto, as matrizes receberam dieta sem restrição. Após o desmame, foram analisados os mesmos parâmetros anteriormente citados para comparação entre os grupos (nutrido e desnutrido) e nos dois períodos (ao nascimento e no desmame) verificando se houve recuperação nutricional. **CONCLUSÕES:** A restrição quantitativa da dieta imposta às ratas durante a prenhez, leva a baixo ganho de peso das mesmas durante toda gestação, não altera o número de filhotes, produz conceptos menores, induz ao nascimento de filhotes com peso dos órgãos e comprimento do intestino menor em relação ao grupo controle. Quando do nascimento, altera parâmetros histo-morfométricos hepáticos, como a hematopoiese, número de mitoses e tamanho nuclear. A esteatose hepática se manteve constante nos dois grupos ao nascimento e no desmame.

O peso do fígado, dos rins e alguns dados histo-morfométricos do fígado não se recuperam, mesmo com a lactação.

Unitermos: desnutrição, ratos, fígado.

ABSTRACT

BACKGROUND: The effects of the intrauterine malnutrition depend on the development phase where the embryo or organ is. They will be more intensive and permanent the more precociously to occur, will be drawn out to the long of life the more late to initial the nutritional recovery. **OBJECTIVES:** Comparatively to evaluate antropométricos parameters of Wistar rats' pups of matrices that had been unfed during the pregnancy as well as the morphology alterations suffered by the liver, when of the bird. It was used a control group has adequately nourished. During the lactation the matrices had been fed with diet standard for the species and their pups with mothers' feeding. After discontinuous mothers' feeding, anthropometrics and morphologics data again had been collected and analyzed to verify nutritional recovery with the lactation. **MATERIAL AND METROD:** The pregnant rats had been divided in: group has controlled, call of nourished group that received diet *ad libitum*; and the group with alimentary restriction, unfed group, that it only received 50% from the diet offered to the group has controlled. After the childbirth the groups had been evaluated how much to the number and weight of younglings, corporal length and of the tail, length of the intestine, weight of same organs of thorax and abdominal and histology and morfometrics parameters of the liver, as, hematopoesis, counting of mitosis, amount of steatosis and nuclear size of the hepatocyte. After the childbirth, the matrices had received diet without restriction. After it weans it, the same parameters previously cited for comparison between the groups (nourished and unfed) and in the two periods had been analyzed (to the birth and in it weans it) verifying if had nutritional recovery. **CONCLUSION:** The restriction quantitatively of the diet imposed to the rats during the pregnancy, it takes the low profit of weight of the same ones during all gestation, it does not modify the number of younglings, it produces conceptos lesser, it induces to the birth of younglings with weight of the agencies and length of the lesser intestine in relation to the group has controlled. The weight of the liver, of the kidneys and some histology and morphometrics parameters of the liver do not recover besides adequately nutrition.

Unitermos: malnutrition, rats, liver.

APÊNDICES

APÊNDICES 1- DADOS COLETADOS DURANTE O EXPERIMENTO.....	91
APÊNDICES 2- RESULTADOS ESTATÍSTICOS.....	97

TABELA 3 –DADOS OBTIDOS DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN),
AO NASCIMENTO (d0)

GRUPO NUTRIDO (GN) / NASCIMENTO (d0)										
Filhotes	peso	corpo	cauda	intestino	fígado	rins	pâncreas	pulmões	coração	timo
1	6,6	5,6	1,5	23	0,29	0,07	0,03	0,15	0,04	0,01
2	5,59	5,2	1,2	22,5	0,28	0,05	0,02	0,12	0,04	0,02
3	5,82	5,2	1,3	23,5	0,03	0,05	0,02	0,09	0,05	0,01
4	6,03	5,5	1,6	22	0,31	0,06	0,02	0,1	0,05	0,01
5	6,45	5,4	1,3	21	0,33	0,07	0,02	0,12	0,05	0,01
6	6,24	5,3	1,2	23	0,36	0,07	0,03	0,14	0,05	0,02
7	5,9	4,9	1,4	20	0,3	0,08	0,02	0,15	0,04	0,01
8	6,79	5,5	1,5	23	0,42	0,06	0,05	0,15	0,05	0,01
9	5,59	5,2	1,2	22,5	0,28	0,05	0,06	0,12	0,07	0,01
10	7,11	5,7	1,6	23	0,31	0,07	0,06	0,12	0,05	0,01
11	7,14	5,3	1,8	24	0,34	0,09	0,04	0,12	0,05	0,02
12	7,52	5,4	1,8	23	0,38	0,07	0,02	0,14	0,05	0,02
13	6,55	5,5	1,6	24	0,31	0,07	0,02	0,13	0,04	0,02
14	6,91	5,4	1,5	27	0,35	0,09	0,01	0,13	0,04	0,01
15	7,24	5,6	1,7	30	0,39	0,09	0,03	0,11	0,06	0,03
Média	6,498	5,38	1,48	23,433	0,312	0,069	0,03	0,126	0,048	0,0146
Dp±	0,62	0,2	0,2	2,37	0,08	0,01	0,01	0,01	0,008	0,006

TABELA 4 – DADOS OBTIDOS DOS FILHOTES DO GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Grupo Desnutrido (GD) / NASCIMENTO (d0)										
Filhotes	peso	corpo	cauda	intestino	figado	rins	pâncreas	pulmões	coração	timo
1	3,36	4,3	1,3	13	0,19	0,04	0,02	0,08	0,02	0,01
2	3,42	4,3	1,3	16	0,14	0,02	0,01	0,06	0,03	0,01
3	4,81	5	1,3	21,5	0,21	0,03	0,02	0,1	0,03	0,01
4	4,7	5	1,3	21	0,24	0,04	0,04	0,09	0,02	0,01
5	4,94	4,8	1,4	19	0,2	0,04	0,02	0,1	0,04	0,01
6	4,34	4,7	1,3	19	0,2	0,04	0,01	0,1	0,03	0,01
7	4,96	5	1,5	17	0,21	0,07	0,02	0,08	0,04	0,02
8	5,23	4,5	1,5	18	0,25	0,06	0,02	0,07	0,04	0,02
9	5,01	4,7	1,5	19	0,22	0,04	0,03	0,07	0,03	0,02
10	5,17	5,1	1,6	18	0,28	0,04	0,02	0,1	0,03	0,01
11	4,82	4,8	1,2	18,5	0,21	0,04	0,02	0,08	0,02	0,01
12	5,12	5	1,2	18	0,18	0,04	0,01	0,08	0,03	0,01
13	5,78	5,3	1,5	18	0,28	0,07	0,05	0,14	0,02	0,01
14	5,6	5,2	1,5	23	0,24	0,05	0,02	0,1	0,04	0,02
15	3,85	4,5	1,2	14	0,17	0,02	0,01	0,07	0,02	0,01
16	3,78	4,5	1,2	15,5	0,19	0,03	0,01	0,07	0,04	0,02
17	3,79	4,3	1,1	15,5	0,21	0,03	0,02	0,09	0,02	0,01
18	3,65	4,2	1,2	17,5	0,23	0,03	0,02	0,07	0,02	0,01
Média	4,573	4,733	1,338	17,861	0,213	0,040	0,020	0,086	0,028	0,012
Dp±	0,75	0,34	0,14	2,51	0,03	0,01	0,01	0,01	0,008	0,004

TABELA 5- DADOS HISTO-MORFOMETRICO DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN), AO NASCIMENTO (d0)

Filhotes Nutridos (d0)	Esteatose (A)	Esteatose (D)	Cel.hematop	Cont. mitose	Área (N)	Perímetro(N)	Raio (N)
1	50,83	0,16	2,8	1,6	35,077	23,186	3,336
2	37,77	0,12	3,5	4,4	33,314	20,413	3,248
3	62,01	0,14	3,1	5	37,897	21,788	3,467
4	37,03	0,14	2,8	4,2	36,981	21,529	3,426
5	31,74	0,13	3	3,8	34,661	20,838	3,319
6	44,5	0,15	3,5	3	33,689	20,55	3,27
7	31,29	0,1	4	2,4	34,235	20,719	3,297
8	40,07	0,12	4,2	2	34,505	20,798	3,31
9	40,8	0,1	3,2	1,6	34,727	20,868	3,321
10	38,45	0,11	3,2	2,2	41,646	22,847	3,636
11	36,86	0,1	3	2,6	40,26	22,471	3,576
12	42,77	0,09	2,1	1,8	40,218	22,451	3,573
13	40,16	0,11	2,8	2	35,545	21,105	3,359
14	37,82	0,09	2,9	1,8	33,27	20,432	3,251
15	45,64	0,08	2,5	2	34,72	20,868	3,321
Média	41,182	0,116	3,106	2,693	36,049	21,390	3,380
Dp	± 7,63	± 0,23	± 0,66	± 1,17	± 2,72	± 0,93	± 0,12

TABELA 6- DADOS HISTO-MORFOMETRICO DOS FILHOTES DO GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Filhotes Desnut. (d0)	Esteatose (A)	Esteatose (D)	Cel. Hemat	Cont. mitose	Área (N)	Perímetro(N)	Raio (N)
1	31,53	0,12	6,9	0,8	30,954	19,69	3,133
2	37,21	0,19	5,5	0,8	33,431	20,482	3,259
3	61,34	0,11	6,7	1,2	29,481	19,195	3,055
4	50,64	0,12	7,1	1	29,388	19,195	3,055
5	54,96	0,16	6,6	0,6	34,818	20,877	3,322
6	41,15	0,14	5,9	0,6	32,808	20,284	3,228
7	53,17	0,15	6,7	0,4	32,122	20,086	3,196
8	46,46	0,14	6,4	0,4	31,865	19,987	3,181
9	51,19	0,15	4,4	0,6	31,834	19,987	3,181
10	37,69	0,14	3	0,4	26,988	18,404	2,929
11	25,9	0,11	3,4	0,6	30,65	19,591	3,11
12	49,55	0,1	2,5	0,4	28,507	18,899	3,007
13	64,68	0,07	3,1	0,6	25,274	17,81	2,834
14	43,26	0,09	2,8	0,4	25,578	17,909	2,85
15	89,63	0,5	3,3	0,4	27,004	18,404	2,292
16	66,25	0,02	3,1	0,4	30,666	19,591	3,118
17	39,86	0,12	5,5	0,6	27,611	18,602	2,96
18	25,9	0,06	6,7	0,8	29,949	19,393	3,086
Média	48,353	0,138	4,977	0,611	29,940	19,354	3,044
Dp	15,76	0,09	0,66	1,17	2,7	0,87	0,23

TABELA 7- DADOS OBTIDOS DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN),
NO DESMAME (D21)

Filhotes Nutridos (d21)	peso	corpo	rabo	intestino	fígado	rins	pâncreas	pulmões	coração	timo
1	52,57	12,5	6	92	2,87	0,83	0,24	0,51	0,3	0,19
2	52,61	12,5	6,5	89	2,63	0,71	0,19	0,49	0,29	0,24
3	49,98	11,3	6,5	17,8	2,66	0,73	0,19	0,46	0,3	0,17
4	52,51	12,5	6,6	93,5	2,78	0,7	0,19	0,57	0,28	0,18
5	55,6	12,5	6,5	87	2,84	0,76	0,2	0,52	0,3	0,25
6	56,7	13,5	6,7	77	2,67	0,64	0,23	0,56	0,34	0,26
7	57,3	13	6	84	2,3	0,64	0,25	0,62	0,4	0,19
8	43,96	11,5	6,5	91	2,61	0,55	0,14	0,34	0,22	0,13
9	41,14	11	6,2	84	2,38	0,55	0,11	0,39	0,26	0,11
Média	51,374	12,255	6,388	79,477	2,637	0,678	0,193	0,495	0,298	0,191
Dp ±	5,55	0,82	0,25	23,67	0,19	0,09	0,04	0,08	0,05	0,05

TABELA 8- DADOS OBTIDOS DOS FILHOTES NO GRUPO DESNUTRIDO (GD),
NO DESMAME (D21)

Filhotes Desnutr. (d21)	peso	corpo	rabo	intestino	fígado	rins	pâncreas	pulmões	coração	timo
1	57,15	13	6	81	2,44	0,72	0,28	0,6	0,47	0,1
2	57,81	13	6,5	78	2,5	0,77	0,25	0,66	0,36	0,16
3	63,86	12,8	7,5	82	3,24	0,81	0,36	0,82	0,39	0,32
4	37,39	10,9	5	68	1,85	0,44	0,18	0,4	0,22	0,22
5	32,4	10	5	58	1,67	0,36	0,1	0,37	0,2	0,1
6	43,8	11,4	5,6	77	2,05	0,54	0,14	0,39	0,25	0,14
7	33,82	11	3	79	1,63	0,4	0,17	0,37	0,18	0,18
8	34,4	11	6,5	76,5	1,75	0,3	0,11	0,4	0,25	0,08
9	31,32	10	6	74	1,9	0,44	0,13	0,4	0,2	0,07
10	34,72	10,4	6	76	1,95	0,44	0,18	0,39	0,19	0,2
11	35,11	11	6	78,5	2	0,54	0,11	0,37	0,14	0,14
12	36,44	11	6	75	1,9	0,49	0,12	0,3	0,15	0,12
13	36,3	10,3	6	72	1,78	0,45	0,12	0,37	0,22	0,15
14	43,5	11,5	6	73	2,05	0,57	0,18	0,41	0,25	0,13
Média	41,287	11,235	5,792	74,857	2,050	0,519	0,173	0,446	0,247	0,150
Dp ±	10,64	1,02	1,01	6,08	0,42	0,15	0,07	0,14	0,09	0,06

TABELA 9- DADOS HISTO-MORFOMÉTRICO DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN), NO DESMAME (d21)

GRUPO NUTRIDO (GN) / DESMAME (d21)							
Filhotes	Esteatose (A)	Esteatose (D)	Cel.hematop	Cont. mitose	Área (N)	Perímetro(N)	Raio (N)
1	52,78	0,16	0	0	35,249	20,997	3,341
2	49,94	0,14	0	0	36,478	21,372	3,401
3	43,26	0,15	0	0,2	29,844	19,293	3,07
4	45,83	0,11	0	0	39,493	22,263	3,543
5	28,53	0,13	0	0,2	34,07	21	3,291
6	43,29	0,13	0	0	38,122	21,867	3,48
7	34,55	0,14	0	0	38,488	21,966	3,496
8	27,02	0,12	0	0	35,839	21,174	3,37
9	62,9	0,16	0	0	39,773	22,263	3,543
Média	43,122	0,137	-	0,04	36,372	21,319	3,392
Dp±	11,64	0,01	-	0,08	3,12	0,94	0,15

TABELA 10- DADOS HISTO-MORFOMÉTRICO DOS FILHOTES DO GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

GRUPO DESNUTRIDO (GD) / DESMAME (d21)							
Filhotes	Esteatose (A)	Esteatose (D)	Cel. hemat	Cont. mitose	Área (N)	Perímetro(N)	Raio (N)
1	46,95	0,11	0	0	29,155	19,157	3,043
2	65,54	0,13	0	0	31,164	19,789	3,149
3	50,04	0,12	0	0,1	34,07	20,68	3,291
4	22,82	0,16	0	0	34,359	20,779	3,307
5	40,36	0,08	0	0,2	31,164	19,789	3,149
6	29,23	0,12	0	0	28,126	18,8	2,992
7	20,53	0,13	0	0,1	35,839	21,174	3,37
8	29,92	0,08	0	0	31,164	19,789	3,149
9	30,29	0,09	0	0	28,126	18,8	2,992
10	53,2	0,12	0	0	25,243	17,81	2,834
11	63,32	0,21	0	0	31,164	19,789	3,149
12	39,66	0,16	0	0,2	28,126	18,8	2,992
13	53,19	0,16	0	0	29,155	19,157	3,043
14	66,77	0,17	0	0	28,126	18,8	2,834
Média	43,70143	0,13143	-	0,0428571	30,355786	19,50807	3,092429
Dp ±	15,7	0,03	-	0,07	2,92	0,92	0,16

APÊNDICE 2- RESULTADOS ESTATÍSTICOS

TABELA 1 - AVALIAÇÃO DAS MARIZES, VARIAÇÃO DO PESO E NÚMERO DE FILHOTES POR NINHADA

Variável (g)	GN Média ± dp	GD Média ± dp	Valor de p
Peso inicial	224,7 ± 15,24	225,89 ± 16,07	0,648
Ganho de peso / durante prenhez	58,55 ± 11,97	10,27 ± 8,59	0,001
Peso final (g)	283,25 ± 15,86	236,17 ± 12,55	0,001
Peso lactação (g)	259,42 ± 7,88	246,28 ± 25,04	0,297
Nº. filhotes	7,66 ± 1,5	9,14 ± 3,44	0,289

TABELA 2 - VALORES MÉDIOS DA ALBUMINA SÉRICA DAS MATRIZES DE AMBOS OS GRUPOS (GN E GD)

Variável	GN Média ± dp	GD Média ± dp	Valor de p
Albumina (g/dl)	2,38 ± 0,05	1,96 ± 0,04	0,003

TABELA 3 – MÉDIA DO PESO CORPORAL E DAS VÍSCERAS TORACO-ABDOMINAIS DOS FILHOTES GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Peso (g)	GN (d0) Média±dp	GD (d0) Média±dp	Valor de p
Corporal	6,498 ± 0,62	4,573 ± 0,75	0,0001
Fígado	0,312 ± 0,08	0,213 ± 0,03	0,001
Rins	0,069 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,001
Pâncreas	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,103
Pulmões	0,126 ± 0,01	0,086 ± 0,01	0,001
Coração	0,048 ± 0,008	0,028 ± 0,008	0,001
Timo	0,014 ± 0,006	0,012 ± 0,004	0,424

TABELA 4 – MÉDIA DO COMPRIMENTO DO CORPO E CAUDA, DO COMPRIMENTO DO INTESTINO DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Comprimento (cm)	GN (d0) Média±dp	GD (d0) Média±dp	Valor de p
Corpo	5,38 ± 0,2	4,733 ± 0,34	0,0001
Cauda	1,48 ± 0,2	1,338 ± 0,14	0,157
Intestino	23,43 ± 2,37	17,861 ± 2,51	0,0001

TABELA 5 – MÉDIA DO PESO CORPORAL E DAS VÍSCERAS TORACO-ABDOMINAIS DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

Peso (g)	GN (d21) Média±dp	GD (d21) Média±dp	Valor de p
Corporal	51,374 ± 5,55	41,287 ± 10,64	0,110
Fígado	2,637 ± 0,19	2,050 ± 0,42	0,016
Rins	0,678 ± 0,09	0,519 ± 0,15	0,022
Pâncreas	0,193 ± 0,04	0,173 ± 0,07	0,941
Pulmões	0,495 ± 0,08	0,446 ± 0,14	0,935
Coração	0,298 ± 0,05	0,247 ± 0,09	0,647
Timo	0,191± 0,05	0,150 ± 0,06	0,235

TABELA 6 – MÉDIA DO COMPRIMENTO DO CORPO E CAUDA E COMPRIMENTO DO INTESTINO DOS FILHOTES DOS GRUPOS NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (D21)

Comprimento (cm)	GN (d21) Média±dp	GD (d21) Média±dp	Valor de p
Corpo	12,255 ± 0,82	11,235 ± 1,02	0,123
Cauda	6,388 ± 0,25	5,792 ± 1,01	0,113
Intestino	79,477 ± 23,67	74,857± 6,08	0,625

TABELA 7 – MÉDIA DOS NINHOS HEMATOPOIÉTICOS E ÍNDICE MITÓTICO DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Número	GN (d0) Média±dp	GD (d0) Média±dp	Valor de p
Ninhos Hematopoiéticos	2,994 ± 0,66	4,953 ± 1,76	0,001
Índice mitótico	0,613 ± 0,24	2,888 ± 1,17	0,0001

TABELA 8 – MÉDIA DAS MEDIDAS DO VOLUME NUCLEAR DOS HEPATÓCITOS DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Núcleo (µm)	GN (d0) Média±dp	GD (d0) Média±dp	Valor de p
Área	36,049 ± 2,72	29,940 ± 2,7	0,0001
Perímetro	21,39 ± 0,93	19,354 ± 0,87	0,001
Raio	3,38 ± 0,12	3,044 ± 0,23	0,01

TABELA 9 – MÉDIA DA MEDIDA DA ÁREA E DENSIDADE DA ESTEATOSE HEPÁTICA DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Esteatose (μm)	GN (d0) Média \pm dp	GD (d0) Média \pm dp	Valor de p
Área	41,182 \pm 7,63	48,353 \pm 15,76	0,069
Densidade	0,116 \pm 0,23	0,138 \pm 0,09	0,222

TABELA 10 – MÉDIA DO VOLUME NUCLEAR DOS HEPATÓCITOS DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

Núcleo (μm)	GN (d21) Média \pm dp	GD (d21) Média \pm dp	Valor de p
Área	36,372 \pm 3,12	30,355 \pm 2,92	0,012
Perímetro	21,319 \pm 0,94	19,5 \pm 0,92	0,012
Raio	3,392 \pm 0,15	3,092 \pm 0,16	0,014

TABELA 11 – AVALIAÇÃO DA ÁREA E DENSIDADE DA ESTEATOSE HEPÁTICA (MÉDIA) DOS FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

Esteatose (μ)	GN (d21) Média \pm dp	GD (d21) Média \pm dp	Valor de p
Área	43,122 \pm 11,64	43,701 \pm 15,7	0,318
Densidade	0,137 \pm 0,01	0,131 \pm 0,03	0,222

ANEXOS

ANEXO 1- ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS E GRÁFICOS.....	104
ANEXO 2- APROVAÇÃO DE PROJETO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO.....	111

ANEXO 1

FIGURA 1- GRÁFICO DE DESENVOLVIMENTO PÔNDERO-ESTATURAL DO NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTIC (NCHS) DE MENINAS, 0-36 MESES

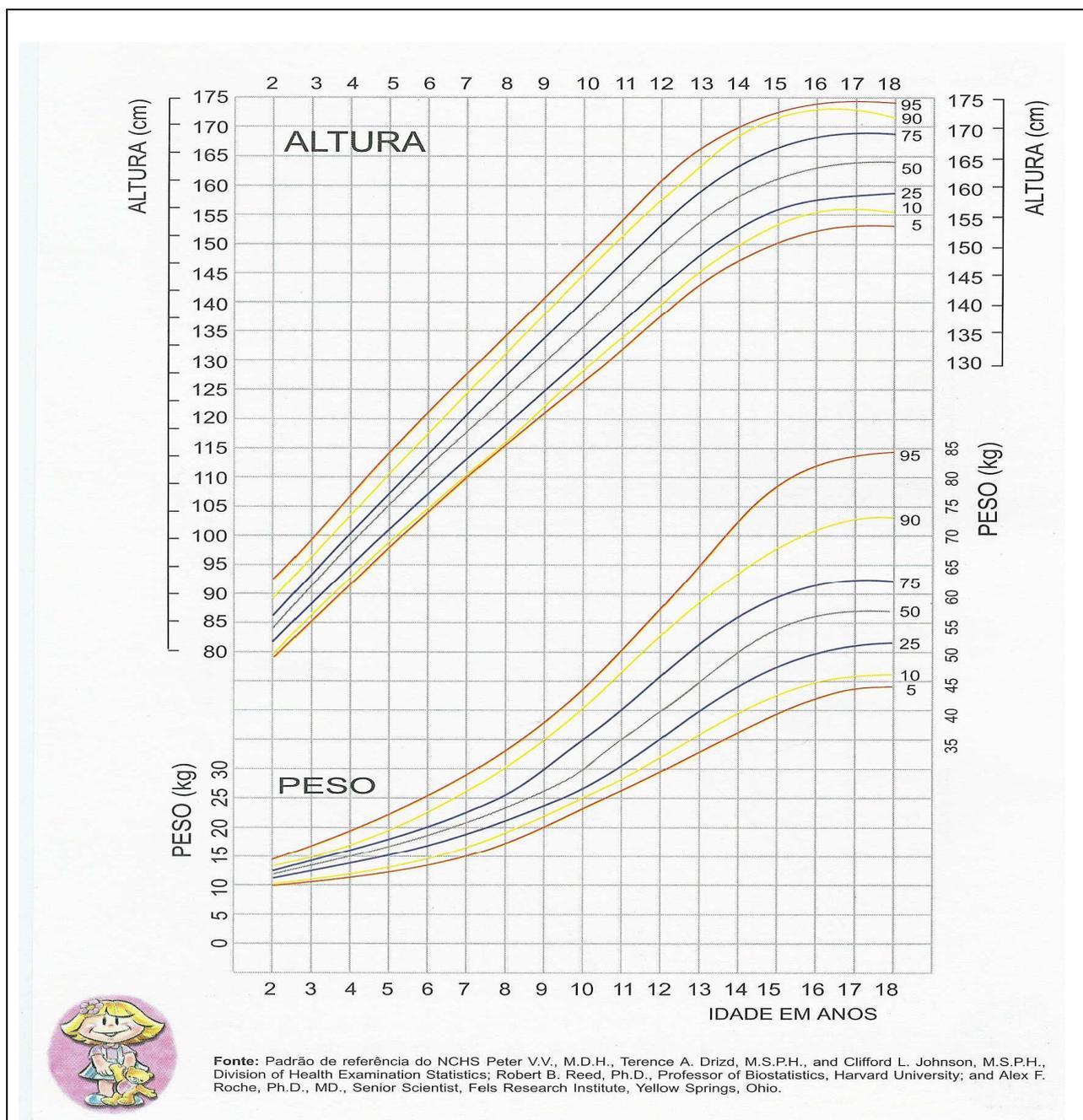


FIGURA 2- GRÁFICO DE DESENVOLVIMENTO PÔNDERO-ESTATURAL DO NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTIC (NCHS) DE MENINAS, 2-18 ANOS

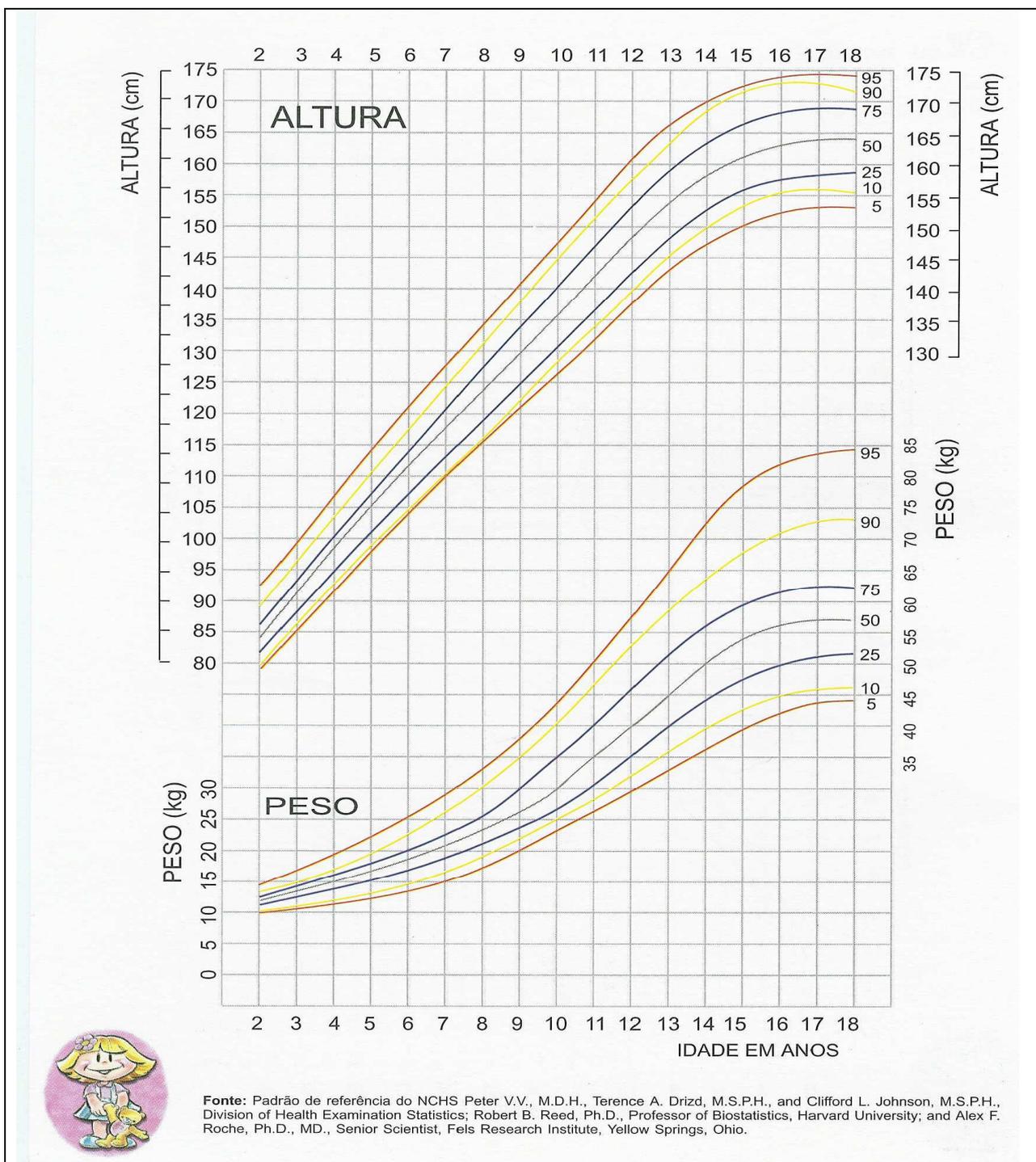


FIGURA 3 - GRÁFICO DE DESENVOLVIMENTO PÔNDERO-ESTATURAL DO NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTIC (NCHS) DE MENINOS, 0-36 MESES

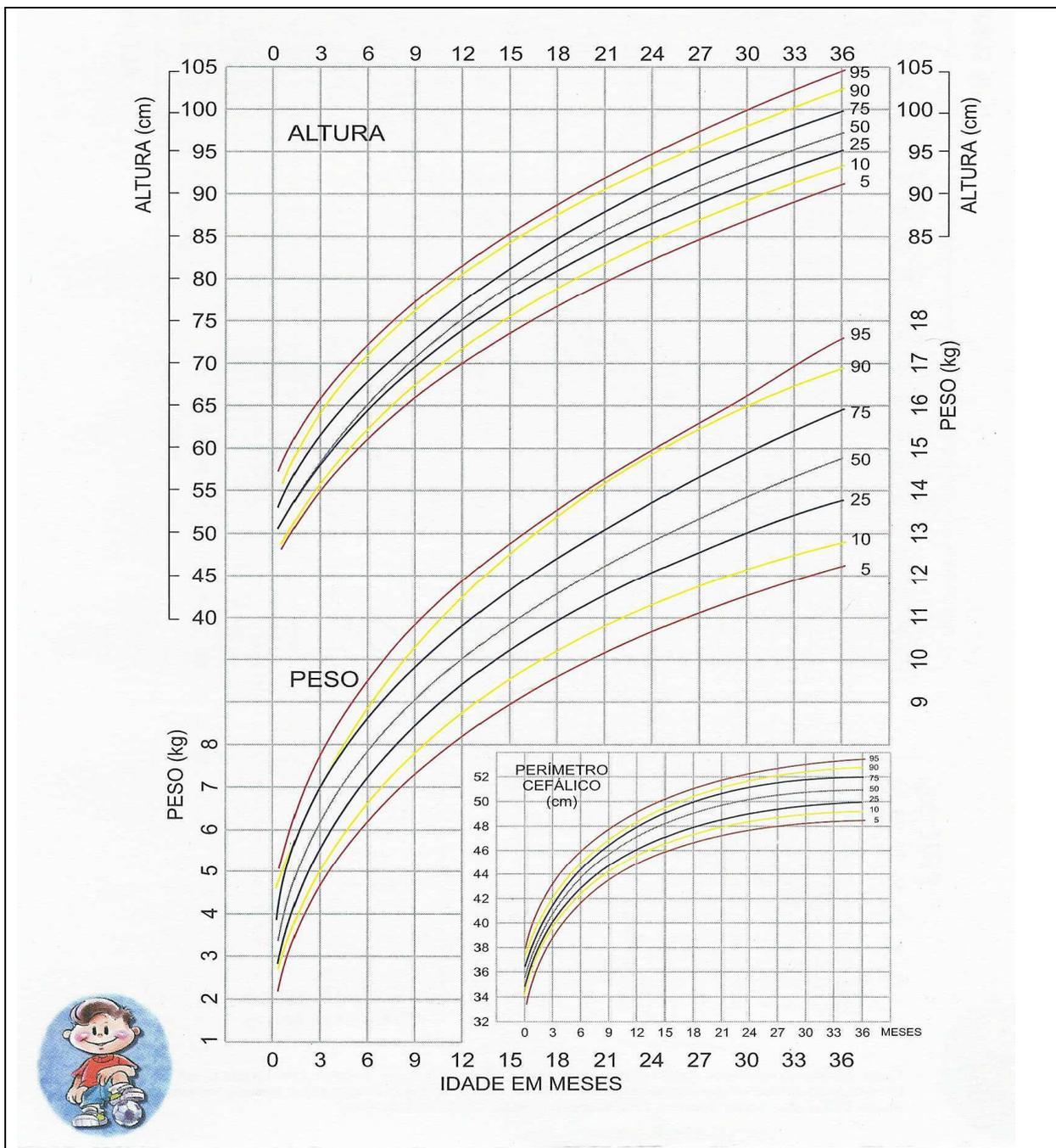


FIGURA 4 - GRÁFICO DE DESENVOLVIMENTO PÔNDERO-ESTATURAL DO NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTIC (NCHS) DE MENINOS, 2-18 ANOS

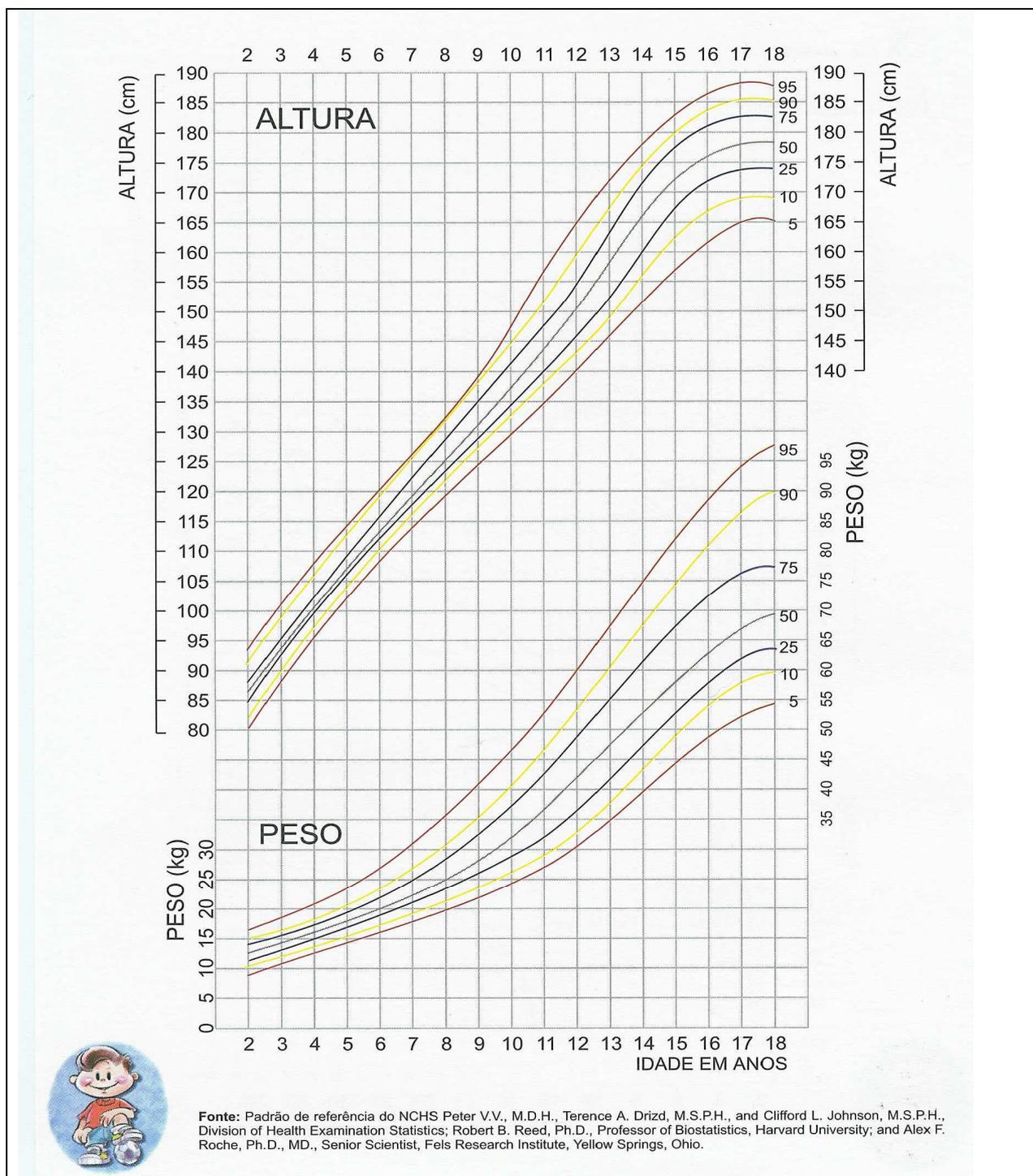
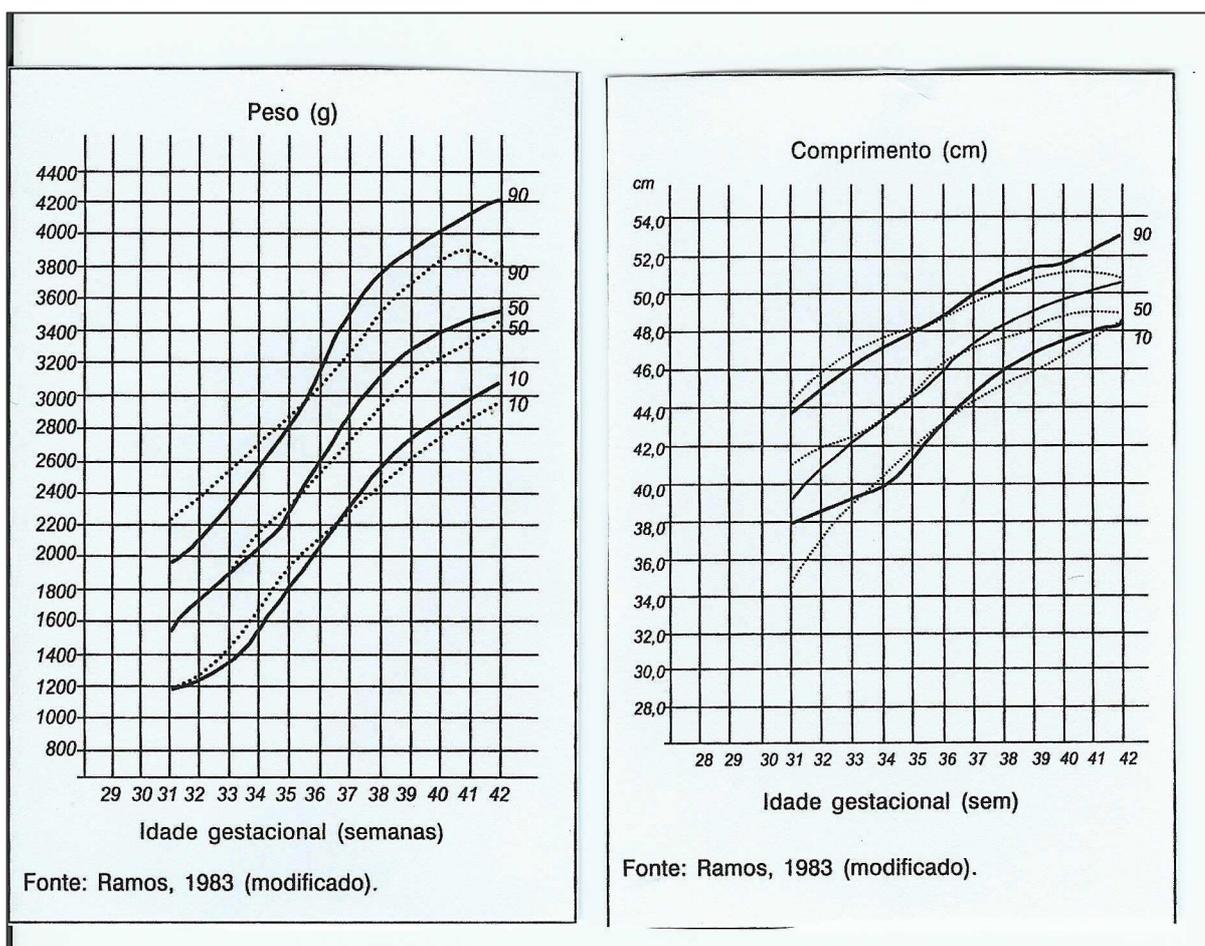


FIGURA 5 - GRÁFICO DE CRESCIMENTO INTRA-UTERINO
(PESO E COMPRIMENTO X IDADE GESTACIONAL)



Fonte : RAMOS, 1983

QUADRO 1- CLASSIFICAÇÃO DE GOMEZ

<p>Eutrofia- P/I >90% do p50</p> <p>Desnutrido 1º grau- P/I entre 76-90% do p50</p> <p>Desnutrido 2º grau- P/I entre 60-75% do p 50</p> <p>Desnutrido 3º grau-P/I inferior a 60% do p 50</p> <p>p50=percentil 50 do padrão de referência</p> <p>Edema nutricional – desnutrido 3º grau (Bengoa)</p>
--

FONTE: SARNI, 2001

QUADRO 2- CLASSIFICAÇÃO DE WATERLOW MODIFICADA POR BATISTA

Estatura / Idade	Peso / Estatura	
	>90%	≤90%
>95%	Eutrofia	Desnutrição atual
≤95%	Desnutrição pregressa	Desnutrição crônica

FONTE: FISBERG, 1988

QUADRO 3 - CLASSIFICAÇÃO DA OMS PARA PESO / ESTURA E
ESTATURA / IDADE

	Desnutrição moderada	Desnutrição grave
Edema Simétrico	Não	Sim
Peso para Altura	$-3 \leq z \text{ escore} < -2$ (70-79%)	$z \text{ escore} < -3$ (<70%) (Déficit ponderoestatural grave)
Altura para Idade	$-3 \leq z \text{ escore} > -2$	$z \text{ escore} < -3$ (<85%) (nanismo grave)

FONTE: SARNI, 2001.

QUADRO 4 - ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS

$P/I = \frac{\text{peso encontrado} \times 100}{\text{peso ideal p50}}$
$E/I = \frac{\text{estatura encontrada} \times 100}{\text{estatura ideal p50}}$
$P/E = \frac{\text{peso encontrado} \times 100}{\text{peso ideal p50 para estatura observada}}$

FONTE: SARNI, 2001

ANEXO 2**ANEXO 2 - APROVAÇÃO DO PROJETO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTO ANIMAL E PELO COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE DA PUCPR**DR^a SANDRA SCHULERPontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Curitiba, 05 de outubro de 2003.

Ilmo Sr.
Prof. Dr. Paulo Slud Brofman
Diretor Adjunto em Pós-Graduação em Medicina

Prezado Professor:

- Comunicamos que os Projetos de pesquisa intitulados:
- “Avaliação da capivara (*Hydrochaerus hydrochaeris*) como potencial fonte de ilhotas pancreáticas para transplante celular”
 - Desnutrição Intrauterina e seus aspectos morfológicos em ratos.
 - Efeitos da Hiperglicemia sobre a angiogênese e a repitelização de anastomoses colônicas em ratos.

Foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em animais, em reunião realizada no dia 31 de outubro de 2003, os referidos projetos atendem aos Aspectos das Resoluções em vigor, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo animais.

Protocolos: 002;004;007/03

Sem mais para o momento, subscrevo-me.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Zacarias Alves de Souza Filho
Presidente do Comitê de Ética de Pesquisa com Animais
do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da
Pontifícia Universidade Católica do Paraná – CEPA-CCBS-PUC-PR



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Of.05-03 L.P.E

Curitiba, 05 de agosto de 2003.

Prezado professor,

Venho por meio deste comunicar-lhe que na última reunião do Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, a qual realizou-se no dia primeiro de agosto do ano corrente, foi nomeada uma Comissão de Aprovação de Projeto de Dissertação de Mestrado formada pelos Professores Doutores Lúcia de Noronha e Sérgio Ossamu Ioshii. Esta Comissão avaliou e aprovou, em nome do Colegiado de Curso da Pós-Graduação em Ciências da Saúde, o Projeto de Mestrado intitulado "DESNUTRIÇÃO INTRA-UTERINA E SEUS ASPECTOS MORFOLÓGICOS EM RATOS" de autoria das mestrandas Jocemara Gurmini e Sandra Lucia Schuler. Gostaríamos de solicitar ainda, que o projeto acima aprovado fosse encaminhado ao Comitê de Ética para avaliação e eventual aprovação pelo mesmo.

Atenciosamente,

Lúcia de Noronha
Profª. Drª Lúcia de Noronha

Ilmo. Sr.
Prof. Waldemiro Gremski
Coordenador do Mestrado em Ciências da Saúde

Vista
Encaminhado ao
Comitê de Ética
em 11/8/03
J.P.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A desnutrição materna é, sabidamente, a responsável por recém-natos com baixo peso ao nascer. Quanto maior o tempo de desnutrição, mais lento é o crescimento fetal. A desnutrição na fase inicial da gestação leva a recém-nascido pequeno para a idade gestacional (PIG), porém, proporcional, enquanto que, na fase final da gestação, ocorre desproporção do tamanho e alteração funcional dos órgãos que estão se desenvolvendo naquele momento (WIDDOWSON, 1970).

A desnutrição fetal é um problema mundial e pode ser encontrada em todas as classes sociais e em qualquer nível socioeconômico. A carência nutricional durante o desenvolvimento cerebral pode levar a alterações da arborização dendrítica ou do crescimento de células gliais, com redução do número total de neurônios e lesões da mielina. Dificuldades neurológicas e déficit de aprendizagem são algumas das conseqüências (LUCAS, 1994 / JARVIS, 2005).

Nos Estados Unidos da América, 2% a 3% dos recém nascidos apresentam desnutrição ao nascimento. Estima-se que esta freqüência nos países em desenvolvimento seja de 8% a 10% (CROSBY, 1991).

Entretanto, outras doenças maternas durante a gravidez, como a hipertensão materna, a pré-eclampsia e o diabetes gestacional, podem estar associadas com desnutrição intra-uterina. Isto porque as alterações vasculares decorrentes destas doenças podem alterar o fluxo útero-placentário restringindo a nutrição fetal. Porém, estas doenças associadas, somente em 25% a 30% das vezes são responsáveis por estas crianças com baixo peso ao nascer (ALTSHULER; RUSSEL; ERMOCILLA, 1975).

A gestação é um período de grandes transformações metabólicas e a desnutrição interfere sob vários aspectos, com maior ou menor intensidade, com prejuízos importantes, tanto para o organismo materno como para o produto da concepção. Um aporte calórico adequado durante a gestação diminui o risco de baixo peso ao nascimento e, conseqüentemente, a morbidade e mortalidade associada a esta doença (QUEIROZ; NÓBREGA, 1998).

Os efeitos da desnutrição intra-uterina dependem da fase da gestação em que ela é acometida. Durante o desenvolvimento fetal existem os chamados “períodos críticos” que geralmente coincidem com fases de rápida divisão celular. Estes períodos, quando agredidos, podem levar a alterações permanentes, gerando doenças que serão sentidas após o nascimento ou na vida adulta. Coronariopatias, diabetes e hipertensão já são bem conhecidas como doenças intra-uterinas “programadas” (BARKER, 1998).

Podemos considerar a possibilidade de que a qualidade e a quantidade de nutrientes recebidos intra-útero podem deixar cicatrizes que serão sentidas a longo prazo. É muito importante que se tragam mais informações para que possamos esclarecer as relações entre a saúde do adulto e a nutrição fetal e neonatal (CAMELO; MARTINEZ, 2005).

Os escassos achados de literatura sobre a influência da desnutrição intra-uterina sobre o fígado de filhotes recém-nascidos, entre outros órgãos, e a possibilidade de reprodução de um modelo experimental de desnutrição materna e acompanhamento durante a lactação, somado ao incentivo e facilidade na análise histológica de estruturas celulares e subcelulares de tecido hepático, incentivaram a realização do presente estudo.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo estudar as alterações hepáticas da desnutrição intra-uterina em filhotes de ratos Wistar, ao nascimento e após o desmame, cujas mães sofreram restrição dietética durante todo o período de gestação, tendo como controle filhotes de ratas adequadamente nutridas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Análise comparativa das ratas-mães nutridas e desnutridas e de suas ninhadas quanto ao peso, no início e final da gestação; número de filhotes por ninhada e peso dos filhotes ao nascimento;

2. Avaliação comparativa do peso e comprimento corporal; comprimento do intestino e peso das vísceras em filhotes nutridos e desnutridos, sacrificados ao nascimento e após o desmame.

3. Análise comparativa histo-morfométrica do fígado de filhotes nutridos e desnutridos, sacrificados ao nascimento e após o desmame, considerando as seguintes variáveis:

- A) Intensidade da hematopoiese hepática;
- B) Índice mitótico no tecido hepático;
- C) Tamanho nuclear dos hepatócitos;
- D) Intensidade da esteatose hepática.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A CRIANÇA NO CONTEXTO GERAL

Milhões de lactentes e crianças em todo o mundo sofrem e morrem a cada ano por falta de nutrição adequada. A maior incidência e a grande mortalidade dessa condição encontram-se em países onde os fatores sociais, econômicos, sanitários e educacionais são contribuintes importantes. A diminuição do aleitamento materno, na ausência de um substituto barato, adequado e higiênico, talvez seja o fator isolado mais importante na desnutrição infantil. Infecções intercorrentes, particularmente as do aparelho gastrointestinal, têm uma importante contribuição para a morbidade e a mortalidade (BARNESS; 1992).

A pediatria é uma especialidade que envolve a criança, seus familiares e a comunidade onde ela reside. Cabe ao pediatra a prevenção, durante a infância, das doenças que poderão ocorrer na fase adulta, como doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes, osteoporose, obesidade e neoplasias. Desta forma, além da monitorização do crescimento e desenvolvimento das crianças, deverá também, orientar os pais quanto à necessidade de adoção de hábitos alimentares adequados e estilo de vida saudável para os filhos. Os fatores genéticos parecem fundamentais na determinação destas doenças, mas sofrem influências do meio ambiente, o qual, interferindo, estabeleceria as variações fenotípicas. A alimentação seria um dos diversos fatores do meio ambiente que alteraria a expressividade de genes numa herança poligênica (OLIVEIRA; ESCRIVÃO, 2001).

HOLMAN e col. (1958) questionaram a relação da aterosclerose como sendo um problema já na fase pediátrica, apresentado durante o 9º Congresso Internacional de Pediatria e posteriormente publicado em 1961.

Estudos foram realizados tentando documentar o início e a característica da lesão da artéria na infância, correlacionando com o aparecimento das doenças cardiocoronarianas nos adultos. Em necropsias de indivíduos cuja faixa etária variava entre 1 a 40 anos, Observaram que todos os pacientes acima de 3 anos

possuíam algum grau de depósito lipídico na camada íntima desta artéria. Notaram que a superfície afetada da parede da aorta, até o décimo ano de vida, aumentava lentamente, havendo incremento da extensão da lesão após essa idade, principalmente nos negros. Nos indivíduos da raça branca, os depósitos de gorduras apareciam mais tardiamente e com menor intensidade. Constataram a presença de placas fibrosas macroscópicas a partir da segunda década de vida, sendo que estas apresentavam espessamento considerável após a quarta década de vida (HOLMAN et al, 1958 / HOLMAN, 1961).

Têm sido abordadas as interações entre nutrientes e hormônios como, por exemplo, a restrição protéica e a redução na expressão gênica do IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1). Outra possibilidade seria a passagem excessiva de glicocorticóides da circulação materna para a fetal. A placenta seria incapaz de metabolizar adequadamente esses corticóides, por ação insuficiente de sua 11- β -hidroxi-esteróide desidrogenase (11 β HSD). Assim, pacientes com restrição nutricional na vida fetal seriam mais propensos à hipertensão arterial (LANGLEY - EVANS; JACKSON, 1996).

Esses conceitos foram reforçados por estudos que indicam que a dieta materna durante a gestação bem como a nutrição perinatal inadequada podem afetar a organogênese e, conseqüentemente, a função orgânica na maturidade. Essas alterações levariam o adulto a apresentar problemas, como hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e problemas renais (INGELFINGER; WOODS, 2002).

Modelos de desnutrição materna em ratos têm sido empregado, como a desnutrição instituída durante todo o período gestacional ou só na segunda metade da gestação, podem provocar os maiores efeitos sobre os filhotes recém-nascidos quando comparados à desnutrição apenas na primeira metade (TONETE et al., 1983a / TONETE et al., 1983b / PATRÍCIO; NÓBREGA; TONETE, 1984).

Estudos em laboratório mostram que a desnutrição em períodos diferentes da vida intra-uterina pode resultar em filhotes recém-nascidos com tamanhos semelhantes, porém com alterações específicas sobre os órgãos. Mecanismos metabólicos compensatórios para proteção de tecidos nobres, especialmente o cérebro, podem ocorrer, como a redistribuição do fluxo sanguíneo intra-uterino. Este

mecanismo protetor pode levar a prejuízos de alguns órgãos como o fígado e outras vísceras abdominais (BARKER, 1998).

O estado nutricional de uma criança ao nascer depende das condições de vida intra-uterina às quais esteve submetida. A adequação nutricional do feto pode influenciar de forma significativa à morbidade e a mortalidade do concepto (FALCÃO, 2003).

O significativo aumento da longevidade que vem ocorrendo ao longo dos últimos anos, especialmente nos países desenvolvidos, é acompanhado da necessidade de se preservar a qualidade de vida, permitindo que haja condições dignas para o processo biológico do envelhecimento. Dessa forma, a prevenção de doenças, principalmente as crônico-degenerativas, deve ser iniciada na infância. Caberá ao pediatra o papel de começar esta prevenção, orientando seus pacientes para a aquisição de hábitos alimentares e de vida mais saudáveis. Entre estas doenças estão a osteoporose e alguns tipos de câncer. A educação dessas crianças no intuito de orientar e modificar seus hábitos e estilo de vida, a detecção precoce de agravos nutricionais ocorridos durante a gestação e a possibilidade de intervenção, são fundamentais na prevenção das doenças do adulto (OLIVEIRA; ESCRIVÃO, 2001).

3.2 A IMPORTÂNCIA DA DESNUTRIÇÃO

3.2.1 Aspectos Gerais

A desnutrição pode ser definida como um estado mórbido secundário a uma deficiência ou excesso, relativo ou absoluto, de um ou mais nutrientes essenciais, que se manifesta clinicamente ou é detectado por meio de testes bioquímicos, antropométricos, topográficos ou fisiológicos (CALDWEL, 1981 / WAITZBERG, 1981).

O termo “desnutrição energético-protéico” engloba um grupo de condições patológicas resultante da falta concomitante de calorias e proteínas, em proporções variáveis, que acometem com maior frequência os lactentes e pré-escolares. É uma síndrome que resulta da interação entre as dietas carentes e a doença, e leva a

maioria dos déficits antropométricos, observados entre as crianças dos países menos desenvolvidos do mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

A desnutrição pode ser considerada específica ou global. Será específica quando houver a falta de um nutriente bem determinado, por exemplo, carência de ferro determinando anemia; de vitamina D, determinando raquitismo; de vitamina C, determinando escorbuto e de iodo, determinando cretinismo. Será considerada global quando houver uma carência generalizada de nutrientes no organismo do indivíduo, designada como desnutrição energético-protéica (MURAHOVSKI, 1995). Didaticamente, pode ser classificada em dois grandes grupos: primária, em que a causa da desnutrição seria uma deficiente ingestão alimentar, quantitativa ou qualitativa, e secundária, onde ocorre o aproveitamento dos alimentos de forma incorreta, como, por exemplo, quando associada a vômitos, síndromes de má absorção intestinal e infecções (MURAHOVSKI, 1995; FISBERG, 1998).

A desnutrição grave ou de 3º grau pode ser dividida em marasmo, Kwashiorkor e há uma variada gama de formas intermediárias, definidas como Kwashiorkor marasmático ou marasmático-Kwashiorkor, em que os sinais clínicos predominam ora de uma forma, ora de outra.

O marasmo tem seu quadro clínico típico em lactentes devido ao déficit calórico, pela ingestão alimentar inadequada. O aspecto físico da criança marasmática é daquela criança que consumiu todas ou quase todas as suas reservas de gordura e muscular com proteínas séricas normais ou levemente diminuídas (CARRAZA, 1999).

O aspecto clínico do kwashiorkor caracteriza-se pela presença de lesões pelagróides em membros inferiores, alterações textuais dos cabelos, hepatomegalia, edema generalizado, baixas concentrações séricas de proteína e albumina, déficit importante de estatura e massa muscular seriamente consumida (MANARY; HART; WHYTE, 1998 / FISBERG, 1998 / CARRAZA, 1999).

Em 1933, Cicely Willians foi a primeira médica a descrever o quadro clínico de Kwashiorkor. Este termo era usado na Costa do Ouro (hoje, Gana) para designar “doença do primeiro filho, quando nasce o segundo”, sugerindo que a doença poderia estar associada à ingestão alimentar inadequada durante o período de amamentação (MOREIRA Jr; WAITZBERG, 2004).

OLUSI (1976) avaliou as conseqüências sofridas pela desnutrição intra-uterina em filhotes de ratas que foram submetidas à restrição alimentar e concluiu que as manifestações da desnutrição em crianças como lesões de pele, mucosa oral e trato respiratório, poderiam ser decorrentes da diminuição do peso dos órgãos e, principalmente, pelas alterações histológicas que acontecem no timo.

Avaliar a condição nutricional de um indivíduo ou de uma comunidade é essencial para o estabelecimento de atitudes de intervenção. Desta forma é de fundamental importância a padronização da avaliação a ser utilizada para cada faixa etária, uniformizando, assim, os critérios empregados pela equipe de saúde.

A antropometria, pela facilidade de execução e baixo custo, tem se revelado como o método isolado mais utilizado para o diagnóstico nutricional populacional, sobretudo na infância. Pela aferição do peso e altura, podem ser calculados os três índices antropométricos mais freqüentemente empregados e preconizados pela Organização Mundial da Saúde: peso/idade, altura/idade e peso/altura (Anexo 1). Alteração no índice altura/idade indica que a criança tem o crescimento comprometido em processo de longa duração, chamado de nanismo ou *stunting*. O déficit no índice peso/altura reflete um comprometimento mais recente do crescimento, com reflexo mais pronunciado no peso, conhecido por emaciamento ou *wasting*. (SOCIEDADE PAULISTA DE PEDIATRIA - COMITÊ DE NUTRIÇÃO, 1992 / GOULART, 1997 / SARNI, 2002).

O padrão de referência de medidas antropométricas recomendado pela Organização Mundial de Saúde é o “National Center for Health Statistics (NCHS)”. O Ministério da Saúde recomenda sua utilização com a distribuição de percentis (Anexo 1). Abaixo do percentil 3, as crianças são consideradas como peso muito baixo, entre o percentil 3 e 10, como peso baixo e quando há emagrecimento acentuado e/ou edema de mãos e pés, são considerados com desnutrição grave independente do percentil alcançado (SARNI, 2002).

Mais recentemente, os gráficos desenvolvidos pelo NCHS em 1977 foram revisados, dando origem aos gráficos do CDC (Center for Disease Control and Prevention) 2000. Foram criados dezesseis gráficos, separados segundo sexo e idade, com as curvas referentes aos percentis (SOCIEDADE PAULISTA DE PEDIATRIA - COMITÊ DE NUTRIÇÃO, 1992; SARNI, 2002).

O Departamento de Nutrição da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) recomenda o acompanhamento do crescimento com a utilização da curva em pelo menos três mensurações sucessivas de peso e estatura, com intervalos compatíveis com sua velocidade de crescimento em função da idade. Isto nos permite aferir se a criança está em processo de desnutrição com tendência de afastamento de seu canal de crescimento, migrando para percentis inferiores (SIGULEM; DEVINCENZI; LESSA, 2000).

3.2.2 Mortalidade e Morbidade

A desnutrição é uma das causas de morbidades e mortalidades mais comuns entre crianças de todo o mundo. No Brasil, apesar dos esforços para melhoria da saúde e nutrição das crianças, ela continua sendo um problema de saúde pública (SARNI, 2002).

A prevalência da desnutrição infantil e/ou do déficit ponderoestatural é reflexo do “status socioeconômico” em que o país se encontra (STANDING COMMITTEE ON NUTRITION UNITED NATIONS SYSTEM, 2004).

Nos países desenvolvidos no início do século XX, as tentativas de controlar as doenças infecciosas começaram a ter resultados após o melhor entendimento da fisiologia da nutrição e sua inter-relação com a desnutrição e carências vitamínicas. Novas e contínuas descobertas nestas áreas levaram ao estabelecimento de programas de saúde, como a puericultura, médico de família e outras ações para famílias de baixa renda.

Em meados do século XX, uma grande revolução na saúde infantil foi à introdução de substâncias químicas antibacterianas e agentes antibióticos. Com possibilidade de prevenção e tratamento das doenças infecciosas, a medicina pediátrica voltou sua atenção cada vez mais para condições que afetam números relativamente pequenos de crianças. Estas incluíam doenças potencialmente letais e afecções que causavam incapacidade temporária ou permanente. Entre estes distúrbios estavam a leucemia, fibrose cística, doenças do recém-nascido, cardiopatia congênita, retardo mental, defeitos genéticos, doenças reumatológicas, doenças renais e distúrbios metabólicos e endócrinos.

As duas últimas décadas deste século foram marcadas por conhecimento acelerado e novas condutas para o tratamento de muitos distúrbios em consequência de avanços na biologia molecular, na genética e na imunologia. Também foi dada maior atenção aos aspectos comportamentais e sociais da saúde infantil, investindo em grandes programas para a prevenção e tratamento de maus-tratos e negligência para com lactentes e crianças.

Entretanto, durante estes últimos anos do século XX, também houve um ressurgimento de algumas doenças infecciosas previamente controladas em países desenvolvidos, como a tuberculose e a sífilis, e o aparecimento de novas doenças como a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA ou HIV) (BEHRMAN, 2002 / SATCHER; KACZOROWSKI, 2005).

Mais de 90% das crianças do mundo nascem nos países em desenvolvimento, a cada ano. Trinta e cinco mil delas morrem diariamente; a maioria por problemas comuns e passíveis de prevenção. A saúde e a doença para essas crianças são o resultado de uma dinâmica complexa de fatores ambientais, sociais, políticos e econômicos. Nenhuma intervenção isolada interromperá com sucesso os ciclos de morbidade e mortalidade que as afligem (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999e / ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2000 / IYENGAR; PADMANABHAN, 2000).

As condutas em torno da saúde infantil evoluíram rapidamente após a II Guerra Mundial. Isto ocorreu graças aos esforços da UNICEF e da OMS, ao surgimento de organizações não-governamentais (ONG) de apoio e desenvolvimento e à mudança das estratégias para assistência ao desenvolvimento internacional. Apesar de muitos sucessos, existe grande disparidade entre as nações no estado de saúde infantil. Estatísticas de saúde anuais e indicadores relacionados são relatados no *Estado das Crianças do Mundo* do UNICEF. As taxas de mortalidade médias de lactentes e crianças menores de 5 anos variam de quase 200/1.000 nos países menos desenvolvidos a menos de 9/1.000, nos países desenvolvidos. A comparação de países pobres e ricos revela: 1) um número maior do que o dobro de recém-nascidos pequenos para a idade gestacional (PIG); 2) um terço contra 0% de crianças menores de 5 anos com desnutrição moderada a grave; 3) uma taxa de crescimento média da população quatro vezes mais alta e 4) uma

diferença de sete vezes nas taxas brutas de nascimento e fertilidade. No que diz respeito às mulheres: a) a prevalência de contracepção é inferior a 10% nos países em desenvolvimento e acima de 70% nos países mais ricos; b) as taxas mortalidade materna são 50 vezes mais altas nos países em desenvolvimento do que naqueles desenvolvidos (aproximadamente 650 *versus* 12/100.000 nascidos vivos) e c) no mundo em desenvolvimento, menos de um terço das gestantes são imunizadas contra o tétano (THE UNICEF, 1996; GOLDHAGEN, 2002).

Uma das preocupações da saúde pública atual é o crescente aumento dos nascimentos de pré-termos no mundo e sua crescente importância como causa de mortes infantis. Frequentemente o óbito resulta de complicações da prematuridade, asfixia ou trauma durante o parto, desnutrição materna e fetal, infecções, malformações severas, ou outras causas perinatais. A saúde materna e a condição nutricional são importantes para a saúde do recém-nato (ZUPAN, 2005).

No Brasil, a taxa de Mortalidade Infantil (TMI) sofreu reduções significativas, próximas de 60%, em um período de 21 anos: passou de 73 (em 1980), para 30 óbitos de menores de um ano de idade, para cada mil crianças vivas (em 2001).

Em 2004, os óbitos neonatais precoces (de 22 semanas de gestação até 7 dias de vida) correspondem a 53,13% dos óbitos, os óbitos tardios (mais de 28 dias até 1 ano de idade) correspondem a 32,20% dos óbitos, demonstrando desta forma a necessidade urgente de se atuar em medidas de atenção à gestante e cuidados aos recém-natos, merecendo maior atenção por parte dos obstetras e pediatras.

O Coeficiente de Mortalidade Infantil do Estado do Paraná em 2004 ficou em 16,47/1000 nascidos vivos.

QUADRO 1 - COEFICIENTE DE MORTALIDADE INFANTIL DO ESTADO DO PARANA (ÓBITO / 1000 NASCIDOS VIVOS)

NEONATAL		INFANTIL	TOTAL
Precoce	Tardio	Tardio	
8,54	2,45	5,48	16,47

Fonte: Secretaria Estadual do Estado do PR, 2004.

Para diminuição das taxas de mortalidade infantil no Estado do Paraná, medidas de prevenção devem ser aplicadas: 32% na Atenção Ambulatorial, 28% com Medidas Sociais, 24% na Atenção Hospitalar e 15% na Educação em Saúde (SECRETARIA ESTADUAL DA SAÚDE, 2003).

3.3 O PERÍODO DE GESTAÇÃO

A condição nutricional adequada é o ideal para todos os seres humanos, principalmente para a mulher, antes da gestação. É no período gestacional que ocorrem as maiores exigências nutricionais, principalmente, quando se dá a organogênese, nas primeiras semanas de gestação. Nesta fase, há maior solicitação fetal, podendo levar a desequilíbrios importantes, com repercussões graves, tanto para mãe como para o feto (QUEIROZ; NÓBREGA, 1998).

A gestação impõe necessidades adicionais de energia em decorrência do aumento dos tecidos e do metabolismo basal. As necessidades calóricas são recomendadas pela "Recommended Allowances (RDA)", sabendo-se que o dispêndio de energia eleva-se entre os dois primeiros trimestres e é mantido constante, até o pré-natal. Deve-se acrescentar 300kcal por dia sobre as necessidades calóricas basais da mulher não grávida.

O ganho de peso materno ideal não é possível definir, embora a maioria dos autores preconize como sendo 10 a 13 kg. O padrão normal da curva de ganho de peso consiste em alteração mínima no primeiro trimestre, seguido por uma taxa linear progressiva de 350 a 400g por semana, durante os dois trimestres. Durante o segundo trimestre, o aumento de peso reflete alteração no compartimento materno e durante o terceiro, é decorrente do crescimento do concepto, da placenta e do aumento do líquido amniótico (RUDGE; BORGES; CALDERON, 2000).

Durante o primeiro trimestre da gestação, a nutrição materna tem pouca influência sobre o concepto. As necessidades calóricas nesta fase de gestação são pequenas, porém, se o ganho de peso da gestante for insuficiente desde o início do segundo trimestre (próximo a 16 semanas), pode-se prever um baixo peso ao nascer. Para o recém-nascido, o baixo peso é um dos principais reflexos da desnutrição materna, sendo um dos indicadores mais sensíveis do crescimento intra-

útero e conseqüentemente associado às perspectivas de vida. Retardo do crescimento intra-uterino é um dos fatores que mais contribui para a mortalidade perinatal (RUSH, 2001).

Segundo KING (2000) é preciso entender que a condição nutricional materna exerce influência durante um *continuum*, que inclui todo o ciclo reprodutivo, inclusive a preparação para a lactação. Essa condição atua também sobre o tamanho do feto e outros atributos do crescimento fetal e em aspectos da vida pós-natal e mesmo da vida adulta (RAMOS; DEUTSCH, 2003).

Gestantes portadoras de anemias graves por deficiência de ferro podem apresentar maior incidência de fetos com baixo peso ao nascer, prematuridade e aumento da mortalidade perinatal. A anemia materna grave geralmente está acompanhada de hipertrofia placentária, a fim de aumentar a extração de oxigênio em fetos com baixos índices de hemoglobina (MANI; DUFFY, 1995 / QUEIROZ, 2001).

A gestação durante a adolescência coloca a mãe e a criança em grande risco social, econômico e nutricional. Na África, 10% a 15% das adolescentes engravidam por ano; na Tanzânia, ao redor de 18%. Durante este período, as adolescentes ainda estão em fase de crescimento e a gestação provoca uma competição entre o conceito e a mãe, acarretando carências nutricionais, com conseqüências severas para ambos (SHIRIMA; KINABO, 2004).

3.4 RETARDO DO CRESCIMENTO INTRA-UTERINO

O “peso ao nascer” é um indicador do estado de saúde de uma população, sendo considerado pela Organização Mundial da Saúde o determinante isolado mais importante em relação às chances de sobrevivência de uma criança, bem como um indicador nutricional nos primeiros anos de vida. No Brasil, a prevalência de baixo peso ao nascimento vem diminuindo, de 10,1% em 1989 para 8,1% em 1996. Os valores possivelmente foram subestimados, pois, naquela época, era alto o índice de desconhecimento do peso de nascimento. As famílias que não sabem informar sobre o peso de seus filhos ao nascimento são provavelmente as mais carentes, onde o risco de baixo peso ao nascer é mais prevalente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Estudos epidemiológicos sugerem uma forte associação entre baixo peso ao nascer e maior risco para a síndrome metabólica na vida adulta (PARK e col., 2003).

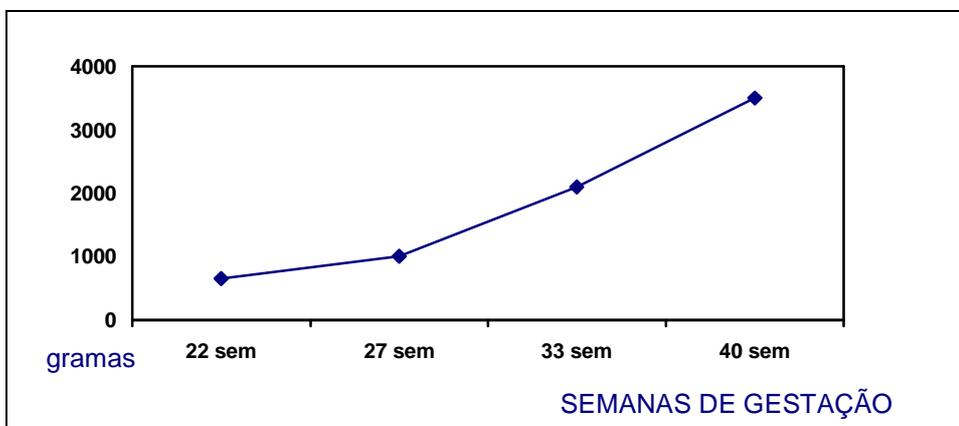
O crescimento fetal é influenciado por diferentes fatores, como os genéticos, hormonais, ambientais, placentários, saúde materna (incluindo sua própria condição nutricional) e oferta de nutrientes. .

A antropometria fetal depende de uma fase inicial de organização e diferenciação tecidual, associada a uma intensa proliferação celular. Fatores genéticos, suprimento transplacentário de oxigênio e de substratos, além das ações endócrinas e parácrinas de hormônios produzidos pelo feto, placenta ou mãe, são os moduladores do crescimento fetal (MARSAL et al., 1996).

A definição de “desnutrição” para o feto e o recém-nascido é uma tarefa difícil. Tradicionalmente, a avaliação do estado nutricional do recém-nascido é baseada em curvas pré-determinadas de medidas antropométricas, que levam em consideração o peso, o comprimento do corpo e o perímetro cefálico para a idade gestacional. Assim, os recém-nascidos podem ser classificados em adequados (AIG), pequenos (PIG) e grandes para a idade gestacional (GIG) (FALCÃO; CARDOSO, 2003).

Existem várias “curvas-padrão” e tabelas de crescimento intra-uterino (Anexo 1) que podem ser usadas durante o acompanhamento da gestante, como por exemplo, a curva de BATTAGLIA e LUBCHENKO (1997), mostrada no gráfico 1.

GRÁFICO 1 - CRESCIMENTO INTRA-UTERINO (PESO / IDADE GESTACIONAL)



Battaglia, Lubchenco, 1967 (modificado).

A avaliação de crescimento pós-natal não deve ser baseada exclusivamente nas curvas de referência de crescimento intra-uterino, uma vez que, após nascer, as adaptações necessárias à vida extra-uterina e a conseqüente perda de peso inicial, aliada ou não ao fator doença, modificarão a taxa de crescimento. Existem curvas de crescimento pós-natal de prematuros que levam em conta a perda de peso da primeira semana de vida e considera a menor velocidade de ganho de peso observada no ambiente extra-uterino (BROSIUS, 1984 / DUBOWITZ e col, 1970 / FALCÃO; CARDOSO, 2003).

3.5 O PAPEL DO LEITE MATERNO

A partir dos estudos experimentais em ratos para avaliar a influência da dieta materna sobre a lactação, é possível fazer algumas comparações e obter informações úteis sobre possíveis mecanismos envolvidos na associação de desnutrição materna e lactação. YOUNG e RASMUSSEN (1985) observaram que as ratas com dieta restritiva passavam mais tempo procurando por alimento no ninho e esta atividade poderia ser responsável pelo aumento do gasto energético das mães e dos filhotes, uma vez que eles se tornavam hipotérmicos. Assim a inclusão do gasto energético nos estudos sobre desnutrição talvez seja importante.

Em 1970, inicia-se um movimento de resgate à “cultura da amamentação” (em resposta ao desmame precoce), foram criados programas de incentivo à amamentação apoiados pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1989).

Concomitantemente começam a aparecer evidências científicas mostrando a superioridade do leite materno como fonte de nutrientes e de proteção contra as doenças. O número de crianças amamentadas ainda é pequeno (QUINTAL; DINIZ, 2003).

No Brasil, a última pesquisa sobre a situação do aleitamento materno em nível nacional encontrou uma mediana de duração da amamentação de sete meses e de amamentação exclusiva de, somente um mês. Apesar de a grande maioria das mulheres (96%) iniciar esta prática, apenas 11% amamentam exclusivamente no

período de quatro a seis meses, 41% mantêm a lactação até o fim do primeiro ano de vida e 14%, até os dois anos (SOCIEDADE CIVIL-BEMFAM, 1997).

A alimentação ao seio propicia uma nutrição de alta qualidade para a criança, promovendo o seu crescimento e desenvolvimento. As crianças amamentadas podem apresentar um crescimento diferente do das crianças alimentadas artificialmente. Por isso, a curva do *National Center for Health Statistics* (NCHS) foi considerada inadequada para uso em crianças em aleitamento materno exclusivo. As crianças amamentadas exclusivamente ao seio, mesmo nos países desenvolvidos, apresentam uma diminuição no escore z do índice peso/idade da curva de crescimento do NCHS, a partir do terceiro mês de vida, que persiste até o final do primeiro ano de vida. O mesmo ocorre para o indicador estatura/idade, porém com uma diminuição menos acentuada e uma tendência a se estabilizar ou mesmo aumentar após o oitavo mês (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1995).

A OMS está empenhada na elaboração de novos padrões de referência de crescimento, cujos dados já estão sendo coletados em 6 locais diferentes como: Brasil, Estados Unidos, Noruega, Gana, Omã e Índia (GIUGLIANI, 2004).

O leite materno é o mais apropriado de todos os leites disponíveis para o lactente humano, pois está singularmente adaptado às suas necessidades. A amamentação, quando bem-sucedida, é uma experiência satisfatória para mãe e bebê, oferecendo uma oportunidade maior para um contato sensual estreito entre ambos (CURRAN; BARNES, 2002).

Além das vantagens nutricionais, o leite materno possui muitas outras vantagens não nutricionais. LUCAS e COLE (1990) demonstraram que a enterocolite necrosante é de seis a 10 vezes mais freqüente em recém-nascidos prematuros que são alimentados exclusivamente com leite de fórmula do que nos que recebem leite materno livre demanda.

Em documento recente, a Academia Americana de Pediatria cita, entre outros benefícios, uma possível proteção do aleitamento materno contra a síndrome da morte súbita do lactente, o diabetes insulino-dependente, a doença de Crohn, a colite ulcerativa, o linfoma, as doenças alérgicas e outras doenças crônicas do aparelho digestivo (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005).

São notórios os benefícios da prática da amamentação em relação à saúde da mulher, diminuindo a incidência do câncer de mama e de ovário, de fraturas de quadril por osteoporose, de artrite reumatóide, além do retorno ao peso pré-gestacional mais precocemente. Outra vantagem para a mãe é a involução uterina mais rápida, com conseqüente diminuição do sangramento pós-parto (LABBOK, 2001 / MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Outro importante aspecto relacionado com a amamentação é a manutenção da amenorréia pós-parto. Sabe-se que a amenorréia da lactação depende da freqüência e duração das mamadas. Em comunidades onde a mulher amamenta os seus filhos por curto período de tempo e iniciam a alimentação complementar precocemente, a média da amenorréia pós-parto é menor, bem como o espaçamento entre os partos (REA, 2004).

A Academia Americana de Pediatria recomenda que o leite materno seja fonte exclusiva de alimento para os recém-nascidos até o sexto mês de vida, podendo perpetuar até o segundo ano. Está contra-indicado na galactosemia, mães com tuberculose, portadoras do vírus da imunodeficiência, expostas a radiatividade, em tratamento com agentes quimioterápicos ou outros medicamentos que tenham passagem pelo leite materno (OMS / UNICEF, 1989 / AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2005).

A menos que se disponha de um leite de fórmula adequado para a idade da criança, o leite materno deve ser mantido nas áreas de alta endemicidade do HIV. Seja qual for o risco de transmissão do vírus da imunodeficiência, os benefícios da amamentação são bem maiores que os riscos da alimentação com mamadeiras, em países onde a desnutrição é prevalente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

O leite materno não está contra-indicado em bebês que nasceram de mães com vírus da hepatite B ou infectadas pelo vírus da hepatite C. O hábito de fumar não é uma contra-indicação para a amamentação, mas, profissionais de saúde deverão estimular as lactantes a desistirem do vício o mais rápido possível (AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2001).

O conteúdo de gorduras totais do leite materno, bem como o seu teor calórico, não sofrem influência do nível sócio-econômico e do estado nutricional das nutrizes (mães eutróficas e de alto nível sócio-econômico foram comparadas com mães desnutridas e de baixo nível socioeconômico). O leite das mães desnutridas foi suficiente para promover satisfatório ganho ponderoestatural de seus lactentes, sem diferença nas curvas de crescimento (NÓBREGA et al, 1985).

Os lactentes alimentados com leite materno possuem concentrações plasmáticas de colesterol mais elevadas que os lactentes alimentados com fórmulas lácteas, ricas em óleos vegetais poliinsaturados e baixo colesterol. Esses lactentes têm melhor capacidade de manipular os níveis séricos de colesterol do que os que recebem fórmulas lácteas. Não existem evidências de que a dieta do lactente tenha influência na concentração plasmática do colesterol na infância tardia, na adolescência e na vida adulta (OLIVEIRA; ESCRIVÃO, 2001).

3.6 MODELOS EXPERIMENTAIS DE DESNUTRIÇÃO

A maior limitação da experimentação em seres humanos é certamente de ordem ética uma vez que exige uma série de requisitos para resguardar a integridade física dos investigados. A agressividade da doença e suas conseqüências, não permitem estudos induzindo a desnutrição em humanos, necessitando, portanto, de um modelo animal.

Algumas regras gerais podem ser sugeridas durante a escolha do melhor modelo animal para um determinado projeto de pesquisa: (1) se a espécie usada é apropriada para o problema; (2) se alguma pesquisa prévia mal sucedida indicou que uma determinada espécie pode ser inadequada; (3) se o fenômeno em um ou mais aspectos, é semelhante ao fenômeno em seres humanos (FAGUNDES; TAHA, 2004).

Muitos estudos têm sido realizados não só com roedores, mas também com ovelhas e porcos demonstrando que a restrição protéica ou protéico-calórica durante a gestação gera descendentes menores e com alterações morfológicas e funcionais

não só do sistema digestório, mas também de outros aparelhos e sistemas. (TRAHAIR e col, 1996 / NUÑEZ e col, 1996 / ALVAREZ e col, 1997).

Os roedores e, entre eles, principalmente o rato, ocupa um importante lugar na pesquisa biomédica e comportamental, sendo sua fisiologia bastante conhecida, além serem de fácil manutenção e pouco onerosos. O sistema digestório dos ratos assemelha-se em muitos aspectos ao humano e, por isto, este animal é amplamente usado em modelos de pesquisa gastrintestinal (SMITH; MILLER, 1996).

O rato Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) vive mais de três anos e o período reprodutivo se inicia entre 65 e 110 dias, gerando entre sete e dez ninhadas, cada qual com sete a quatorze filhotes. A gestação leva em média 3 semanas, e o desmame ocorre com 21 a 23 dias de vida (HARKNESS, 1993 / FERREIRA; CARNEIRO, 1998). Sendo assim, se reproduzem rapidamente, com possibilidade de estudos antes, durante e, ou após a gestação, como avaliação e seguimento dos conceitos sem a necessidade de vários grupos de estudo ou seguimentos por longos períodos. Tais fatores tornam o rato um bom modelo animal para o estudo da desnutrição intra-uterina e suas conseqüências.

3.6.1 Indução da Desnutrição Intra-Uterina em Laboratório

Nas pesquisas sobre as repercussões da nutrição da gestante no recém-nascido, dois modelos de estudos experimentais podem ser empregados. Um dos modelos é feito com a ligadura da artéria uterina, reduzindo fluxo sanguíneo útero-placentário com diminuição do suprimento nutricional para os fetos (POLLAK et col, 1979).

O segundo modelo também pode ser experimental, quando se restringe a oferta alimentar durante a gestação e, dessa forma, tenta-se simular em laboratório a desnutrição de gestantes que ocorre em países em desenvolvimento. Neste modelo, pode ser utilizada a restrição protéica na alimentação materna durante a gestação, diferindo quanto ao teor protéico da dieta, ao período gestacional em que se inicia a restrição protéica e à duração desta. Também pode haver uma ampliação

deste modelo, utilizando a restrição de todos os nutrientes da dieta, resultando numa desnutrição protéico-calórica (TRINDADE, 1997).

Alguns fatores devem ser levados em consideração sobre os estudos experimentais: a desnutrição imposta a animais de laboratório é geralmente mais intensa; também devemos considerar as diferenças nas etapas do desenvolvimento orgânico em função das diferentes espécies animais.

Apesar de tais considerações, os modelos experimentais são importantes para alertar sobre os possíveis reflexos da desnutrição da gestante (TRINDADE, 1997 / FAGUNDES; TAHA, 2004).

Alguns estudos experimentais com ratos foram realizados já na década de 60 para avaliar a ação da restrição protéica durante a gestação sobre os filhotes (CHOW; LEE, 1964 / ZEMAN; STANBROUGH, 1969 / SHRADER; ZEMAN, 1969).

ZEMAN (1967) tentou determinar os efeitos da restrição protéica da dieta materna durante toda a gestação sobre os filhotes e a duração das alterações. Na primeira parte do estudo, muitos deles morreram, sugerindo que os ratos recém-nascidos não foram capazes de sugar o suficiente para manter o fluxo de leite. Não foi encontrado leite em seus estômagos, não apresentaram ganho de peso e pareciam desidratados, sugerindo incapacidade em sugar ou impossibilidade das mães de alimentá-los. Na segunda parte da pesquisa, realizada com ninhadas mistas, a sobrevivência foi maior, sugerindo que a sucção por parte dos filhotes nutridos contribuiu para a produção de leite e manutenção da ninhada. Como a competição pelo alimento entre os filhotes é um fator que contribui para o óbito, o estado do filhote ao nascimento provavelmente influenciou o estado nutricional após o nascimento.

YOUNOSZAI e RANSHAW (1973) avaliaram o crescimento corporal do nascimento ao desmame de filhotes de ratas com 6% de proteína na dieta durante a gestação, comparando-os com filhotes de mães alimentadas com dieta com 26% de proteína. Após o nascimento, os filhotes foram alimentados por mães de leite que receberam dieta com quantidade adequada de proteína, e ao final da lactação, o peso foi semelhante nos três grupos. Os autores tentaram acompanhar um quarto grupo amamentado por mães com dieta hipoprotéica e nenhum dos filhotes sobreviveu até 21 dias.

Modelos animais de desnutrição protéico-energética diferenciam-se principalmente na gravidade e no tempo da deficiência. A restrição alimentar aguda é um modelo no qual a inadequação dietética é imposta em uma fase em que o estado reprodutivo já está definido e leva à inanição uma população previamente nutrida. Em contraste, a restrição alimentar crônica é um modelo no qual o *stress* da reprodução é imposto a um animal previamente adaptado à falta de comida. Esta situação aproxima-se mais das condições observadas nos países em desenvolvimento, onde as mulheres na idade reprodutiva encontram-se desnutridas devido a uma alimentação inadequada desde a infância (RASMUSSEN, 1998).

A desnutrição crônica pode comprometer a reprodução (GALLER; ZARTARIAN, 1980).

Ratos submetidos à desnutrição severa podem, durante a fase reprodutiva, se tornar estéreis ou se acontecer a fecundação, apresentar reabsorção fetal (SCHUIT e col., 1982).

A restrição alimentar pode ser responsável por ganho de peso insuficiente das ratas durante a gestação, o número de filhotes por ninhada pode ser menor. A mãe desnutrida pode garantir a nutrição da ninhada com um número menor de filhotes (YOUNG; RASMUSSEN, 1985).

Modelos animais de estudo sobre a influência da desnutrição crônica durante a prenhez e na lactação têm levantado algumas considerações como o fato de que, mesmo sem mudanças importantes no peso corporal, podem ocorrer alterações na composição corporal das nutrizes. Conseqüências para os conceptos no decorrer do desenvolvimento pós-natal, desencadeados por mecanismos reacionais compensatórios, com alterações funcionais apesar de apresentarem estruturas orgânicas normais. (YOUNG; RASMUSSEN, 1985 / DALÇIK e col., 2003).

3.7 ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA DESNUTRIÇÃO EM HUMANOS

A desnutrição energético-protéica gera uma série de respostas clínicas adaptativas. Posteriormente, pela persistência das condições adversas nos seus

mais variados graus, a adaptação se transforma em má adaptação, pondo em evidência as manifestações decorrentes. Assim, a diminuição da atividade física, do peso e da estatura são os resultados desses mecanismos de adaptação que ocorrem durante o processo da desnutrição. Concomitantemente, vários mecanismos fisiopatológicos se instalam, determinando adaptações metabólicas de variadas intensidades, desencadeadas e mantidas por controles hormonais. Também há comprometimento da função imune, especialmente a celular, e da função gastrointestinal, resultado da atrofia da mucosa, provocando uma generalizada má absorção intestinal, que mantém ou aumenta a desnutrição (CARRAZA, 1999).

Principais aspectos da fisiologia da desnutrição estão resumidos por Monte (2000) no quadro 2.

QUADRO 2 - ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA DESNUTRIÇÃO

Órgão / Sistema	Alteração	Conseqüência funcional
Tubo digestivo	-Atrofia das vilosidades intestinais:	-Diminuição enzimas digestivas, má digestão e absorção (diarréia, deficiência de micronutrientes)
Fígado	-Esteatose, alteração da função, redução da síntese de proteína: -Alteração da gliconeogênese:	-Hipoproteïnemia (edema) -Hipoglicemia
Músculos	-Redução e perda de massa muscular esquelética e lisa:	-Magreza, hipotonia, alterações miocárdicas.
Sistema imunológico	-Atrofia de timo, amígdalas e linfonodos, imunidade diminuída:	-Infecções subclínicas, sepse
Metabolismo	-Metabolismo basal e bomba de sódio-potássio alterados:	-Hipoglicemia, -Hipotermia/ hipertermia, distúrbios eletrolíticos
Sistema circulatório	-Função renal alterada, débito cardíaco e volume circulatório reduzido:	-Risco de morte por sobrecarga cardíaca
Sistema hormonal	-Insulina e IGF-1 reduzidos, hormônio de crescimento e cortisol aumentados:	-Intolerância à lactose
Rim	-Redução da filtração glomerular:	-Risco de hipernatremia, infecções urinárias.

Fonte: MONTE, 2000

3.8 O FIGADO DOS ROEDORES

3.8.1 Aspectos Morfofisiológicos do Fígado dos Roedores

O fígado de roedores é um órgão multilobular localizado na porção anterior da cavidade peritoneal, adjacente ao diafragma. Semelhante ao fígado de humanos, é constituído principalmente por células hepáticas, células piramidais com um ou dois núcleos centrais heterocrômicos que podem conter um ou dois nucléolos proeminentes. A bile secretada pelas células hepáticas flui pelos canalículos bilíferos, ductulos biliares e ductos biliares. Essas estruturas se anastomosam, formando uma rica rede de ductos, que se vão gradualmente fundindo e formando os ductos hepáticos. Diferente dos humanos, os roedores não possuem vesícula biliar, então o ducto hepático desemboca diretamente no duodeno.

Um proeminente achado em fígado de roedores é o chamado espaço porta, composto pela tríade portal: ducto biliar, veia porta e artéria hepática. Cada espaço porta está envolto por uma bainha de tecido conjuntivo, contendo alguns nervos periféricos e vasos linfáticos. Pela anatomia e histoarquitetura do fígado de roedores serem muito próximas as do fígado de humanos, modelos animais com roedores e, particularmente os ratos, tem sido empregado com muita freqüência (COOK, 1965; SMITH, 1996).

3.8.2 Aspectos Morfofisiológicos de Alguns Órgãos e Sistemas dos Roedores Submetidos à Desnutrição Intra-uterina

OLUSI e McFARLANE (1976) documentaram o efeito da desnutrição intra-uterina ou perinatal em ratos recém-nascidos, demonstrando a redução de peso corporal, diminuição do peso do baço, timo, fígado, cérebro, rins, pulmões, coração, globo ocular e glândula adrenal. O cérebro e o timo foram os mais severamente afetados. Em seu estudo, as fêmeas foram submetidas à restrição alimentar em um período antes da gravidez, agravando ainda mais a desnutrição durante a gestação. Não houve recuperação do peso do cérebro em nenhum tempo do experimento. A

média dos pesos do baço dos filhotes desnutridos, após a lactação e manutenção com dieta hipercalórica, se equivalia à média dos controles com 70 dias de vida. Com relação ao timo, mesmo depois de instituída a alimentação para a correção da desnutrição, a resposta imune, celular e humoral mantinham-se diminuídas apesar da recuperação da histologia e do peso do órgão, após o 4º mês do nascimento dos filhotes desnutridos, quando comparados com o grupo nutrido. O autor conclui que o timo é o “barômetro” da desnutrição.

A desnutrição e a infecção frequentemente estão associadas. Numerosos estudos têm demonstrado que a base para esta associação seria o comprometimento imunológico celular causado pela desnutrição. SUIT e col. (1982) estudaram os efeitos da desnutrição materna sobre o sistema imunológico de filhotes recém-nascidos. Ratos adultos-jovens, feminino, foram divididos em dois grupos. Metade dos animais recebeu dieta com restrição protéica (8% de proteína) e a outra metade, dieta sem restrição (25% de proteína). A restrição alimentar teve início 10 dias antes da inseminação e perdurou até o final da gestação. Os filhotes apresentaram baixo peso ao nascer e estavam hipoproteïnêmicos (média de 3,8g/dl, para 4,2g/dl para os controles). Várias amostras para lavado celular pulmonar foram obtidas de ambos os grupos. No grupo desnutrido, a habilidade para defesa contra *Cândida tropicalis* estava significativamente diminuída. Más que, após a realimentação das mães com dieta adequada, a função dos macrófagos se restabelecia.

A albumina é a proteína mais secretada pelo fígado, e sua síntese está diminuída em várias condições clínicas, principalmente na desnutrição (CARRAZA, 1999).

LOPEZ et al. (1983) relataram em concentrações de proteínas plasmáticas totais, níveis mais elevados em ratas nutridas prenhas quando comparados com ratas desnutridas, prenhas. Há poucos estudos na literatura relacionando níveis de albumina durante a gestação versus desnutrição.

A concentração de aminoácidos no sangue portal, no citosol hepático e o RNA mensageiro, praticamente não se alteram com a restrição alimentar, já os fatores de transcrição nuclear das pontes do promotor do gene da albumina, modificam-se a partir de 2 a 4 dias de inanição, segundo OGAWA e col. (1998) em

experimentos com ratos, usando homogeneizados de fígados de ratos submetidos à carência alimentar.

LEMOS (2002) empregou o modelo de desnutrição comparando os valores da albumina sérica materna coletados no final da gestação, entre o grupo nutrido e desnutrido. O grupo desnutrido apresentou valores menores em relação ao grupo nutrido, contribuindo para confirmar a desnutrição materna, antes do nascimento dos filhotes.

TIRAPEGUI e De ANGELIS (1985) cotejaram filhotes de ratas prenhas submetidas à dieta com 20% de caseína, 8% de caseína e 8% de proteína de milho, quanto aos pesos corporal, hepático e cerebral, quanto às concentrações de proteínas total, hepática e cerebral, quanto às dosagens das transaminases e quantificações DNA e RNA hepáticos e cerebrais. Após a lactação, os filhotes originados de mães desnutridas foram divididos em dois subgrupos: alimentados com ração padrão (20% de caseína), denominados recuperados, e com ração contendo 8% de proteína (caseína ou milho), nomeados desnutridos. Após o sacrifício aos 51 dias, os resultados mostraram diferença estatística em relação ao peso corporal, com predomínio dos nutridos ($137,53 \pm 5,42$) sobre os recuperados ($116,62 \pm 11,74$) e desnutridos ($63,00 \pm 4,69$). O peso hepático reduziu 20% no grupo alimentado com 8% de caseína, 45% no grupo alimentado com 8% de proteína de milho e 15% nos recuperados em relação ao controle. Em relação ao crescimento cerebral, houve redução significativa nos grupos mantidos em desnutrição durante todo o experimento, que também apresentaram diminuição dos valores de proteínas, total e transaminases. As quantificações do DNA e RNA hepáticos mostraram-se menores nos desnutridos com dieta à base de proteína de milho, enquanto as dosagens cerebrais dos nucleotídeos foram independentes da proteína utilizada, estando reduzidos igualmente nos grupos de desnutridos e recuperados. Os autores concluíram que os desnutridos com proteína de milho foram os mais afetados e que os filhotes recuperados apresentaram melhora dos parâmetros, porém, estes permaneceram inferiores aos obtido no grupo controle.

YOUNG, LEE e LEBENTHAL (1987) estudaram o efeito da desnutrição alimentar materna durante a gestação e a lactação sobre os órgãos digestivos. A restrição alimentar teve início no 5º dia da gestação. Após o nascimento, alguns

filhotes foram trocados e amamentados pela mãe do outro grupo. Os filhotes amamentados pelas mães com restrição alimentar tiveram os pesos do fígado e do pâncreas reduzidos, bem como o comprimento do intestino. O grupo mais gravemente afetado foi o de filhotes nascidos de mães que receberam 50% a menos de dieta e que foram amamentados por mães com dieta adequada.

BARBOSA et al (1995) realizaram experimento sobre a influência da nicotina e da desnutrição em 80 ratas gestantes e seus conceptos. Os animais foram divididos em nutridos, subgrupo controle, infusão de placebo e infusão de nicotina (duas amostras), e desnutridos com subgrupos equivalentes. Os achados em relação ao ganho de peso materno mostraram decréscimo significativo do grupo desnutrido, todos seus subgrupos e do grupo nutrido com uso de nicotina em relação ao grupo nutrido controle. Os pesos da placenta, fígado e pulmões do grupo nutrido controle foram maiores comparados aos demais grupos. Os recém-nascidos desnutridos originários de todos os subgrupos e seus órgãos pesaram menos que os seus subgrupos equivalentes. Os autores concluem que a desnutrição por ingestão inadequada durante a gestação leva à redução do peso do recém-nascido e de seus órgãos, provavelmente, pela diminuição do tamanho celular.

WEAVER et al (1998) pesquisaram os efeitos da desnutrição protéica sobre a função do trato gastrointestinal de filhotes durante a lactação em 24 ratas. Os animais foram divididos em 4 grupos: desnutrição nos dois períodos, desnutrição na gestação, desnutrição na lactação e nutrição nos dois períodos. O peso de ratas desnutridas foi 17% menor aos três dias de vida. Após a lactação, os filhotes de mães nutridas durante os dois períodos ou só na lactação, pesaram mais que os amamentados por mães desnutridas durante a gestação e lactação ou somente lactação. O mesmo padrão repetiu-se aos 42 e 365 dias de vida. A desnutrição afetou o crescimento intestinal e a produção enzimática de lactase e sucrase dos filhotes amamentados por mães desnutridas nos dois períodos e só durante a lactação, aos 21 dias de vida. Os autores concluíram que a desnutrição intra-uterina não acarretou efeitos tardios, porém, a privação protéica da nutriz levou à redução no peso corporal e dos órgãos dos filhotes aos 21 dias. No 42º dia de vida, os animais se equipararam aos controles, exceto pelo ganho ponderal, que foi menor até um ano de idade.

BOZA e col (1999) estudaram os efeitos da privação alimentar e a realimentação sobre o sistema digestivo, principalmente sobre o intestino delgado e fígado e encontraram alterações de graus variáveis na atividade enzimática na bordadura em escova, volume de massa e integridade da mucosa intestinal, quantidade de DNA e proteínas do enterócitos, mesmo em tempo curto de inanição (3 dias). Observou principalmente um aumento da permeabilidade da mucosa para macromoléculas, facilitando o movimento de antígenos para sistema sangüíneo, provocando sensibilização imunológica local ou sistêmica. E constatou que a realimentação rápida restaura a morfologia e a função do intestino. Para analisar a permeabilidade intestinal foi empregado teste de tolerâncias, à lactose e ao manitol e cortes histológicos para observação da recuperação da atrofia da mucosa intestinal. Encontrou concentrações reduzidas (35%) de glutathione e glutathione oxidase no fígado e na mucosa intestinal, quando da determinação por **HPLC**.

OLIVEIRA et al. (1999) em um estudo sobre as alterações músculo-esqueléticas causadas pela desnutrição intra-uterina com 50% de restrição na dieta, observaram evolução ponderal adequada dos ratos após a lactação.

Estudos experimentais em ratos demonstram que a restrição dietética durante a gestação pode afetar a matriz óssea levando à redução da massa óssea e alterações da microestrutura do tecido ósseo, favorecendo a osteoporose no futuro (OREFFO e col, 2003).

No experimento de LEMOS (2002) sobre desnutrição intra-uterina e cicatrização da parede abdominal, os produtos do grupo desnutrido foram menores ao nascimento tanto no peso quanto no comprimento corporal, em relação ao grupo nutrido. No 7^o dia de vida, enquanto eram alimentados com leite da própria mãe, não houve diferença no comprimento do corpo, já o peso manteve-se menor até o 14^o dia de vida, revelando uma recuperação mais rápida do comprimento corporal. Após o desmame (21^o dia de vida), tanto o peso como o comprimento corporal foram semelhantes em ambos os grupos.

Segundo DALÇIK e col (2003) filhotes de ratas que sofreram desnutrição durante a gestação podem apresentar alterações da expressão da adesão molecular com repercussão na morfogênese. A morfogênese em ratos só se completa na época do nascimento, portanto, qualquer agressão sofrida durante o período

gestacional pode desencadear mecanismos reacionais compensatórios, com alterações funcionais apesar de apresentarem estruturas orgânicas normais. O intestino delgado aparentemente apresenta-se com estrutura celular epitelial normal, mas com alteração no processo de remodelação. Os autores constataram que nos rins havia uma diminuição dos nefrons com hipertrofia compensatória.

3.8.3 Aspectos Histológicos do fígado

Hematopoiese Hepática

Embora a hematopoiese hepática comece a declinar no 5º mês de vida intra-uterina, ainda persiste até algumas semanas após o nascimento (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1985).

A hematopoiese é vista como um marcador de sofrimento fetal intra-uterino (COLLINS; COTRAN; KUMAR, 2000).

Índice Mitótico

As células hepáticas representam cerca de 60% do fígado. Sofrem um constante processo de renovação com multiplicação e morte dos hepatócitos. O núcleo é único ou, amiúde, múltiplo e divide-se por mitose. A divisão celular é observável ao microscópico óptico. As mitoses raramente são observadas no tecido hepático normal. A expectativa de vida dos hepatócitos é cerca de 150 dias em animais de laboratório. Os hepatócitos são células lábeis que mesmo após sua indiferenciação conservam acentuada capacidade de multiplicação em situações de stress, como nos transplantes, por exemplo. Por isso são consideradas semelhantes às células-tronco teciduais, apesar de não possuírem a capacidade de dar origem a outros tipos celulares (CRAWFORD; CRAWFORD, 1998; COLLINS, COTRAN, KUMAR, 2000).

Segundo BARCKER (1998) quanto mais severa for a desnutrição sofrida intra-uterina maiores serão as respostas histológicas e bioquímicas celulares, que poderão ser sentidas ao longo da vida.

3.8.4 O Emprego da Morfometria Computadorizada

GURMINI (2004) utilizou este recurso em seu estudo sobre alterações intestinais em filhotes de ratos desnutridos durante a prenhez, quando do nascimento e após o desmame. Não encontrou diferenças entre os grupos nutridos e desnutridos quando empregou métodos convencionais para análise histológica (microscopia óptica e material corado pelo HE). Após reavaliação destas mesmas lâminas, com o emprego da morfometria computadorizada, concluiu que a restrição dietética durante a gestação compromete a altura total da mucosa, a altura e espessura da vilosidade e a altura do enterócito. Após o período de lactação, houve recuperação apenas da espessura da vilosidade.

O efeito da obstrução biliar sobre a morfologia dos hepatócitos vem sendo estudado desde há 50 anos quando saíram as primeiras publicações histológicas. As alterações da estruturais canaliculares associada à colestase parecem ser similares, independentemente da etiologia. As primeiras alterações corresponderiam, um aumento da pressão ao fluxo biliar, dilatação do espaço canalicular e a perda das microvilosidades estendendo-se ao longo dos canálculos. Seguido por espessamento do ectoplasma canalicular e perda das microvilosidades, alargamento do complexo de Golgi, e um aumento dos números dos lisossomos pericanaliculares e hipertrofia do sistema retículo-endoplasmático (SER). Confirmados por estudos qualitativos, esta alteração do SER tem sido implicada como um dos fatores mais importante na etiologia da disfunção da colestase (POPPER; SCHAFFNER, 1970).

A morfometria computadorizada pode ser empregada para avaliação da cirrose (alterações dos compartimentos do parênquima e extra-parênquima), na diferenciação de diferentes etiologias (VIZZOTO e col., 2002 / VERTEMATI e col., 2004).

Aspectos Morfométricos do Fígado

As células hepáticas respondem a numerosos estímulos alterando sua estrutura e conteúdo de organelas que tem correlação com mudanças bioquímicas observadas em frações subcelulares, más que só nos são acessíveis quando temos acesso a métodos mais avançados de análise.

O estudo da morfometria das células hepáticas nos permite caracterizar o funcionamento de específicos parâmetros. Método este, estereológico, que permite com segurança e eficácia analisar a quantidade e a morfometria das estruturas subcelulares nos cortes histológicos (WEIBEL, 1969).

Tamanho Nuclear dos hepatócitos

JONES e col. (1976) analisaram a morfometria dos hepatócitos após a obstrução biliar total, por 48 horas, em ratos. Hepatócitos próximos a áreas portais foram comparadas com os hepatócitos das áreas centro-lobulares. Os autores encontraram uma relação inversa entre o tamanho do hepatócito e o espaço sinusoidal como conseqüência da redução da densidade volumétrica do hepatócito na zona portal, pela obstrução canalicular.

TIRAPEGUI e De ANGELIS (1985) ao analisarem filhotes de ratas prenhas submetidas à desnutrição observaram diminuição dos valores das transaminases e das quantidades de DNA e RNA dos hepáticos. Além disso, os autores concluíram que os filhotes recuperados apresentaram melhora dos parâmetros, porém, estes permaneceram inferiores aos obtido no grupo controle. As quantidades de DNA e RNA podem refletir o tamanho nuclear.

Esteatose Hepática

As células armazenadoras de lipídios, as células de Ito, têm o formato de estrela e se localizam no espaço de Disse. Quantidades variáveis de lipídios neutros (triglicérides) acumulam-se dentro do citoplasma dos hepatócitos. Nos cortes

histológicos submetidos a processamento habitual para coloração pelo HE, há digestão de gordura, que aparece como um espaço vazio. Na esteatose macrovesicular, que pode estar presente na desnutrição, observa-se vacúolo intracitoplasmático único, que desloca o núcleo para a periferia. Nas formas leves, a gordura se situa preferencialmente na região centrolobular, porém pode se estender por todo o lóbulo. O mecanismo básico de lesão na esteatose macrovesicular consiste na diminuição de triglicérides pela inibição da síntese de apolipoproteínas ou de lesão estrutural do retículo endoplasmático, do aparelho de Golgi ou da membrana plasmática. Quantidades menores de colesterol e um leve aumento nos fosfolípidios séricos podem estar presentes nesta situação (POPPLEWELL; PEIRIS; STAGNER, 1992).

A quantidade de lipídios na colestase aguda por obstrução do fluxo biliar em ratos, foi avaliada por JONES e col. (1976) por morfometria, que encontraram duas vezes mais lipídios em hepatócitos da região portal do que na região centro-lobular. Isto pode ser justificado pela maior concentração de ácidos graxos livres no plasma e maior afluxo de triglicerídios nesta região.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Patologia Experimental (LPE) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) onde os dados histológicos foram coletados. Para a primeira fase do experimento, foi utilizado o biotério do Centro de Pesquisas do Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica na Universidade Federal do Paraná (UFPR). Neste trabalho, aplicaram-se as Normas para Apresentação de Documentos Científicos da UFPR. Utilizou-se a Nomina Anatômica Veterinária (1983) – Internacional e os princípios éticos de experimentação animal preconizado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimento Animal e pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da PUCPR (Anexo 2).

4.1 A AMOSTRA

Para o presente estudo, foram utilizados 60 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Roentia mammalia*), adultos com 90 dias de vida, peso em torno de 220 gramas, sendo 30 machos e 30 fêmeas, procedentes do Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR). Os animais foram mantidos em biotério em gaiolas de polipropileno com área de superfície de 0,12m², com tampa gradeada de aço inoxidável. Inicialmente os ratos ficaram alojados em grupos de 5 animais do mesmo sexo por um período de adaptação de 48 horas, recebendo alimentação padrão Nuvilab CR1® (Quadro 3) e água *ad libitum*.

COMPOSIÇÃO BÁSICA DO PRODUTO:	
Carbonato de cálcio, farelo de milho, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, premix mineral vitamínico, aminoácido.	
Umidade (max).....	12,5%
Proteína bruta (min).....	22%
Cálcio (max).....	1,40%
Fósforo (min).....	0,80%
Vitaminas:	
A, D3, E, K3, B1, B2, B6, B12, niacina, ácido pantotênico, ácido fólico, biotina, colina.	
Microelementos:	
Ferro, zinco, cobre, iodo, manganês, selênio, cobalto.	

QUADRO 3 - COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO PARA RATOS NUVILAB CR1®

FONTE: National Research Council Institute of Health

4.2 MÉTODO UTILIZADO

4.2.1 Fertilização

As fêmeas, todas nulíparas, foram agrupadas com os machos na proporção 1:1, totalizando 30 casais, por um período de 5 dias. Os animais tinham livre acesso à ração e à água durante esta fase do experimento. O exame do canal vaginal para identificar a presença de espermatozoides era realizado diariamente, caracterizando o coito. As ratas foram mantidas com o respectivo macho até o quinto dia, para aumentar as chances de fecundação.

O sexto dia marcou o início dos controles de peso da ração. As fêmeas grávidas (n=20) foram separadas dos machos, mantidas em gaiolas individuais e divididas em dois grupos: nutrido (GN) e desnutrido (GD).

4.2.2 Período de Gestação

Das 30 ratas selecionadas para o estudo, 20 delas engravidaram e foram divididas aleatoriamente em: grupo nutrido (GN) e grupo desnutrido (GD), com 10 animais em cada grupo.

No primeiro dia do período de gestação, a ração a ser ofertada às ratas prenhas foi pesada individualmente para saber a quantidade de ração ingerida por animal, por dia. Para obtenção do grupo desnutrido, optou-se pelo modelo experimental de desnutrição protéico-energética, que consiste em ofertar 50% da quantidade de ração que cada rata deveria comer, por dia. A água foi mantida *ad libitum* para os dois grupos durante todo o experimento.

A ração foi pesada e controlada diariamente, e os animais pesados a cada 3 dias até o parto. Para peso dos animais e da ração foi utilizada balança eletrônica digital Marte modelo AM 5500 Automarte graduada em gramas (Figuras 1a, 1b e 1c).

Uma régua foi especialmente construída para o experimento, seguindo as técnicas de medida apresentadas por HUGGES e TANNER (1970) para comprimento do corpo e da cauda dos animais (Figura 1 d).

Para avaliação de peso das matrizes, foram registrados:

- a) Peso inicial: peso no dia da separação dos casais;
- b) Ganho de peso durante a gestação: pesagem das matrizes a cada 3 dias;
- c) Peso final: o último valor do peso registrado antes do parto;
- d) Peso pós-parto: peso obtido em até 24 horas após o parto e
- e) Peso no desmame: no 21^o dia do nascimento dos filhotes.

FIGURA 1 – BALANÇA ELETRÔNICA DIGITAL MODELO AM 5500 AUTOMARTE PARA PESAGEM, GRADUADA EM GRAMAS (g):
a) DA RAÇÃO; b) DE UMA NINHADA; c) DE UM FILHOTE;
RÉGUA UTILIZADA PARA MEDIDA, GRADUADA EM CENTÍMETROS
d) COMPRIMENTO DO CORPO E DA CAUDA DE UM FILHOTE

a)



b)



c)



d)



4.2.3 Nascimento dos Filhotes e Mensuração da Albumina Sérica

Após o período de três semanas do acasalamento ocorreu o parto.

Os seguintes dados foram registrados:

- a) Peso das ninhadas;
- b) Peso dos filhotes individualmente;
- c) Número de filhotes recém-nascidos por ninhada;
- d) Comprimento do corpo e cauda dos filhotes e
- e) Peso dos órgãos e comprimento do intestino dos filhotes.

A dosagem sérica da albumina foi realizada após coleta de sangue das veias da cauda das mães, de ambos os grupos (GN e GD), logo após o parto.

4.2.4 Período de Lactação e Desmame

Durante a lactação, período este que corresponde a 3 semanas, as nutrizes foram mantidas em suas gaiolas, cada mães com sua respectiva ninhada, sendo os filhotes alimentados com o leite da própria mãe. Em ambos os grupos (GN e GD), as mães foram alimentadas com ração e água *ad libitum*.

4.2.5 Sacrifício dos Animais

Foi utilizado éter etílico puro sob campânula de vidro até o óbito dos animais.

Os filhotes de ambos os grupos (GN e GD) foram selecionados aleatoriamente para o sacrifício, que se realizou em dois períodos: dia zero (d0 = ao nascimento) e dia 21 (d21 = período do desmame).

Foram incluídos no estudo: 24 filhotes do GN (6 mães nutridas) e 32 filhotes do GD, (7 mães desnutridas), documentado no quadro 4.

QUADRO 4 – SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS, AO NASCIMENTO E
NO DESMAME

Grupos	Nutrido (GN)	Desnutrido (GD)
Sacrifício dia 0	15	18
Sacrifício dia 21	9	14
Total	24	32

Saíram do estudo: A) Grupo Nutrido (GN=10), quatro ratas, uma por não evolução da prenhez ou aborto, outra por óbito durante o trabalho de parto e duas ninhadas, restando seis mães; B) Grupo desnutrido (GD=10), uma por não evolução da prenhez, outra por óbito durante o trabalho de parto e uma ninhada, restando sete mães.

Entre os filhotes, muitos morreram durante o experimento, por canibalismo ou negligência entre as mães, igualmente entre os grupos.

4.3 RETIRADA DOS ÓRGÃOS TÓRACO-ABDOMINAIS

Depois de constatado o óbito, os animais foram posicionados em decúbito dorsal sobre placa de cortiça e os membros foram fixados com alfinetes. A abertura foi realizada através de um corte longitudinal com uma incisão Rokitanski - na linha média do pescoço até a borda superior da pube expondo os órgãos torácicos e abdominais. Os órgãos abdominais foram removidos em bloco único, após liberação do mesentério e os intestinos seccionados entre o piloro e a porção terminal do reto. Os mesmos foram retificados e aferidos em toda sua extensão, com fita métrica (cm). As vísceras, após serem retiradas foram pesadas individualmente, utilizando-se a balança já referida.

4.4 O ESTUDO HISTO-MORFOMÉTRICO DO FIGADO

4.4.1 Coleta e Preparo das Amostras

Após pesagem do fígado, alguns cortes eram realizados em seu parênquima, colocados em frascos contendo formol tamponado a 10% e preparados em blocos de parafina.

As lâminas foram preparadas com dois níveis de corte com 4 μm de espessura (micrótomo *American Optical*®), e coradas com hematoxilina-eosina para avaliação histológica. Foi confeccionada uma lâmina de fígado para cada um dos animais (GN e GD, tanto no d0, como no d21), sendo que cada lâmina continha dois a três fragmentos de tecido hepático. Para análises das lâminas, utilizou-se de um microscópio da marca Olympus U-PMTVC® com objetivas de aumento de 20 e 40 vezes. As imagens foram captadas por câmera Sony® CCD Íris, sendo enviadas ao monitor Sony Trinitron colorido, digitalizadas e analisadas pelo programa Image Proplus® (Mídia Cibernética) com aplicativo morfologia de linhas e cores em computador do tipo Pentium III® 733MHz, no Laboratório de Patologia Experimental (LPE) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) (Figura 5).

FIGURA 2 - MICROSCÓPIO ACOPLADO AO COMPUTADOR



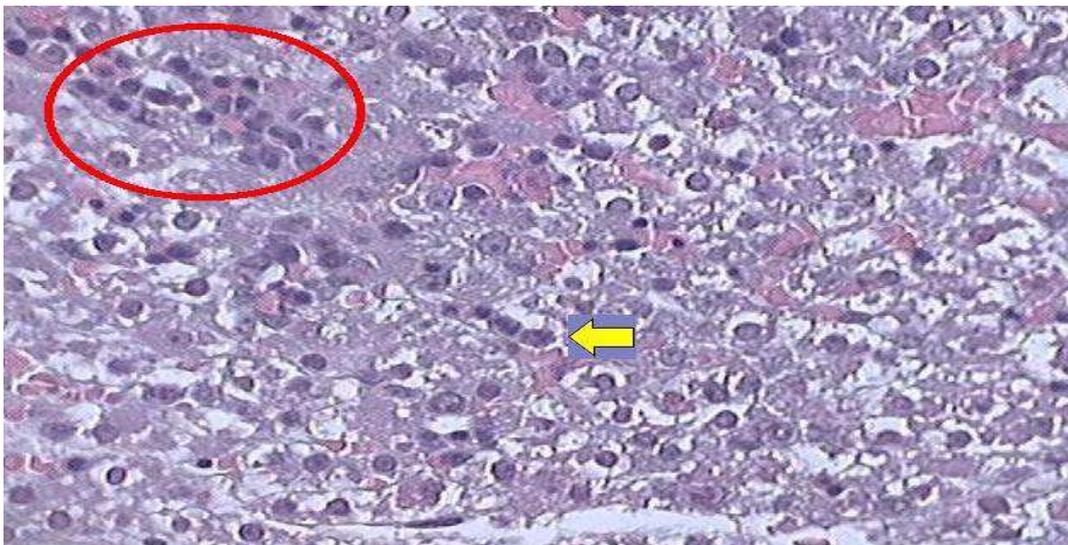
Método de Análise da Hematopoiese e do Índice Mitótico

Para a avaliação destes dois parâmetros, os cortes histológicos de fígado foram estudados em microscópio óptico com objetiva de 40 vezes.

A hematopoiese foi mensurada através da contagem do número de células do ninho hematopoiético. Para tanto, foram escolhidos 5 campos aleatórios por lâmina de cada Filhote, nos dois grupos (GN e GD) e nos dois períodos de sacrifício (d0 e d21), procurando selecionar, somente ninhos hematopoiéticos com mais de 5 células (figura 6).

O índice mitótico foi aferido contando-se o número total de células pelo número de mitose, em 10 campos aleatórios (fora do ninho hematopoiético), por lâmina / filhote, nos dois grupos (GN e GD), ao nascimento e no desmame, exemplificado na figura 6.

FIGURA 3 – MÉTODO DE ANÁLISE DA HEMATOPOIESE E DO ÍNDICE MITÓTICO

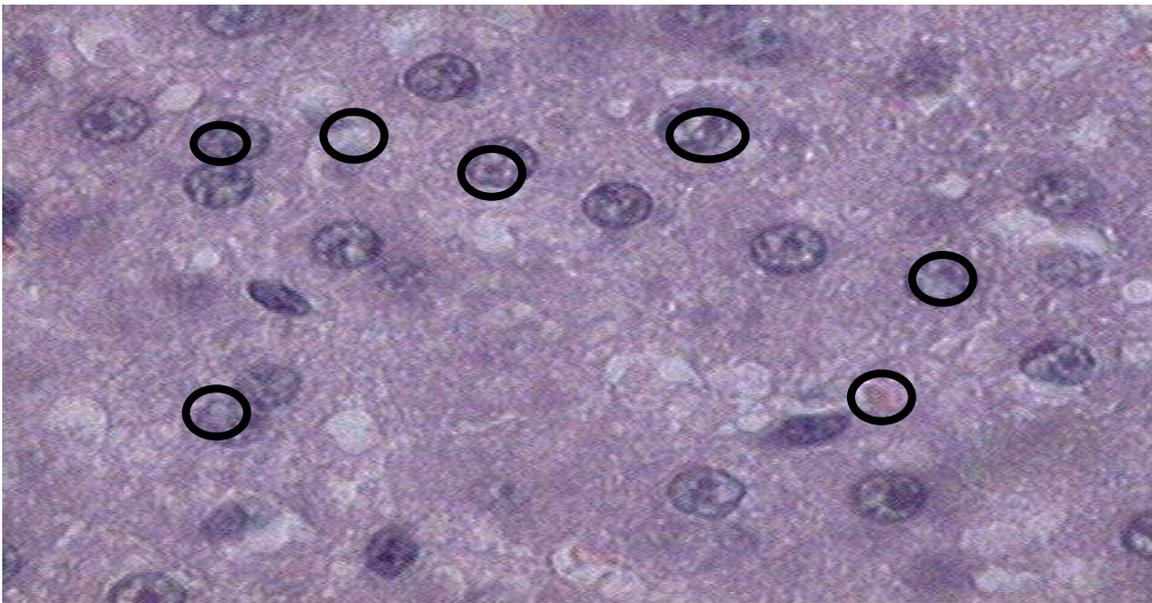


Legenda: Corte de tecido hepático de filhote do GD, d0, mostrando pela indicação em vermelho, um grupo de células com ninho hemtopoiético. O grupo de células com mitose está evidenciado por uma seta amarela. HE x20

Método de Análise do Tamanho Nuclear

Para a avaliação deste parâmetro, foram estudadas as lâminas de tecido hepático dos filhotes (GN e GD), uma lâmina por filhote, nos dois períodos de sacrifício (d0 e d21). A área selecionada para leitura foi colocada no microscópio acoplado a um computador e analisada pelo programa Image Proplus[®] (Mídia Cibernética) com aplicativo morfologia de linhas, calibrado para objetiva de aumento de 40x. Foram realizadas 10 medidas nucleares por campo, de cada filhote. Os campos foram escolhidos aleatoriamente, totalizando 100 núcleos por animal. Através do aplicativo morfologia de linhas foram avaliados o perímetro nuclear e a sua área. Uma linha era traçada sobre o núcleo a ser medido e o programa automaticamente fornecia, em micrômetros, as medidas da área, perímetro e raio do núcleo do hepatócito (Figura 7).

FIGURA 4 - MÉTODO DE ANÁLISE DO TAMANHO NÚCLEAR DOS HEPATÓCITOS

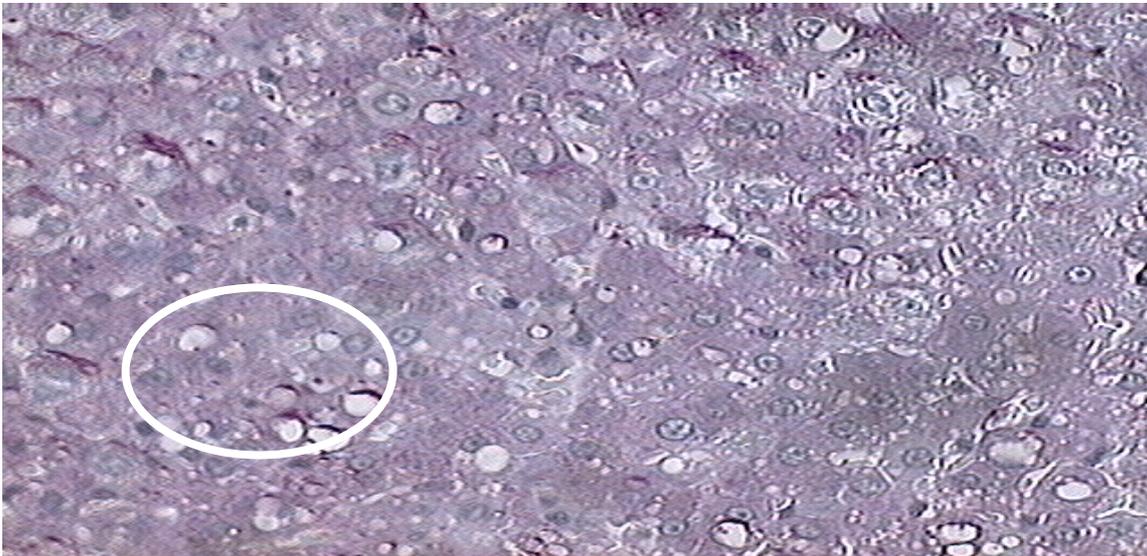


Legenda: Corte de tecido hepático de Filhote do GD, d21, mostrando pela indicação em preto, os núcleos que foram medidos. HE x40.

Método de Análise da Esteatose Hepática

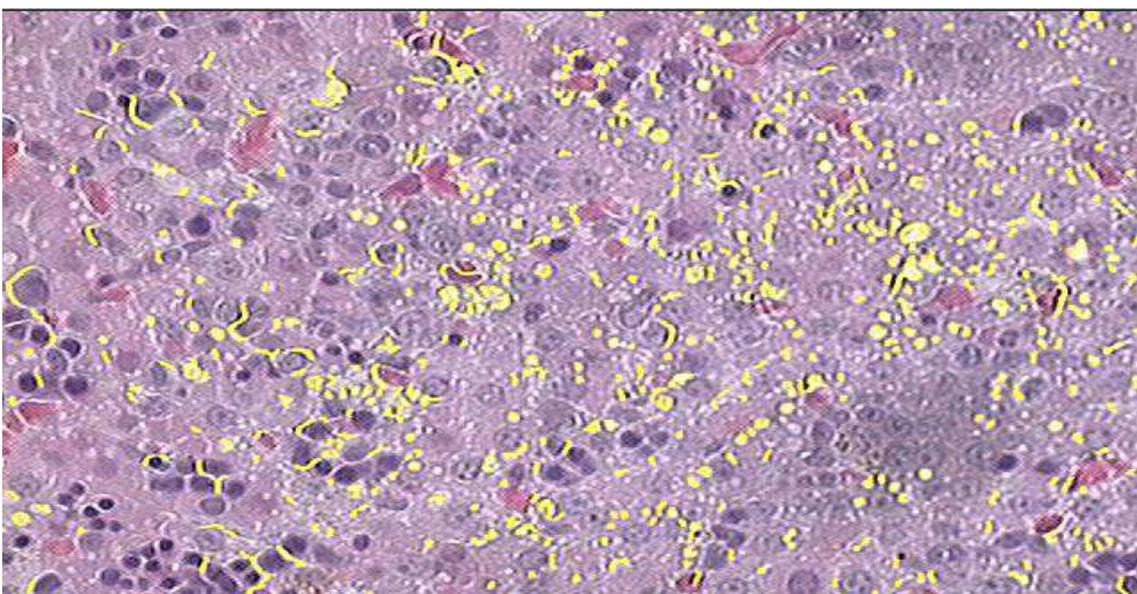
Para avaliação deste parâmetro, novos cortes histológicos foram realizados cujas lamínas foram corados pela técnica de PAS, para melhor diferenciação do citoplasma. O glicogênio do citoplasma se cora em rosa vivo pelo PAS, enquanto que os vacúolos esteatóticos opticamente vazios não se coram. Para a avaliação deste parâmetro, foram estudadas as lâminas de tecido hepático dos Filhotes (GN e GD), uma lâmina por filhote, nos dois períodos de sacrifício (d0 e d21). A área selecionada para leitura foi colocada no microscópio acoplado a um computador e analisada pelo programa Image Proplus[®] (Mídia Cibernética) com aplicativo morfometria de cores, calibrado para objetiva de aumento de 40x. Foram realizadas 10 leituras por campo, em 10 campos aleatórios, sendo analisada a área e a densidade da esteatose hepática (Figura 8). Para este fim foi utilizada a medida de “buracos” brancos (morfometria de cores), uma vez que os vacúolos de esteatose são opticamente vazios e se apresentam brancos ao microscópio óptico, se diferenciando facilmente do citoplasma do hepatócito, que é rosa vivo ao PAS. O examinador fornece uma amostra da cor que ele deseja medir (neste caso o branco) ao programa Image Proplus[®] e ele automaticamente identifica todos os objetos com aquela cor no campo (neste caso os vacúolos esteatóticos), fornecendo o número total de objetos, suas áreas individuais em micrômetros e a densidade total. A área total da esteatose em micrômetros é a soma de todas as áreas individuais brancas identificadas pelo aparelho (figura 8). A densidade total de uma cor fornecida pelo aparelho varia entre os números 0 e 2, onde 0 é a passagem completa da luz do microscópio pelo objeto (cor totalmente branca ou área completamente vazia, neste caso, vacúolos esteatóticos) e 2, a ausência de passagem de luz (cor muito próxima de preto, ou muito densa, neste caso núcleos de hepatócitos). Os valores intermediários representam passagens intermediárias de luz, cores ou densidades intermediárias (neste estudo o citoplasma dos hepatócitos). Neste caso, quanto mais esteatose uma área estudada apresentar, mais próximos de 0 estarão os valores fornecidos pelo aparelho.

FIGURA 5 - MÉTODO DE ANÁLISE DA ESTEATOSE HEPÁTICA



Legenda: Corte de tecido hepático de Filhote do GD, d0, evidenciando em branco os vacúolos esteatóticos. PAS x20.

FIGURA 6 – O EMPREGO DA MORFOMETRIA DE CORES PARA AVALIAÇÃO DA ESTEATOSE HEPÁTICA



Legenda: Corte de tecido hepático de filhote do GD, d0, empregando-se o programa Morfometria de cores. PAS x20

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

No grupo de mães a análise foi efetuada através de testes de hipóteses, analisando-se os parâmetros obtidos, como: peso inicial, ganho de peso, peso final da prenhez, número de filhotes e peso da ninhada ao nascimento.

Todas as variáveis do estudo foram expressas em médias e desvios-padrão. Para comparação entre os grupos de mães (GN e GD), adotou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (WOOLSON, 1987; CALLEGARI-JACQUES, 2003).

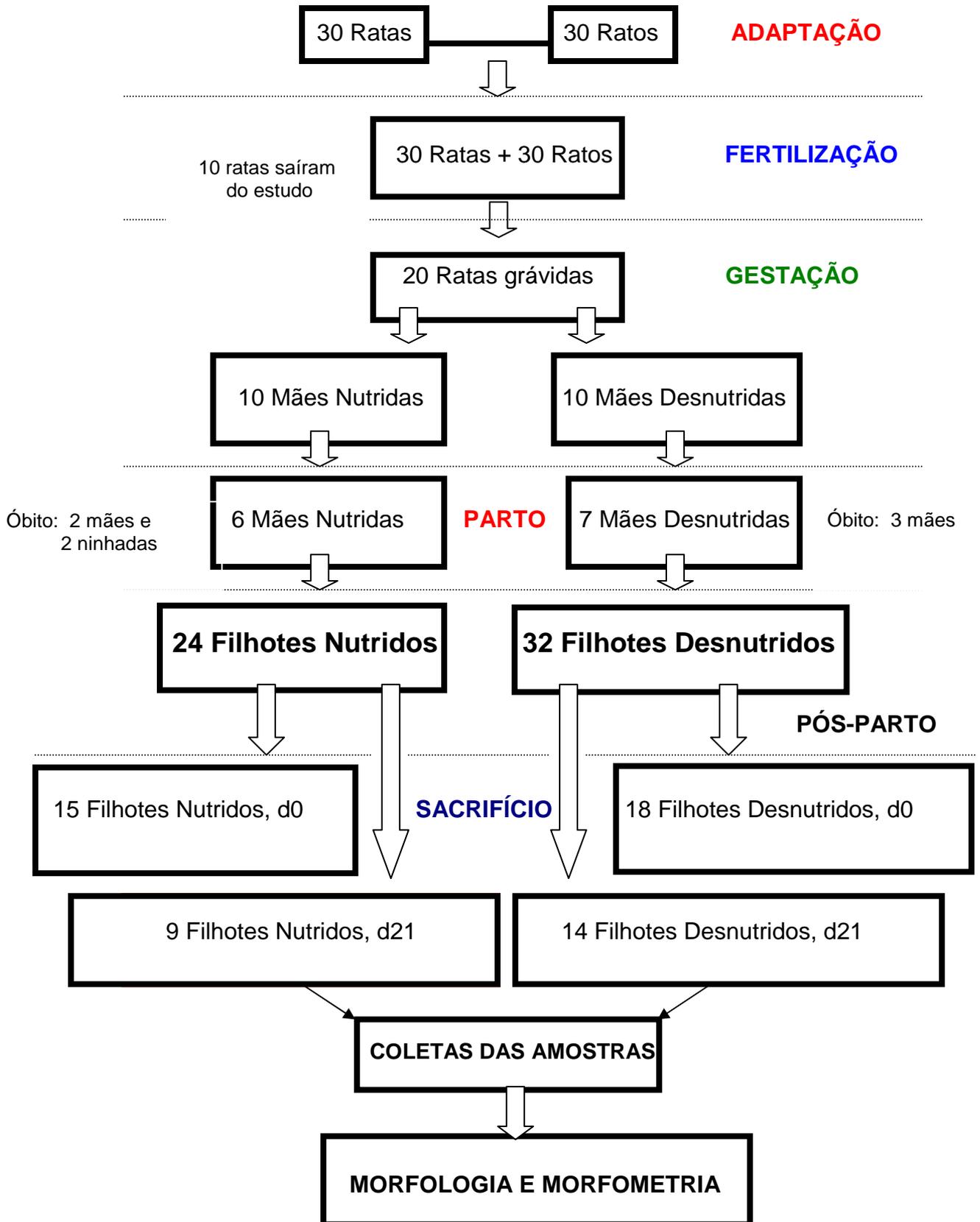
Entre os grupos de filhotes (GN e GD) em relação aos resultados de cada variável, adotou-se uma análise de variância considerando-se um modelo hierárquico. A transformação logarítmica ou a transformação raiz quadrada foi aplicada sobre os dados.

Na comparação dos grupos em relação à variável índice mitótico e contagem de células hematopoiéticas foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. A associação entre variáveis foi analisada estimando-se o coeficiente de correlação de Pearson. Em todos os testes, valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Para a análise das medidas do tamanho do núcleo dos hepatócitos e das áreas e densidade de esteatose, também foi empregado teste não paramétrico.

O peso das vísceras, bem como o comprimento do intestino, foram analisados testando-se a hipótese nula de que os valores encontrados no grupo nutrido são iguais aos do grupo desnutrido.

FIGURA 7 - FLUXOGRAMA DO EXPERIMENTO



5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

Os dados obtidos foram da análise de: 6 mães nutridas e 7 mães desnutridas, totalizando 24 filhotes nutridos e 32 filhotes desnutridos. Foram sacrificados ao nascimento (d0) 15 filhotes nutridos e 18 filhotes desnutridos e após o desmame (d21), 9 filhotes nutridos e 14 filhotes desnutridos (Apêndice 1).

5.1 ANÁLISE DAS MÃTRIZES

5.1.1 Controle do Peso

Início da Prenhez

Pode-se afirmar que não existe diferença significativa entre as mães de ambos os grupos, em relação ao peso inicial, como mostram a tabela 1 e o gráfico 2, onde o GN apresentou um peso médio de $224,7 \pm 15,24$ g e o GD um peso médio de $225,89 \pm 16,07$ g. Evidenciando que os grupos eram homogêneos em relação a este parâmetro ($p > 0,05$).

TABELA 1 - MÉDIA DE PESO DAS MATRIZES NO INÍCIO DA PREENHEZ, GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD)

Variável	GN Média ± dp	GD Média ± dp	Valor de p
Peso inicial (g)	$224,7 \pm 15,24$	$225,89 \pm 16,07$	0,648

FONTE: Apêndice 2. Tabela 1

A tabela (2) e o gráfico (2) evidenciam a evolução do peso corporal das mães nutridas e desnutridas, durante a gestação, constatando que o grupo nutrido apresentou acréscimo constante de peso, totalizando um ganho médio de $58,55g \pm 11,97g$. A instituição da desnutrição após o 6º dia da fecundação levou a três delas a perderem peso (em média $9,67g$) e as outras quatro a acrescentarem, em média $20,4g$ no final da gestação.

TABELA 2 - MÉDIA DO GANHO DE PESO DAS MÃTRIZES DURANTE A PREENHEZ, GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD)

Variável	GN Média \pm dp	GD Média \pm dp	Valor de p
Ganho de Peso (g) durante a prenhez	$58,55 \pm 11,97$	$10,27 \pm 8,59$	0,001

FONTE: Apêndice 2. Tabela 1

Final da Prenhez

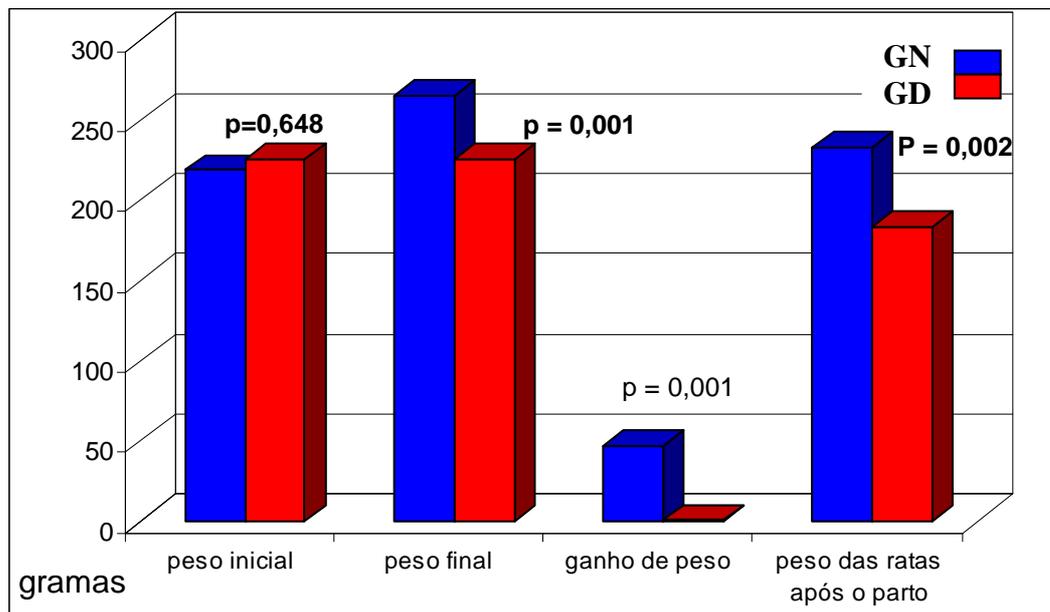
O peso médio no final da Prenhez foi de $283,25 \pm 15,86g$ para o GN e $236,17 \pm 12,55g$ para o GD, com $p=0,001$, estatisticamente, significativa. Os resultados estão sumarizados na tabela 3 e gráfico 2.

TABELA 3 – MÉDIA DO PESO DAS MATRIZES NO FINAL DA PREENHEZ,
NO GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD)

Variável	GN Média ± dp	GD Média ± dp	Valor de p
Peso final (g)	283,25 ± 15,86	236,17 ± 12,55	0,001

FONTE: Apêndice 2. Tabela 1

GRÁFICO 2 – ACOMPANHAMENTO DO PESO (MÉDIA) DAS MATRIZES
DURANTE A PREENHEZ, MOSTRANDO O NÍVEL DE
SIGNIFICÂNCIA (p)



FONTE: Apêndice 2. Tabela 1

Período de Lactação e Desmame

Durante a lactação, quando os dois grupos receberam dieta padrão *ad libitum*, houve recuperação do peso das mães do grupo desnutrido. A média de peso no desmame (d 21) foi de $259,42 \pm 7,88$ g para o GN e $246,28 \pm 25,04$ g para o GD, com $p=0,297$, documentado na tabela 4.

TABELA 4 - MÉDIA DE PESO DAS MATRIZES NO PERÍODO DO DESMAME (d21), GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD)

Variável	GN Média \pm dp	GD Média \pm dp	Valor de p
Peso lactação (g)	$259,42 \pm 7,88$	$246,28 \pm 25,04$	0,297

FONTE: Apêndice 2. Tabela 1

5.1.2 Número de Filhotes por Ninhada

Em ambos os grupos, a média do número de filhotes por ninhada foi semelhante, no grupo nutrido encontrou-se $7,66 \pm 1,5$ filhotes em cada ninhada e no grupo desnutrido, $9,14 \pm 3,44$ filhotes para cada ninhada, com $p=0,289$.

TABELA 5 – MÉDIA DO NUMERO DE FILHOTES POR NINHADA,
GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD)

Variável	GN Média ± dp	GD Média ± dp	Valor de p
Nº. filhotes	7,66 ± 1,5	9,14 ± 3,44	0,289

FONTE: Apêndice 2. Tabela 1

5.1.3 Mensuração da Albumina Sérica

O valor médio da concentração sérica da albumina coletada das mães ao nascimento dos filhotes, para o grupo nutrido foi de $2,38 \pm 0,05$ g/dl e $1,96 \pm 0,04$ g/dl para o grupo desnutrido, conforme mostrado na tabela 6. Sendo o valor considerado como normal entre 2,2 a 2,4g/dl. Estes valores diferentes encontrados entre os grupos, ($p= 0,0003$), confirmam a desnutrição das mães do GD.

TABELA 6 - VALORES MÉDIOS DA ALBUMINA SÉRICA, DAS MATRIZES
DO GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD)

Variável	GN Média ± dp	GD Média ± dp	Valor de p
Albumina (g/dl)	2,38 ± 0,05	1,96 ± 0,04	0,003

Fonte: Apêndice 1. Tabela 2

5.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS FILHOTES

5.2.1 Ao Nascimento (d0)

Peso Corporal e Peso das Vísceras Toraco-abdominais

Foram estudados 15 filhotes do GN e 18 filhotes do GD. A tabela (7) evidencia a diferença de peso corporal entre os grupos de filhotes. Para o GN a média de peso foi de $6,498 \pm 0,62$ e $4,573 \pm 0,75$ para o GD, com $p=0,0001$.

Os dados estatísticos confirmam os achados de que os filhotes do GD eram visivelmente menores que o GN, bem como o peso de algumas vísceras retiradas destes filhotes. O pâncreas e o timo dos filhotes do grupo desnutrido (GD) não apresentaram diferença de peso quando comparados com o grupo de filhotes do grupo nutrido (GN), ao nascimento.

TABELA 7 – MÉDIA DO PESO CORPORAL E DAS VÍSCERAS TORACO-ABDOMINAIS, FILHOTES GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Peso (g)	GN (d0)	GD (d0)	Valor de p
	Média±dp	Média±dp	
Corporal	$6,498 \pm 0,62$	$4,573 \pm 0,75$	0,0001
Fígado	$0,312 \pm 0,08$	$0,213 \pm 0,03$	0,001
Rins	$0,069 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,01$	0,001
Pâncreas	$0,03 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,01$	0,103
Pulmões	$0,126 \pm 0,01$	$0,086 \pm 0,01$	0,001
Coração	$0,048 \pm 0,008$	$0,028 \pm 0,008$	0,001
Timo	$0,014 \pm 0,006$	$0,012 \pm 0,004$	0,424

Fonte: Apêndice 1. Tabela 3

Comprimento do Corpo e Cauda e Comprimento do Intestino

A medida do corpo, em média, para o GN ao nascimento foi de $5,38 \pm 0,2$ cm e de $4,733 \pm 0,34$ cm para o GD, $p=0,0001$, comprovando estatisticamente que os filhotes do GD nasciam com tamanho menor que o GN. A cauda, em média foi de $1,48 \pm 0,2$ cm para o GN e $1,338 \pm 0,14$ cm para o GD, $p=0,157$, sem diferença estatística.

Já, o intestino, apresentou grande diferença em relação ao seu comprimento entre os grupos em estudo, em média $23,43 \pm 2,37$ cm para o GN e $17,861 \pm 2,51$ cm para o GD, com $p=0,0001$. Estes dados estão documentados na tabela 8.

TABELA 8 – MÉDIA DO COMPRIMENTO DO CORPO E CAUDA, DO COMPRIMENTO DO INTESTINO, FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

	GN (d0)	GD (d0)	
Comprimento (cm)	Média±dp	Média±dp	Valor de p
Corpo	$5,38 \pm 0,2$	$4,733 \pm 0,34$	0,0001
Cauda	$1,48 \pm 0,2$	$1,338 \pm 0,14$	0,157
Intestino	$23,43 \pm 2,37$	$17,861 \pm 2,51$	0,0001

FONTE: Apêndice 1. Tabela 4

5.2.2 No Desmame (d21)

Peso Corporal e Peso das Vísceras Toraco-abdominais

Foram estudados 9 filhotes do GN e 14 filhotes do GD. A tabela 9 mostra o peso dos filhotes e peso das vísceras de ambos os grupos, no 21º dia de vida,

quando foram sacrificados. Durante este período, suas mães receberam dieta sem restrição, e estes filhotes, leite da própria mãe.

A média de peso dos filhotes do GN foi de $51,374 \pm 5,55$ g e do GD de $41,287 \pm 10,64$ g, com $p=0,110$, observou-se que nesta fase do experimento ambos os grupos apresentavam pesos semelhantes, concluindo que o GD recuperou este parâmetro.

Em relação ao peso das vísceras, O fígado, em média pesou $2,637 \pm 0,19$ g para o GN e $2,050 \pm 0,42$ g para o GD ($p=0,016$). Os rins dos filhotes do GD pesaram, em média $0,678 \pm 0,09$ g e do GD, em média, $0,519 \pm 0,15$ g ($p=0,022$). Tanto o fígado quanto os rins dos filhotes do GD continuaram apresentando diferenças de peso significantes, independente da dieta recebida. Constatou-se que não houve recuperação nutricional destes dois parâmetros mesmo após a liberação da dieta. Os demais órgãos estudados como, pâncreas, pulmões, coração e timo, apresentaram pesos semelhantes após a lactação.

TABELA 9 – MÉDIA DE PESO CORPORAL E DAS VÍSCERAS TORACO-ABDOMINAIS, FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

Peso (g)	GN (d21) Média±dp	GD (d21) Média±dp	Valor de p
Corporal	$51,374 \pm 5,55$	$41,287 \pm 10,64$	0,110
Fígado	$2,637 \pm 0,19$	$2,050 \pm 0,42$	0,016
Rins	$0,678 \pm 0,09$	$0,519 \pm 0,15$	0,022
Pâncreas	$0,193 \pm 0,04$	$0,173 \pm 0,07$	0,941
Pulmões	$0,495 \pm 0,08$	$0,446 \pm 0,14$	0,935
Coração	$0,298 \pm 0,05$	$0,247 \pm 0,09$	0,647
Timo	$0,191 \pm 0,05$	$0,150 \pm 0,06$	0,235

FONTE: Apêndice 1. Tabela 5

Comprimento do Corpo e Cauda e Comprimento do Intestino

Para o GN, a média do comprimento do corpo encontrada foi de $12,255 \pm 0,82\text{cm}$ e $11,235 \pm 1,02\text{cm}$ para o GD, com $p=0,123$ e para o comprimento da cauda, a média foi de $6,388 \pm 0,25\text{cm}$ para o GN e $5,792 \pm 1,01\text{cm}$ para o GD, com $p=0,113$. Os valores, em média, para o comprimento do intestino foram de $79,477 \pm 23,67\text{cm}$ para o GN e $74,857 \pm 6,08\text{cm}$ para o GD, com $p=0,625$. Os resultados estão resumidos na tabela 10. Não houve diferença estatística nestes parâmetros analisados, constatando que houve recuperação nutricional.

TABELA 10 – MÉDIA DO COMPRIMENTO DO CORPO E CAUDA E DO INTESTINO, FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

	GN (d21)	GD (d21)	
Comprimento (cm)	Média±dp	Média±dp	Valor de p
Corpo	$12,255 \pm 0,82$	$11,235 \pm 1,02$	0,123
Cauda	$6,388 \pm 0,25$	$5,792 \pm 1,01$	0,113
Intestino	$79,477 \pm 23,67$	$74,857 \pm 6,08$	0,625

FONTE: Apêndice 1. Tabela 6,

5.3 ANÁLISE HISTO-MORFOMÉTRICA DO FÍGADO

5.3.1 Ao Nascimento (d0)

Contagem dos Ninhos Hematopoiéticos e Índice Mitótico

Para o grupo nutrido (GN), a média do número dos ninhos hematopoiéticos por lâmina de tecido hepático foi de $2,994 \pm 0,66$ e de $4,953 \pm 1,76$ para o grupo desnutrido (GD), com $p=0,001$, evidenciando que houve diferença entre os grupos, ou seja: as lâminas de tecido hepático dos filhotes do grupo desnutrido (GD) apresentaram um número maior de ninhos hematopoiéticos em relação ao grupo de filhotes nutridos (GN), ao nascimento.

A mesma diferença foi encontrada para a média do índice mitótico entre os grupos, $0,613 \pm 0,24$ para o GN e $2,888 \pm 1,17$ para o GD, com $p=0,0001$, estatisticamente significativa, registrado na tabela 11.

TABELA 11 – MÉDIA DOS NINHOS HEMATOPOIÉTICOS E ÍNDICE MITÓTICO, FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

	GN (d0)	GD (d0)	
Número	Média±dp	Média±dp	Valor de p
Ninhos Hematopoiéticos	$2,994 \pm 0,66$	$4,953 \pm 1,76$	0,001
Índice mitótico	$0,613 \pm 0,24$	$2,888 \pm 1,17$	0,0001

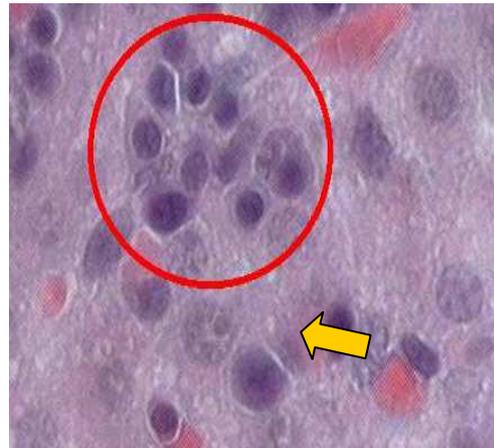
FONTE: Apêndice 1. Tabela 7.

FIGURA 8 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTES HISTOLÓGICOS DE TECIDO HEPÁTICO DE FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO. MOSTRANDO:
a) UM NINHO HEMATOPOIÉTICO (CÍRCULO VERMELHO) E
b) UMA CÉLULA EM MITOSE (SETA EM AMARELO). HE X20

a) GRUPO NUTRIDO- d0



b) GRUPO DESNUTRIDO- d0



Legenda: O número de ninhos hematopoiéticos nos filhotes do GD ao nascimento foi maior em relação ao GN, bem como a contagem de mitose.

Tamanho Nuclear dos Hepatócitos

Os valores médios das medidas do núcleo (área, comprimento e raio), foram estatisticamente menores no GD, como mostra a tabela 12 e figura 10.

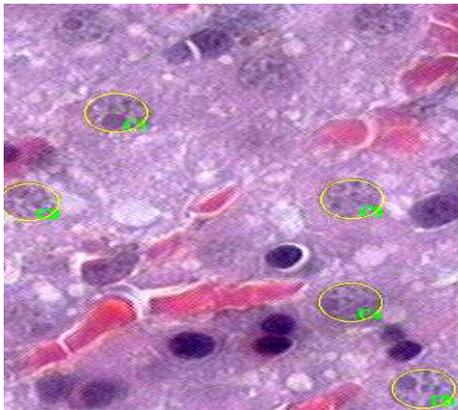
TABELA 12 – MÉDIA DAS MEDIDAS DO VOLUME NUCLEAR DOS HEPATÓCITOS, FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

Núcleo (μ)	GN (d0) Média \pm dp	GD (d0) Média \pm dp	Valor de p
Área	36,049 \pm 2,72	29,940 \pm 2,7	0,0001
Coprimento	21,39 \pm 0,93	19,354 \pm 0,87	0,001
Raio	3,38 \pm 0,12	3,044 \pm 0,23	0,01

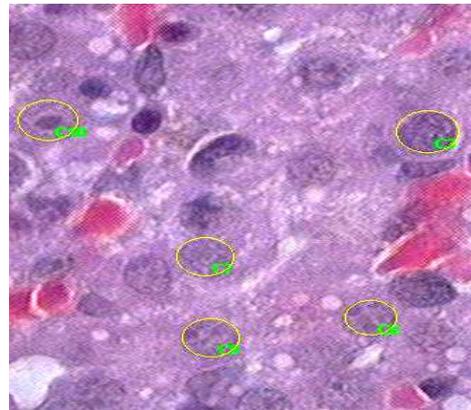
FONTE: Apêndice 1.Tabela 8

FIGURA 9 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTES HISTOLÓGICOS DE TECIDO HEPÁTICO MOSTRANDO O TAMANHO NUCLEAR, AO NASCIMENTO (d0). HE X20

a) GRUPO NUTRIDO - d0



b) GRUPO DESNUTRIDO - d0



Legenda: utilizando-se do programa morfometria computadorizada, o tamanho nuclear dos hepatócitos dos filhotes do grupo desnutrido (GD) apresenta-se menor quando comparado com os filhotes do grupo nutrido (GN), ao nascimento.

Esteatose hepática

O valor médio encontrado da área da esteatose para o GN, ao nascimento, foi de $41,182 \pm 7,63 \mu\text{m}$ e de $48,353 \pm 15,76 \mu\text{m}$ para o GD, com $p=0,069$, não significativo.

Para a densidade da esteatose, o valor médio foi de $0,116 \pm 0,23 \mu\text{m}$ para o GN e $0,138 \pm 0,09 \mu\text{m}$ para o GD, com $p=0,222$, também sem diferença significativa, ou seja, ambos os parâmetros (área e densidade da esteatose) não mostraram diferenças estatísticas entre os dois grupos (GN e GD), como demonstrado na tabela 13 e figura 11.

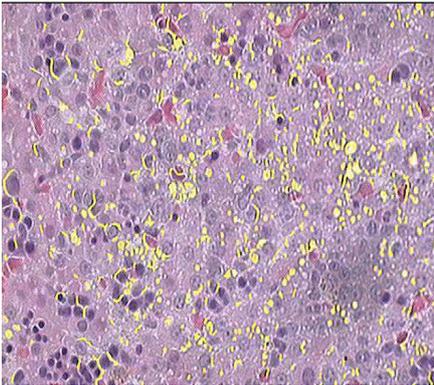
TABELA 13 – MÉDIA DA MEDIDA DA ÁREA E DENSIDADE DA ESTEATOSE HEPÁTICA, FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), AO NASCIMENTO (d0)

	GN (d0)	GD (d0)	
Esteatose (μ)	Média \pm dp	Média \pm dp	Valor de p
Área	$41,182 \pm 7,63$	$48,353 \pm 15,76$	0,069
Densidade	$0,116 \pm 0,23$	$0,138 \pm 0,09$	0,222

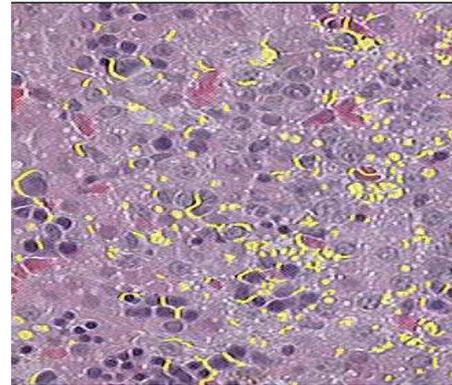
FONTE: Apêndice 1.Tabela 9

FIGURA 10 – FOTOMICROGRAFIA DE CORTES HISTOLÓGICOS DE TECIDO HEPÁTICO MOSTRANDO A ÁREA E DENSIDADE DA ESTEATOSE. AO NASCIMENTO (d0). HE X20

a) GRUPO NUTRIDO - d0



b) GRUPO DESNUTRIDO – d0



Legenda: utilizando-se do programa morfometria computadorizada a densidade e a área de esteatose em ambos os grupos de filhotes (GN e GD), ao nascimento (d0), apresentaram-se semelhantes.

5.3.2 No Desmame (d21)

Contagem dos Ninhos Hematopoiéticos e Índice Mitótico

Não foram encontradas células hematopoiéticas nas lâminas de tecido hepático nesta fase do experimento em ambos os grupos (GN e GD).

Tamanho Nuclear dos Hepatócitos

A média dos valores do tamanho nuclear como, área, perímetro e raio, foram menores no GD, como expostos na tabela 14. Pode-se concluir ao nível de significância de 5%, que houve diferença estatística entre os dois grupos com

relação ao tamanho nuclear, constatando que não houve recuperação deste parâmetro após a lactação.

TABELA 14 – MÉDIA DO TAMANHO NUCLEAR DOS HEPATÓCITOS, FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

Núcleo (μ)	GN (d21) Média \pm dp	GD (d21) Média \pm dp	Valor de p
Área	36,372 \pm 3,12	30,355 \pm 2,92	0,012
Comprimento	21,319 \pm 0,94	19,5 \pm 0,92	0,012
Raio	3,392 \pm 0,15	3,092 \pm 0,16	0,014

FONTE: Apêndice 1.Tabela 10

Esteatose hepática

Os valores médios encontrados em relação à esteatose hepática (área e densidade) não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos (GN e GD), no período de desmame, como mostra a tabela 15.

TABELA 15 – MÉDIA DA ESTEATOSE HEPÁTICA,
FILHOTES DO GRUPO NUTRIDO (GN) E
GRUPO DESNUTRIDO (GD), NO DESMAME (d21)

	GN (d21)	GD (d21)	
Esteatose (μ)	Média \pm dp	Média \pm dp	Valor de p
Área	43,122 \pm 11,64	43,701 \pm 15,7	0,318
Densidade	0,137 \pm 0,01	0,131 \pm 0,03	0,222

FONTE: Apêndice 1.Tabela 11

6. DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

6.1 O MODELO DE DESNUTRIÇÃO EMPREGADO

O modelo experimental empregado neste estudo foi baseado na restrição energética materna, onde o fornecimento da ração é reduzido em relação ao grupo controle (LEDERMAN; ROSSO, 1980 / YOUNG; LEE; LEBENTHAL, 1987 / FIRMANSYAH; SUWANDITO; PENN, 1989; LEMOS, 2002 / GURMINI, 2004).

Utilizou-se a ração padrão, com concentração protéica fixa de 22%, reduzindo o fornecimento da dieta em 50% do ingerido pelo grupo nutrido, com cálculo diário, durante o período gestacional. A média de ração consumida pelo grupo nutrido durante toda a gestação foi de 22,47g e pelo desnutrido 11,23g. Ao diminuir o volume total do alimento ofertado, conseqüentemente também fica reduzido o teor protéico, levando a uma desnutrição protéico-energética.

Com esse modelo de desnutrição, que tenta reproduzir a desnutrição que ocorre em populações carentes, podemos avaliar a desnutrição materna e suas conseqüências.

Durante a lactação as mães foram alimentadas com ração padrão, normocalórica *ad libitum*, para avaliar a recuperação nutricional dos filhotes. Em alguns trabalhos, foram documentadas mortes das crias quando se mantinha um padrão alimentar restritivo, quer por negligência ou canibalismo praticado pelas progenitoras.

LEMOS (2002) e GURMINI (2004) em seus estudos, empregaram o modelo de desnutrição iniciado na 2ª semana do acasalamento e confirmaram a influência negativa sobre o ganho de peso materno, redução do peso dos filhotes e alterações no intestino delgado, quando do nascimento. Após o parto as mães foram alimentadas com dieta adequada e verificaram que alguns parâmetros não se recuperaram.

Neste estudo foi iniciada a restrição dietética após a confirmação da gestação, ou seja, no 6º dia após o acasalamento até o parto.

Outros modelos de estudos, como a desnutrição instituída durante todo o período gestacional ou só na segunda metade da gestação, podem provocar os maiores efeitos sobre o conceito quando comparadas à desnutrição apenas na primeira metade (TONETE et al., 1983a / TONETE et al., 1983b / PATRÍCIO; NÓBREGA; TONETE, 1984).

6.3 ANÁLISE DAS MATRIZES

6.3.1 Controle de Peso

Antes do acasalamento não houve diferença significativa quanto ao peso inicial das ratas, sendo, portanto, a amostra considerada homogênea. No final da gestação o grupo de ratas com restrição dietética apresentou resultados estatisticamente menores, sendo que o peso em algumas ratas do grupo desnutrido no final da gestação chegou a ser menor que o inicial. Os resultados com relação ao peso materno foram semelhantes aos da publicação de TONETE et al. (1983a) que verificaram a influência da desnutrição protéico-calórica em determinados períodos gestacionais. O grupo desnutrido durante toda a gestação foi o que mais sofreu conseqüências, chegando a perder peso durante a gestação, seguido pelo grupo desnutrido na segunda metade da gestação, onde as ratas ganharam apenas 37% do peso observado nos controles.

No experimento realizado, a média do número de filhotes que nasceram por ninhada foi semelhante nos dois grupos (GN=GD). Concordando com o experimento de ZEMAN (1967) que mostrou os efeitos da restrição protéica (6% de proteína) da dieta materna sobre os filhotes, mantinha o número de filhotes por ninhada, porém os filhotes tiveram uma média de peso corporal menor, bem como um tempo de vida média reduzido.

Para YOUNG e RASMUSSEN (1985) que estudaram os efeitos dos diferentes graus de restrição dietética sobre a reprodução e lactação, o número semelhante de filhotes entre ninhadas de mães nutridas e desnutridas pode ser

explicado pela ocorrência da restrição dietética apenas durante a gestação, e não desde o período que antecede a idade reprodutiva. No referido trabalho foi encontrado um número menor de filhotes por ninhadas somente no grupo de ratas mães que haviam sofrido restrição dietética (40% e 50% em relação ao grupo controle) antes do acasalamento.

6.3.2 Dosagem da Albumina Sérica

A albumina é a proteína mais secretada pelo fígado, e sua síntese está diminuída em várias condições clínicas, principalmente na desnutrição (MANARY; HART; WHYTE, 1998 / FISBERG, 1998 / CARRAZA, 1999).

No presente estudo, a mensuração da concentração sérica da albumina nas ratas prenhas do grupo desnutrido foi menor ($1,96 \pm 0,04$ g/dl), em relação ao grupo nutrido ($2,38 \pm 0,05$ g/dl), confirmando a desnutrição materna durante a gestação ($p=0,0003$). Concordantes com os achados descritos por LOPEZ et al. (1983) que encontrou níveis mais elevados em ratas nutridas prenhas quando comparados com ratas desnutridas, prenhas. Corroborando com estes achados, LEMOS (2002) empregou o modelo de desnutrição comparando os valores da albumina sérica materna coletados no final da gestação, entre o grupo nutrido e desnutrido. O grupo desnutrido apresentou valores séricos menores em relação ao grupo nutrido, contribuindo para confirmar a desnutrição materna, antes do nascimento dos filhotes.

6.4 ANÁLISE DOS FILHOTES

6.4.1 Variáveis Macroscópicas

Comprimento do corpo e cauda

Foi observado neste experimento que, ao nascimento, os filhotes do grupo de mães que fora submetido à restrição dietética apresentavam não só o peso, mas,

também, o comprimento do corpo menor em relação ao grupo nutrido, concordando com a literatura (ZEMAN, 1967; HUGHES e TANNER, 1970).

WEAVER et al. (1998) estudando desnutrição durante o período gestacional, encontraram filhotes com peso menor ao nascimento, no grupo de mães com restrição dietética quando comparados com grupo de mães adequadamente alimentadas.

O comprimento da cauda dos filhotes de ambos os grupos, nos dois tempos do sacrifício, ao nascimento e após o desmame, não apresentou diferença de tamanho. Há poucos relatos na literatura em relação a esta variável.

No presente estudo, o peso e o comprimento corporal dos filhotes que foram submetidos à restrição alimentar a partir da segunda semana de gestação, com a lactação, apresentaram recuperação destes parâmetros.

PATRÍCIO, NÓBREGA e TONETE (1984) acompanharam filhotes de ratas submetidas à restrição dietética na gestação e o grupo de filhotes de mães desnutridas que não apresentou recuperação nutricional após a lactação foi aquele cuja restrição dietética durou todo período gestacional. Concordantes com esse experimento, YOUNOSZAI e RANSHAW (1973) alimentaram filhotes de mães que foram submetidas à restrição alimentar durante a gestação, mas que foram alimentados com leite de mães que receberam dieta com quantidade adequada de proteína, ao final da lactação, o peso foi semelhante entre os grupos. No experimento de LEMOS (2002) sobre desnutrição intra-uterina e cicatrização da parede abdominal, os produtos do grupo desnutrido foram menores ao nascimento tanto no peso quanto no comprimento corporal, em relação ao grupo nutrido. No 7º dia de vida, enquanto eram alimentados com leite da própria mãe, não houve diferença no comprimento do corpo, já o peso manteve-se menor até o 14º dia de vida, revelando uma recuperação mais rápida do comprimento corporal. Após o desmame (21º dia de vida), tanto o peso como o comprimento corporal foram semelhantes em ambos os grupos.

Comprimento do Intestino

O comprimento do intestino no experimento realizado foi estatisticamente menor no grupo de filhotes de matrizes submetidas à restrição dietética ao nascimento.

GUTIÉRREZ et al. (1988) ao estudarem os efeitos da restrição dietética materna durante a gestação sobre o desenvolvimento e funcionamento do intestino delgado, obtiveram maiores comprimentos de intestinos ao nascimento nos controles do que nos desnutridos.

YOUNG, LEE e LEBENTHAL (1987) estudaram os efeitos da restrição alimentar durante a gestação e lactação sobre os órgãos digestivos. Após o nascimento, alguns filhotes foram trocados e amamentados por ratas mães nutridas e os demais permaneceram com suas respectivas progenitoras, formando 4 grupos de estudo. No vigésimo dia de vida o grupo de filhotes de mães com restrição alimentar na gestação e lactação apresentou o menor comprimento de intestino, seguido do grupo de filhotes de mães com restrição dietética na gestação e amamentados pelas mães nutridas. Os outros dois grupos formados por filhotes de mães nutridas na gestação e amamentados ou por mães com restrição dietética ou por mães nutridas apresentaram valores superiores aos dois primeiros, sugerindo a importância do fator nutrição durante a formação intra-uterina.

WEAVER et al. (1998) analisaram o comprimento intestinal no vigésimo primeiro dia de vida e concluíram que os piores resultados foram encontrados no grupo de filhotes de mães com restrição proteica durante a gestação e lactação, seguidos pelo grupo formado por filhotes de mães sem restrição proteica na gestação, mas com restrição na lactação.

No atual trabalho o comprimento do intestino após o desmame se mostrou semelhante ao grupo de filhotes adequadamente nutridos, constatando que houve recuperação nutricional com a lactação, concordando com o relato de BOZA e col. (1999) que a realimentação restaura rapidamente a morfologia e função do intestino, reverte a atrofia vilositária e normaliza a permeabilidade intestinal, em ratos.

Peso dos Órgãos

Os filhotes do grupo desnutrido apresentaram menores pesos das vísceras tóraco-abdominais, ao nascimento, com exceção do pâncreas e timo.

OLUSI e McFARLANE (1976) documentaram o efeito da desnutrição intra-uterina ou perinatal em ratos recém-nascidos, demonstrando a redução de peso corporal, diminuição do peso do baço, timo, fígado, cérebro, rins, pulmões, coração, globo ocular e glândula adrenal. O cérebro e o timo foram os mais severamente afetados.

O pâncreas e o timo apresentaram pesos semelhantes em ambos os grupos nutridos e desnutridos, que pode ser explicado pela imposição da desnutrição em períodos diferentes da vida intra-uterina. Os tamanhos dos órgãos podem ser semelhantes, porém podem apresentar alterações específicas sobre eles (BARKER, 1998).

Baseado nos autores SASTRE (1996) e WYNNE (1989) o baixo peso do fígado encontrado nos filhotes cujas mães foram submetidas à restrição calórica durante a gestação, pode ser explicado pela menor velocidade de regeneração hepática, por menores níveis circulantes dos fatores hepatotróficos, diminuição da síntese hepática de proteínas, decréscimo na renovação de proteínas hepáticas, comprometimento da conversão de α -amino nitrogênio em uréia nitrogenada. Corroborando para o encontro de vísceras mais leves em relação aos controles, os autores citam o papel dos carboidratos para a produção de energia, que nos desnutridos poderá estar diminuída (BECKER, 1998).

Após a lactação, os filhotes grupo desnutrido apresentaram peso das vísceras tóraco-abdominais semelhantes ao do grupo de filhotes nutridos, com exceção do fígado e rins.

OLUSI e McFARLANE (1976) com relação ao timo, mesmo depois de instituída a alimentação para a correção da desnutrição, a resposta imune, celular e humoral mantinham-se diminuídas apesar da recuperação da histologia e do peso do órgão, após o 4º mês do nascimento dos filhotes desnutridos, quando comparados com o grupo nutrido. O autor conclui que o timo é o “barômetro” da desnutrição.

6.4.2 Análise Histo-Morfométrica do Fígado

A opção pelos parâmetros a serem medidos, objetivas utilizadas na microscopia e número de observações para cada parâmetro foi baseado nos estudos da literatura envolvendo desnutrição intra-uterina e alterações hepáticas (OLUSI e McFARLANE, 1976 / SUBRAMONIAM, 1978 / LEBENTHAL, 1988)

Hematopoiese Hepática

Embora a hematopoiese hepática comece a declinar no 5º mês de vida intra-uterina, ainda persiste até algumas semanas após o nascimento (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1985). A hematopoiese hepática foi mais marcante nas crias cujas mães sofreram restrição alimentar durante a gestação, quando comparadas com o grupo nutrido, quando do sacrifício ao nascimento. Isto pode confirmar que a desnutrição intra-uterina pode causar insultos durante esta fase, levando ao baixo peso dos órgãos e prolongamento da hematopoiese hepática, além do nascimento.

A hematopoiese é vista como um marcador de sofrimento fetal intra-uterino, o que poderia explicar a sua presença em maior quantidade no grupo desnutrido (COLLINS, COTRAN, KUMAR, 2000).

No presente estudo, raros ninhos Hematopoiéticos foram encontrados no tecido hepático quando do sacrifício aos 21 dias do nascimento, tanto no grupo nutrido como no grupo desnutrido, concordando com a literatura que em tecidos normais este achado não perdura além do nascimento (COLLINS, COTRAN, KUMAR, 2000).

Índice Mitótico

A média do número de mitoses no grupo de filhotes desnutridos ao nascimento, foi estatisticamente maior em relação ao grupo nutrido, demonstrando

que quanto maior a agressão sofrida no período intra-útero, maiores serão as respostas histológicas e bioquímicas de proliferação celular. Estas injúrias poderão ser sentidas ao longo da vida, mesmo após a recuperação de outros parâmetros (BARCKER, 1998). Após a lactação, em nosso estudo, o número de mitoses encontrados no tecido hepático em ambos os grupos nutridos e desnutridos praticamente foi zero, demonstrando que houve recuperação após a lactação. É interessante salientar que mesmo com o peso do fígado estatisticamente menor no grupo desnutrido neste período, o índice mitótico se assemelha ao grupo nutrido, indicando proliferação celular normal para esta fase.

Tamanho Nuclear dos Hepatócitos

No presente estudo, o tamanho nuclear dos hepatócitos (área, densidade e comprimento) foi menor no grupo de filhotes cujas mães foram submetidas à restrição alimentar, provavelmente pelo menor tamanho da víscera. Concordante com o experimento de TIRAPEGUI e De ANGELIS (1985) que ao analisarem filhotes de ratas prenhas submetidas à desnutrição constataram que a quantidade de DNA e RNA era menor nos filhotes do grupo que fora submetido a desnutrição do que no grupo controle.

Após o desmame, o tamanho nuclear permaneceu menor no grupo de filhotes cujas mães sofreram restrição alimentar concordantes com os mesmos autores já citados, provavelmente as alterações de RNA e DNA impostas pela desnutrição, foram suficientemente capazes de alterar o tamanho nuclear, aferido pelo método utilizado neste estudo.

Esteatose Hepática

Na análise da área da esteatose hepática não encontramos diferenças em ambos os grupos nutridos e desnutridos, nos dois períodos do sacrifício, ao nascimento e no desmame.

A desnutrição instituída durante todo o período gestacional e na segunda metade da gestação, pode provocar os maiores efeitos sobre o concepto quando comparadas à desnutrição apenas na primeira metade da gestação (TONETE et al.,1983a / TONETE et al., 1983b / PATRÍCIO; NÓBREGA; TONETE, 1984).

Neste estudo, a restrição alimentar das ratas prenhas teve início no 6º dia após o acasalamento. A fecundação pode ter ocorrido entre o 1º e o 6º dia do acasalamento, apesar de encontrarmos níveis séricos mais baixos de albumina, confirmando a desnutrição, a graduação da mesma está diretamente relacionada com a intensidade de depósito de gordura nos hepatócitos no grupo dos filhotes desnutridos.

Este método não foi um bom marcador de esteatose, pois outras estruturas com densidade próxima a zero (0), entre 0 e 1, podem ser interpretadas como áreas opticamente vazias (com passagem completa de luz) e serem demarcadas pelo programa.

Na microscopia óptica os cortes histológicos de tecido hepático corados pela H-E apresentaram maior quantidade de esteatose no grupo de filhotes desnutridos, sacrificados ao nascimento. Método este de caráter subjetivo, que pode ser padronizado, mas que não entrou no objetivo deste trabalho.

6.5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

É provável que as crianças que tiveram baixo peso ao nascimento estejam sujeitas a maior risco dos impactos socioeconômicos na infância e vida adulta. O aleitamento materno e a introdução, em tempo oportuno, de alimentos apropriados, talvez possam atenuar os efeitos da desnutrição infantil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Considerando que o processo aterosclerótico começa na infância, parece apropriado iniciar a prevenção e o tratamento o mais rápido possível. Modificações na dieta e comportamento da criança só se tornarão viáveis se houver mudanças no hábito alimentar e no estilo de vida de toda família (OLIVEIRA; ESCRIVÃO, 2001).

Fica evidente que um pré-natal adequado, de maneira a prevenir recém-nascidos de baixo peso e/ou prematuros, a manutenção do aleitamento materno e a suplementação medicamentosa, se for necessária, são fatores que contribuem para o nascimento de crianças saudáveis (QUEIROZ, 2001).

7. CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Conclusão geral:

Baseado nos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que houve confirmação da hipótese formulada de que o fígado, entre outros órgãos, de filhotes de ratas que sofreram privação nutricional durante o período gestacional sofre alterações, e que mesmo após o período de lactação, não ocorre a recuperação.

Conclusões específicas:

1. A restrição dietética sofrida pelas ratas durante a gestação tem influência negativa sobre o ganho de peso materno ao longo da prenhez e não altera o número de filhotes nas ninhadas;

2. Filhotes de ratas que sofreram restrição alimentar durante a gestação apresentam menor peso e comprimento corporal, menor comprimento do intestino e órgãos toraco-abdominais mais leves, ao nascimento.

Filhotes recém-nascidos de ratas que sofreram privação nutricional durante a gestação, mas que receberam leite da própria mãe até o desmame, apresentaram recuperação somente de parâmetros antropométricos, com exceção do fígado e rins.

3. No fígado de recém-nascidos de ratas desnutridas durante a prenhez a intensidade da hematopoiese hepática é mais marcante e o índice mitótico é maior, nos dois períodos de pesquisa, ao nascimento e no período de desmame, demonstrando que, apesar da lactação os insultos persistiram.

O tamanho do núcleo dos hepatócitos é menor no grupo de filhotes de ratas que receberam dieta hipoprotéica durante a prenhez. Apesar da lactação não houve recuperação.

O grau de esteatose hepática se apresentou constante entre os filhotes de ambos os grupos, nutridos e desnutridos e nos dois períodos analisados, nascimento e desmame.

8. REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

ALVAREZ, C.; MARTIN, M. A.; GOYA, L.; BERTIN, E.; PORTHA, B.; PASCUAL-LEONE, A.M.; Contrasted impact of maternal rat food restriction on the fetal endocrine pancreas. **Endocrinology**, v. 138, p. 2267-73, 1997.

ALTSHULER, G.; RUSSEL, P.; ERMOCILLA, R. The placental pathology of small-for-gestational age infants. **Am J Obstet Gynecology**, v. 121, p. 51-359, 1975.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Breastfeeding and the use of human milk. **Pediatrics**, v. 115, p. 496-506, 2005.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, COMMITTEE ON DRUGS. The transfer of drugs and other chemicals into human milk. **Pediatrics**, v. 108, p. 776-89, 2001.

ANGUITA, R.M.; SIGULEM, D.M., SAWAYA, A.L. Intrauterine food restriction is associated with obesity in young rats. **J Nutr.**, v. 123, p. 1421-1428, 1993.

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

BARROS, F. C.; DIAZ-ROSSELLO, J.L. Redes multicêntricas e a qualidade da atenção neonatal. **J. Pediatr.**, v. 80, p. 254-256, 2004.

BARROSO, J. B.; GARCIA SALGUERO, J.; HIGUERA, M.; LUPIANEZ, J. A. The influence of dietary protein on the kinetics of NADPH production systems in various tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**. v. 124, p. 47-59, 1994.

BARBOSA, A.D.M.; KOPELMAN, B.I.; AMANCIO, O.M.S. et al. Alterações de peso tecidual e histológica em ratas gestantes submetidas à desnutrição e ao stresse crônico de nicotina, e em seus recém-nascidos. **J Pediatr**, v.71, p.145-150, 1995.

BARNESS, Nelson Tratado de Pediatria. Capítulo 41.1 **Aleitamento Materno**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 2000, p. 1-9.

BARNESS, LEWIS. **Manual de Nutrição Pediátrica**. In: Comitê de Nutrição. Academia Americana de Pediatria. 3. ed., São Paulo: Pharmapress Edições Ltda,1992. p 205-206.

BATAGLIA, F.C.; LUBCHENKO, L.O. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. **J. Pediatr.**, v. 71, p. 159-63, 1967.

BATISTA FILHO, M. Nomenclatura e classificação da desnutrição: 1ª parte. **J. Pediatr.**, v. 41, p. 45-51, 1976.

BECHER, M. C breath tests for measurement of liver function. **Gut**, v. 43 (3 Suppl.), p. S25, 1998.

BEHRMAN, R. O campo da pediatria- uma visão geral. **Nelson Tratado de Pediatria**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 2000, p. 1-9.

BRIGHAM, H.E.; SAKANASHI, T.M.; RASMUSSEN, K.M. The effect of food restriction during the reproductive cycle on organ growth and milk yield and composition in rats. **Nutr. Res.**, v. 12, p. 845-856, 1992.

BROSIUS, K.K.; RITTER, D.A.; KENNY, J.D. Postnatal growth curve of the infant with extremely low birth weight who was fed enterally. **Pediatrics**, v. 74, p. 778-782, 1984.

BURR, M.I. Particular diets and cardiovascular risk. **Bibl. Nutr. Dieta**, v. 49. p. 102-110, 1992.

CALDWEL, M. Normal nutritional requirements. **Surg. Clin. North. Am.**, v. 61, p. 489-507, 1981.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. Bioestatística: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed, 2003.

CAMELO Jr, J.S.; MARTINEZ, F.E. Dilemas nutricionais no pré-termo extremo e repercussões na infância, adolescência e vida adulta. **J. Pediatr.**, v. 81, (1 Supl), p. 33S-42S, 2005.

CARRAZA, F.R. Desnutrição. In: MARCONDES, E. **Pediatria Básica**. 8. ed., São Paulo: Ed. Savier, 1999. v. 1. p. 635-641.

CHOW, B.F.; LEE, C.J. Effect of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring. **J. Nutr.**, v. 82, p. 10-18, 1964.

COLLINS, T.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. **Patologia funcional e estrutural**. 6. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

COOK, M.J. **Anatomy of the laboratory mouse**. London: The academic press, 1965. p. 58.

CRAWFORD, A. R.; CRAWFORD, J. M. The normal adult human liver biopsy: a quantitative reference standard. **Hepatology**, v. 28, p. 323, 1998.

- CROSBY, W. M. Studies in fetal malnutrition. **AJDC**, v. 145, p. 871-877, 1991.
- CURRAN, J.S.; BARNES, L.A. **Aleitamento materno**. Nelson Tratado de Pediatria. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 2000, p. 151-54.
- DALÇIK, C.; FILIZ, S.; FILIZ, M.; DALÇIK, H. Immunohistochemical analysis of neural cell adhesion molecule (N-CAM) and pan-cadherin in the small intestine of intrauterine growth-retarded newborn rats caused by maternal protein malnutrition. **Acta Histochem.**, v. 105, n. 2, p. 183-190, 2003.
- DUBOWITZ, L. M. S.; DUBOWITZ, V.; GOLDBERG, C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. **J, Pediatr.**, v. 77, n. 1, p. 1-10, 1970.
- FAGUNDES, D.J.; TAHA, M.O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 59-65, 2004.
- FALCÃO C.F. Desafios da nutrição no primeiro ano de vida. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, v. 18, p. III-IV, 2003.
- FALCÃO, M.C.; CARDOSO, L.E.M.B. Avaliação e monitorização nutricional. In: FEFERBAUM, R.; FALCÃO, M.C. **Nutrição do recém-nascido**. São Paulo: Editora Atheneu; 2003. p. 55-66.
- FALCÃO, M.C. Avaliação e terapia nutricional do recém nascido. In: LOPEZ, F.A.; BRASIL, A.L.D. **Nutrição e dietética em clínica pediátrica**. São Paulo: Editora Atheneu; 2003. p. 37-51.
- FERREIRA, M. A. M.; CARNEIRO, P. C. A. Aspectos Morfológicos do Cólon de Ratos Wistar. **Rev. de Gastroenterologia**, v. 36(1), p. 6-8, 1998.
- FIRMANSYAH, A.; SUWANDITO, L.; PENN, D.; LEBENTHAL, E. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 50, p. 261-268, 1989.
- FISBERG, M. Desnutrição pós-natal: aspectos clínicos e laboratoriais. In: NÓBREGA, F. J. **Distúrbios da nutrição**. Rio de Janeiro: Ed. Revinter, 1998. p. 140-144.
- GALLER, J.R.; ZARTARIAN, G. reproductive performance in rats with different histories of malnutrition. **Br. J. Nutr.**, v. 45, p. 251-255, 1981.
- GIUGLIANI, E. R. J. Problemas comuns na lactação e seu manejo. **J. Pediatr.**, v. 80, (5 Supl), p. S147-S154, 2004.
- GODFREY, K.M.; BARKER, D.J. Fetal programming and adult health. **Public. Health. Nutr.**, v. 4, n. 2, p. 611-624, 2001.

GOLDHAGEN, J. Saúde infantil no mundo em desenvolvimento. In: _____. **Nelson Tratado de Pediatria**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 2002, p. 11-14.

GOMEZ, F. Desnutrición. **Bol. Med. Hosp. Inf. Mex.**, v. 3, n. 4, p. 543-551, 1946.

GOULART, E.M.A. Avaliação nutricional infantil no software EPI-INFO (versão 6.0), considerando-se a abordagem coletiva e a individual, o grau e o tipo de desnutrição. **J. Pediatr.**, v. 73, n. 4, p. 225-230, 1997.

GURMINI, J. **Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação**. Curitiba, 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), PUC-Pr.

GUTIÉRREZ, J.M.; ALVAREZ-ORDÁZ, I.; FERNANDÉZ, S.; MARIM, B.; MENENDÉZ-PATTERSON, A. Efectos de la malnutrición in útero y em la lactancia sobre diversos parâmetros Del intestino delgado de rata. **Revista Espanhola de Fisiologia**, v. 44, n. 4, p. 413-422, 1988.

HARKNESS, JE. Ratos. In: _____. **Biologia e clínica de coelhos e roedores**. 1ª ed. São Paulo: Roca, 1993. p. 48-55.

HOLMAN, R.L. Atherosclerosis: a pediatric nutrition problem. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 9, p. 565-569, 1961.

HOLMAN, R.L.; MCGILL JR, H.C.; STRONG, J.P.; GEER, J.C. The natural history of atherosclerosis; the early aortic lesions as see in New Orleans in middle of the 20th century. **Am. J. Pathol.**, v. 34, p. 209-235, 1958.

HUGGES, P.C.R.; TANNER, J.M. A longitudinal study of the growth of of the black-hooded rats: methos of measurement and rates of growth for skull, limbs, pelvis, nose-rump and tail lengths. **J. Anat.**, v. 106, n. 2, p. 349-370, 1970.

INGELFINGER, J.R.; WOODS, L.L. Perinatal programming, renal development, and adult renal function. **Am. J. Hypertens.**, v. 15, p. 46-49, 2002.

IYENGAR, G.V.; NAIR, P.P. Global Outlook on nutrition and the environment: meeting the challenges of the next millennium. **The Science of the Total Environment.**, v. 249, p. 331-346, 2000.

JARVIS, S.; GLINIANAIA, S. V.; ARNAUD, C.; FAUCONNIER, J.; JOHNSON, A.; McMANUS, V.; TOPP, M.; UVEBRANT, P.; CANS, C.; KRAGELOH-MANN, I.; Case gender and severity in cerebral palsy varies with intrauterine growth. **Arch. Dis. Child.**, v. 90, p. 474-479, 2005.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Hematopoiese hepática**. In _____. **Histologia básica**, 6ª ed., Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S.A., 1985, p. 253-269.

KING, J. C.; Sachet. P. Preface. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71S, p. 1217S, 2000.

KLIEWER, R.L.; RASMUSSEN, K. M. Malnutrition during the reproductive cycle: effects on galactopoietic hormones and lactation performance in the rat. **Am. J. Clin. Nutr.** , p. 926-935, 1987.

LABBOK, M.H. Effects of breastfeeding on the mother. **Pediat. Clin. North. Am.** v. 48, p. 143-58, 2001.

LANGLEY-EVANS, S.; JACKSON, A. Intrauterine programming of hypertension: nutrient-hormone interactions. **Nutr. Rev.**,v. 54, p. 163-169, 1996.

LEDERMAN, A.S.; ROSSO P. Effects of food restriction on fetal and placental growth and maternal body composition. **Growth**, v. 44, n. 2, p. 77-88, 1980.

LEMONS, I.C.M.C. **Influência da desnutrição intra-uterina na cicatrização da parede abdominal de ratos lactentes avaliada mediante estudo tensiométrico e da morfometria do colágeno.** Curitiba, 2002. 88 f. Dissertação (Doutorado em Cirurgia) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

LUCAS, A. Role of nutritional programming in determining adult morbidity. **Arch Dis Child.**, v. 71, p. 288-290, 1994.

LUCAS, A.; COLE, T.J. Breast milk and necrotizing enterocolitis. **Lancet**, v. 336, p. 1519-23, 1990.

MANI, S.; DUFFY, P. Anemia of pregnancy. **Clin. Perinatal**, v. 22, p. 593-608, 1995.

MANARY, M. J.; HART, C. A.; WHYTE, M. P. Severe hypophosphatemia in children with kwashiorkor is associated with increased mortality. **J. Pediatr.**, v. 133, p. 789, 1998.

MARSAL, K.; PEARSON, P.H.; LARSEN, T.; LILJA, H.; SELBING, A.; SULTAN, B. Intra-uterine growth curves based on ultrasonically estimated foetal weights. **Acta Paediatr.**, v. 85, p. 843-8, 1996.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia alimentar para crianças menores de dois anos. In: _____. **Informação para a saúde**, Brasília : Ministério da Saúde, 2002. p. 152.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Aleitamento materno. In: _____. **Informação para a saúde**, v. 25, Brasília: Ministério da Saúde, 2005. p. 7-10.

MOREIRA Jr, J. C.; WAITZBERG, D. L. Conseqüências funcionais da desnutrição. In: _____. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica.** 3ª ed, São Paulo: Ed. Atheneu, 2004. p. 399-409.

MONTE, C.M.G.; SARNI, R. Tratamento hospitalar da criança gravemente desnutrida. In: Departamento de Nutrição da Sociedade Brasileira de Pediatria. **Temas de nutrição em pediatria**, 2002. p. 24-50.

MURAHOVSKI, J. Desnutrição. In: _____. **Pediatria: Diagnóstico e Tratamento**, 5ªed., São Paulo : Ed. Savier, 1995. p. 95-96.

NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS; NATIONAL CENTER FOR CHRONIC DISEASE PREVENTION AND HEALTH PROMOTION. **CDC 2000 Growth Charts**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/growthcharts>. Acesso em: 20 de maio de 2003.

NÓBREGA, F.J.; AMÂNCIO, O.M.S.; MARIN, P.; KÖPPEL, S.; SINGH, M.; VASCONCELOS, M. Leite de nutrizes de alto e baixo nível econômico, eutróficas e desnutridas. **J. Pediatr.** , v. 59, n. 2, p.174-180, 1985.

NOMINA ANATOMICA. 5.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1987.

NORMALIZAÇÃO DE TRABALHOS TÉCNICOS-CIENTÍFICOS: TESES, DISSERTAÇÕES, MONOGRAFIAS DE PÓS-GRADUAÇÃO, MONOGRAFIA DE GRADUAÇÃO E TRABALHOS ACADÊMICOS. Conforme : NBR 6023/2002, NBR 6024/2003, NBR 6027/2003, NBR 10520/ 2002, NBR 14724/2002. Atualizado em 18/04/2005. <http://www.biblioteca.pucpr.br/html/conteúdo.htm>, acessado em 26/05/2005.

NUÑEZ, M.C.; BUENO, J.D.; AYUDART, M.V.; ALMENDROS, A.; RIOS, A.; SUÁREZ, M.D.; Dietary restriction induces biochemical and morphometric changes in the small intestine of nursing piglets. **J. Nutr.**, v. 126, p. 933-44, 1996.

OGAWA, A.; TSUJINAKA, T.; YANO, M.; MORITA, S.; TANIGUCHI, M.; KANEKO, N. K.; DOKI, Y.; SHIOZAKI, H.; MONDEN, M. Changes of liver-enriched nuclear transcription factors for albumin gene in starvation in rats. **Nutrition**, v. 15, p. 213-16, 1999.

OLIVEIRA, F.L.C.; ESCRIVÃO, M.A.M.S. Prevenção na infância e adolescência das doenças do adulto. In: Departamento de Nutrição da Sociedade Brasileira de Pediatria. **Temas de nutrição em pediatria**, 2001. p. 76-86.

OLIVEIRA, F.L.C.; OLIVEIRA, A.S.B.; SCHMIDT, B.; AMANCIO, O.M.S. Desnutrição energética intra-uterina em ratos: alterações músculo-esqueléticas na 1ª e 2ª gerações. **J. Pediatr.** , v. 75, n. 5, p. 350-356, 1999.

OLUSI, S. O.; McFARLANE, H. Effects of early protein-calorie malnutrition on the immune response. **Pediat. Res.**, v. 10, p. 707-712, 1976.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE/ UNICEF. **Proteção, promoção e apoio ao aleitamento materno: o papel especial dos serviços materno-infantis**. WHO, Geneve, 1989.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS/OMS). **Informativo da OMS sobre desnutrição e má nutrição**. Brasília, 2000.

PATRÍCIO, F.R.S.; NÓBREGA, F.J.; TONETE, S.S.Q. Desnutrição intra-uterina em diferentes períodos de gestação em ratas: estudo do intestino delgado proximal ao nascimento e durante a recuperação nutricional. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 2, n. 8, p. 43-52, 1984.

POLLAK, A.; SUSAN, J.B.; STONESTEET, B.S.; SCHWARTZ, R.; OH, W. Phosphoenolpyruvate carboxykinase in experimental intrauterine growth retardation in rats. **Pediatr. Res.**, v. 13, p. 175-177, 1979.

POPPELWELL, L.; PEIRIS, A. N.; STAGNER, J. I. et al. Metabolic characteristics of non-alcohol steatohepatitis-a possible causative mechanism. **Gastroenterology**, v. 102S, p. A939, 1992.

QUEIROZ, S.S.; NÓBREGA, F.J. Desnutrição intra-uterina. In: NÓBREGA, F.J. **Distúrbios da nutrição**. Rio de Janeiro: Editora Revinter; 1998. p 105-108.

QUEIROZ, S.S.; O papel do ferro na alimentação infantil. **Temas de nutrição em pediatria**, 2001. p. 8-22.

QUINTAL, V.S.; DINIZ, E.M.A. Banco de leite. In: FEFERBAUM, R.; FALCÃO, M.C. **Nutrição do recém-nascido**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003. p. 265-266.

RAMOS, J.L.A.. Avaliação do crescimento intra-uterino por medidas antropométricas do recém-nascido. São Paulo, 1983. 180 p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

RAMOS, J.L.A.; DEUTSCH, A.D. Nutrição materna e seus efeitos sobre o feto e o recém-nascido. In: FEFERBAUM, R.; FALCÃO, M.C. **Nutrição do recém-nascido**. São Paulo: editora Atheneu, 2003. p. 1-17.

RASMUSSEN, K.M. Effects of under – and overnutrition on lactation in laboratory rats. **J. Nutr.**, v. 128, p. 390S-393S, 1998.

REA, M. F. Os benefícios da amamentação para a saúde da mulher. **J. Pediatr.**, v. 80, (5 Supl), p. S142-S146, 2004.

RUDGE, M.V.C.; BORGES, V.T.M.; CALDERON, I.M.P. Adaptação do organismo materno à gravidez. In: _____. **Obstetrícia básica**. 2a ed. São Paulo: Sarvier; 2000.

RUSH, D. Maternal nutrition and perinatal survival. **Nutr. Rev.**, v. 59, n. 10, p. 315-326, 2001.

SARNI, R. Avaliação da condição nutricional. In ____ **Temas de nutrição em pediatria**, Departamento de Nutrição da Sociedade Brasileira de Pediatria. Rio de Janeiro: Nestlé; 2001. p.28-38.

SARNI, R. Avaliação da condição nutricional. In: ____ LOPEZ, L.A.; SIGULEM, D.M.; TADDEI J.A.A.C. **Fundamentos da terapia nutricional em pediatria**. São Paulo: Sarvier; 2002. p. 3-10.

SASTRE, J.; PALLARDÓ, F.V. Age-associated mitochondrial damage in intact hepatocytes. **Hepatology**, v. 24, p. 1199, 1999.

SATCHER, D.; KACZOROWSKI, J.; TOPA, D. The expanding role of the pediatrician in improving child health in the 21s century. **Pediatrics**, v. 115, n. 4, p. 1124-1128, 2005.

SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE DO ESTADO DO PARANÁ. In ____ **Análise de óbitos infantis**. Curitiba: Secretaria Estadual de Saúde, 2004.

SHRADER, R.E.; ZEMAN, F.J. Effect of maternal protein deprivation on morphological and enzymatic development of neonatal rat tissue. **J. Nutr.**, v. 99, n. 4, p. 401-412, 1969.

SHRADER, R.E.; FERLATTE, M.I.; ZEMAN, F.J. Early postnatal development of the intestine in progeny of protein-deprived rats. **Biol Neonate**, v. 31, p. 181-198, 1977.

SHIRIMA, C. P.; KINABO, J. L. Nutritional status and birth outcome of adolescent pregnant girls in Morogoro, Coast, and Dar es Salaam regions, Tanzania. **Nutrition**, v. 21, p. 32-38, 2004.

SIGULEM, D.M.; DEVINCENZI, M.U.; LESSA, A.C. Diagnóstico do estado nutricional da criança e do adolescente. **J. Pediatr**, (Rio J.), v. 76 (Supl. 3), p. S275-S284, 2000.

SMITH, G.S., MILLER, T.A. Rodents. In: JENSEN, S.L.; GREGERSEN, H.; SHOKOUH-AMIRI, M.H.; MOODY, F.G. **Essentials of experimental surgery: gastroenterology**. Netherlands: Harwood Academic Publishers, 1996. p. 10-21.

SOCIEDADE CIVIL BEM-ESTAR FAMILIAR NO BRASIL. Pesquisa Nacional sobre amamentação e situação Nutricional das Mães e Crianças. Rio de Janeiro: **BEMFAM**, 1997, p. 125-138.

SOCIEDADE PAULISTA DE PEDIATRIA – COMITÊ DE NUTRIÇÃO. Avaliação do estado nutricional da criança. **Rev Paul. Pediat.**, v. 10, p. 102-103, 1992.

STANDING COMMITTEE ON NUTRITION (SCN) UNITED NATIONAL SYSTEM. **Nutrition for improved development outcomes**. 5 th Report on the nutrition situation. Geneva: United Nations: 2004.

STRONG, J.P. e MCGILL JR, H.C. The natural history of coronary atherosclerosis. **Am. J. Pathol.** v. 40, p. 37-49, 1962.

THE UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND (UNICEF). **Situação Mundial da Infância.** Brasília, 1996.

TIRAPÉGUI, J.O.; DeANGELIS, R.C. Effects of protein deficiency and rehabilitation on growth and tissue composition in growing rats. **Arq. Gastroenterol.**, v. 22, p. 141-147, 1985.

TONETE, S.S.Q.; NÓBREGA, F.J.; SARTOR, M.E.A.; TRINDADE, C.E.P.; LOPEZ, F.A.; CURTI, P.R. Desnutrição intrauterina em ratos: estudo do peso e mortalidade do produto da concepção. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 33, p. 109-125, 1983a.

TONETE, S.S.Q.; NÓBREGA, F.J.; CURTI, P.R.; TRINDADE, C.E.P.; SARTOR, M.E.A.; MOURA, E.C.V. Desnutrição intra-uterina em ratos. I -Repercussões no ganho de peso, tempo de gestação e no número de recém nascidos. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 33, p. 96-108, 1983b.

TRAHAIR, J.F.; De BARRO, T.M.; ROBINSON, J.S.; OWENS, J.A. Restriction of nutrition in utero selectively inhibits gastrointestinal growth in fetal sheep. **J Nutr**, v.127, p.637-641, 1996.

TRINDADE, C.E.P. Repercussões da nutrição da gestante sobre o recém-nascido. **J. Pediatr.**, v. 73, n. 5, p. 291-292, 1997.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. **Normas para apresentação de documentos científicos.** Curitiba: Ed. da UFPR, 2000. v. 10.

WATERLOW, J.C. **Classification and definition of protein caloric malnutrition.** WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Monograph nº 62. Geneva: WHO, 1976. p. 530-555.

WATERLOW, J.C. Lactancia maternal y destete. In: _____. **Malnutrición proteico-energética.** Washington, D.C.: OPS, 1996. p. 319-355.

WEAVER, L.T.; DESAI, M.; AUSTIN, S.; ARTHUR, H.M.L.; LUCAS, A.; HALES, C.N. Effects of protein restriction in early life on growth and function of the gastrointestinal tract of the rat. **J. Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 27, p. 553-559, 1998.

WIDDOWSON, E.M. Harmony of growth. **Lancet**, v. 1, p. 901-905, 1970.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The World Health Organization's infant-feeding recommendation. **Bull WHO**, v. 73, p. 165-174, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Nutrition for Health and Development, progress and prospects on the eve of the 21st century.** WHO, Geneva, 1999e.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Management of severe malnutrition: a manual for physicians and other senior health workers.** WHO, Geneva, 1999.

WOOLSON, ROBERT F. **Statistical methods for the analysis of biomedical data.** New York: John Wiley & Sons, 1987.

WYNNE, H.A.; COPE, L.H.; MUTCH, E. The effect of age upon liver volume and apparent liver blood flow in healthy man. **Hepatology**, v.9, p.297, 1989.

YOUNG, C.M.; RASMUSSEN, K.M. Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 41, p. 979-987, 1985.

YOUNG, C.M.; LEE, P.C.; LEBENTHAL, E. Maternal dietary restriction during pregnancy and lactation: effect on digestive organ development in suckling rats. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 46, p. 36-40, 1987.

YOUNOSZAI, M,K; RANSHAW, J. Gastrointestinal growth in the fetus and suckling rat pups: effects of maternal dietary protein. **J. Nutr.**, v. 103, n. 3, p. 454-461, 1973.

ZEMAN, F.J. Effect on the young rat of maternal protein restriction. **J. Nutr.**, v. 93, p.167-173, 1967.

ZEMAN, F.J.; STANBROUGH, E.C. Effect of maternal protein deficiency on cellular development in the fetal rat. **J. Nutr.**, v. 99, n. 3, p. 274-282, 1969.

ZUPAN, J. Perinatal Mortality in Developing Countries. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, n. 20, p. 2047-2048, 2005.