



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
ESCOLA DE NUTRIÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE**

**GLÉCIA LEOLINA DE SOUZA MEIRA**

**DESNUTRIÇÃO NEONATAL EM RATOS SUPLEMENTADOS COM L-  
TRIPTOFANO: ESTUDO DA PLASTICIDADE FENOTÍPICA NO  
CRESCIMENTO E NO CONSUMO ALIMENTAR.**

**SALVADOR  
2013**

**GLÉCIA LEOLINA DE SOUZA MEIRA**

**DESNUTRIÇÃO NEONATAL EM RATOS SUPLEMENTADOS COM L-  
TRIPTOFANO: ESTUDO DA PLASTICIDADE FENOTÍPICA NO  
CRESCIMENTO E NO CONSUMO ALIMENTAR.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Tereza Cristina Bomfim de Jesus Deiró

Co-orientadora: Profa. Dra. Jairza Maria Barreto Medeiros

**SALVADOR  
2013**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde, SIBI - UFBA.

M514 Meira, Glécia Leolina de Souza

Desnutrição neonatal em ratos suplementados com L-triptofano: estudo da plasticidade fenotípica no crescimento e no consumo alimentar / Glécia Leolina de Souza Meira. – Salvador, 2013.

91 f.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tereza Cristina Bomfim de Jesus Deiró.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Escola de Nutrição, 2013.

1. Triptofano. 2. Desnutrição. 3. Alimentos I. Deiró, Tereza Cristina Bomfim de Jesus. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 613.24

**TERMO DE APROVAÇÃO**


**GLÉCIA LEOLINA DE SOUZA MEIRA**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia.

**DESNUTRIÇÃO NEONATAL EM RATOS SUPLEMENTADOS COM L-TRIPTOFANO: ESTUDO DA PLASTICIDADE FENOTÍPICA NO CRESCIMENTO E NO CONSUMO ALIMENTAR.**

Aprovada em 02 de Setembro de 2013


**Banca Examinadora:**



TEREZA CRISTINA BOMFIM DE JESUS DEIRÓ  
Doutora em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco  
Professora Adjunto da Universidade Federal da Bahia



TÂNIA TAVARES RODRIGUEZ  
Doutora em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia  
Professora Adjunto da Universidade Federal da Bahia



ADENILDA QUEIRÓS SANTOS DEIRÓ  
Doutora em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia  
Professora Adjunto da Universidade Federal da Bahia



RAUL MANHÃES DE CASTRO  
Doutor em Ciências da Vida pela Université de Paris VI (Pierre et Marie Curie), França  
Professor Associado da Universidade Federal de Pernambuco



À Elizabeth de Souza Meira, mãe, amiga, irmã, pessoa que mais amo...por me fazer refletir sobre a verdadeira importância. Quero ficar mais tempo contigo. À Nelson Gentil Meira Júnior, irmão, grande incentivador...por acreditar tanto em mim. À minha orientadora profa. Tereza Cristina Bomfim de Jesus Deiró, para sempre pró...por sonhar junto comigo!

## AGRADECIMENTOS

A estrada percorrida até aqui me trouxe muitas amizades e lições... De convivência, do bem viver... Do significado real da solidariedade e humildade... Da importância de pedir quando é preciso e de agradecer, sempre. Se possível citaria todos que de alguma forma me auxiliaram a caminhar...

À minha família, pelo amor incondicional, pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

Aos estagiários do laboratório de Nutrição experimental, aos antigos e atuais que contribuíram para a realização deste trabalho. Vocês foram essenciais! Louise, Thaís, Jéssica Juliana, Mayana (nutricionista), Marina, Luana, Cássia, Renata, Helga, Osiyallê...

À Vivian e Keith amigas pra vida toda. Pelos maravilhosos momentos compartilhados no iníciozinho da pesquisa, no 'Biotério'.

À Professora Tereza e à Professora Jairza pela confiança demonstrada, orientação acadêmica e carinho.

À Professora Lúcia Pires pelo auxílio indispensável nos trabalhos estatísticos.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde que compartilharam com amor os seus conhecimentos nos incentivando à vida acadêmica.

À Professora Luana Rêgo e suas estagiárias pela colaboração nos experimentos e pela amizade construída.

À Isadora, atual mestranda do laboratório pela grande contribuição ao final deste trabalho. Desejo-lhe um excelente percurso.

Aos colegas ingressantes no mestrado de 2011. Vocês são: a melhor turma de mestrado do mundo! Muita saudade da cumplicidade e gargalhadas partilhadas.

Ao Sr. José Carlos, secretário da Pós-Graduação e anjo da guarda, pela amizade e competência que em muito me ajudou a resolver os percalços burocráticos encontrados.

Ao Sr. Vivaldo, Dona Nice e Sr. Luís funcionário da ENUFBA, pelo apoio no Laboratório de Nutrição experimental.

Aos colegas de trabalho: Grandes nutricionistas! Luciene, Ana Carolina, Ana Paula, Renato, Adriana, Liliane, Fabíola e Thalane. Pelo apoio e solidariedade!

A todos os meus amigos que partilharam das minhas angústias e torcem por mim.

Ao meu amor, Fabiano, companheiro em todos os momentos desta caminhada, por sua dedicação, amor e compreensão, obrigada!

À Deus por me permitir coisas belas!

## **Vai...**

Para sonhar o que poucos ousaram sonhar.

Para realizar aquilo que já te disseram que não podia ser feito.

Para alcançar a estrela inalcançável.

Essa será a tua tarefa: alcançar essa estrela.

Sem quereses saber quão longe ela se encontra;

nem de quanta esperança necessitarás;

nem se poderás ser maior do que o teu medo.

Pisarás terrenos que muitos valentes não se atreveriam a pisar.

Partirás para longe, talvez sem saíres do mesmo lugar.

Para descobrir os caminhos que há no ventre da noite.

Para vencer o medo. Não medirás as tuas forças.

Para sofrer aquilo que não sabias ser capaz de sofrer.

Para saber as cores que existem por dentro do silêncio.

Continuarás quando os teus braços estiverem fatigados.

Olharás para as tuas cicatrizes sem tristeza.

Para tratar como lixo as bugigangas que outros acariciam.

Para ir mais além.

Para passar cantando perto daqueles que viveram poucos anos e já envelheceram.

Dirás até ao último momento: “ainda não é suficiente”.

Disposto a dar tudo pelo que parece ser nada.

Disposto a ter contigo dores que são semente de alegrias talvez longe.

Para tocar o intocável.

Para haver em ti um sorriso que a morte não te possa arrancar.

Para encontrar a luz de cuja existência sempre suspeitaste.

Para alcançar a estrela inalcançável.

**Autor:** Paulo Geraldo



## RESUMO

A manipulação do sistema serotoninérgico e a restrição proteica no período crítico, podem de maneira independente resultar em alterações no desenvolvimento somático e no comportamento alimentar de ratos com repercussões ao longo da vida. O objetivo desse trabalho foi investigar, em ratos normais ou precocemente desnutridos, as repercussões do tratamento com L-triptofano (15mg/kg) sobre o crescimento somático no período de aleitamento e sobre o consumo alimentar aos 30 e aos 60 dias de vida. Para isso, ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT), ou hipoproteica (DES) durante a lactação foram subdivididos em grupos tratados com uma dose diária via s.c de L-triptofano, 15mg/kg, (TRP) ou água destilada, 1ml/100g de peso corporal (AD) do 7º ao 21º dia pós-natal. Os grupos assim definidos: (NUT AD), (NUT TRP), (DES TRP) e (DES AD) foram do 1º ao 21º dia, submetidos às seguintes avaliações murinométricas: peso corporal (PC), comprimento da cauda (CC), eixos do crânio látero-lateral e ântero-posterior (ELLC e EAPC) e eixo longitudinal (EL). Do 30º ao 37º (fase jovem) e 60º ao 67º dia de vida (adulto jovem) foram avaliados: Peso corporal (PC), ganho absoluto de peso corporal (GAPC) e relativo (GRPC), ingestão absoluta de ração (IAR) e relativa (IRR), ingestão absoluta de água (IAA) e relativa (IRA), excreção absoluta fecal (EAF) e relativa (ERF), excreção absoluta urinária (EAU) e relativa (ERU) e o Coeficiente de eficácia alimentar (CEA). A ANOVA foi empregada, seguido de teste de Holm-Sidak. Todos os grupos foram comparados ao grupo NUT AD. Houve redução do EL, PC, ELLC e EAPC no grupo DES AD e DES TRP ( $p < 0,05$ ). O CC não diferiu entre os grupos. Na fase jovem, a redução do PC se manteve no grupo DES AD (17,7%) e no grupo DES TRP (21,9%), já na fase adulta não houve diferença do PC entre os grupos. O GAPC foi menor nos grupos DES AD (20,3%) e DES TRP (22,1%) do 30º ao 37º dia, não houve diferença na segunda fase do comportamento alimentar (60º ao 67º dia). O consumo de ração não diferiu entre os grupos em nenhuma idade avaliada. Foi observado aumento na excreção fecal relativa no grupo DES AD (26,8%), e no grupo DES TRP (24,9%) na fase jovem e redução na excreção fecal de DES AD (24,4%) e DES TRP (25,6%) do 60º ao 67º dia. Foi observada diminuição na excreção urinária absoluta do 30º ao 37º dia no grupo DES AD (40,6%) e no grupo DES TRP (41,3%). Na ingestão de água e no CEA não foi observada diferença entre os grupos. Em síntese o grupo desnutrido apresentou redução de parâmetros de crescimento e mudanças em aspectos do consumo alimentar. Nenhuma alteração foi encontrada no grupo nutrido com triptofano. Na dose administrada o

triptofano não alterou parâmetros de crescimento e desenvolvimento em ratos nutridos ou desnutridos durante o período crítico.

**Palavras chave:** triptofano, serotonina, comportamento alimentar, crescimento, desnutrição, período crítico.

## ABSTRACT

Manipulation of the serotonergic system and protein restriction during the critical period, can independently result in changes in body development and feeding behavior of rats with lifelong repercussions. The aim of this study was to investigate, in normal rats or malnourished prematurely, the effects of treatment with L-tryptophan (15mg/kg) on somatic growth during lactation and food consumption at 30 and 60 days of life. For this purpose, male Wistar rats whose mothers were fed a normal diet (NUT) or low-protein (DES) during lactation were divided into groups treated with a daily sc dose of L-tryptophan, 15mg/kg (TRP) or distilled water 1ml/100g bodyweight (AD) from day 7 to 21 days postnatal. The groups defined as follows: (NUT AD), (NUT TRP) (TRP DES) and DES (TRP AD) were the 1st to 21st day, subject to the following evaluations murinométricas: body weight (BW), tail length (CC) axes of the skull lateral-lateral and anterior-posterior (ELLC and EAPC) and longitudinal (EL). From day 30 to 37 (young stage) and 60th to 67th day of life (young adult) were assessed: body weight (PC), absolute gain in body weight (GAPC) and relative (GRPC), intake absolute ration (IAR) and relative (IRR), absolute water intake (IAA) and relative (IRA), absolute fecal excretion (EAF) and relative (ERF), absolute urinary excretion (EAU) and relative (ERU) and feed efficiency coefficient (CEA). ANOVA was used, followed by Holm-Sidak test. All groups were compared to the group NUT AD. There was a reduction of the EL, PC, and ELLC EAPC in the DES group and DES TRP AD ( $p < 0,05$ ). The CC did not differ between groups. In the young stage, reducing the PC remained in the DES AD group (17.7%) in the DES TRP group (21.9%), as in adulthood there was no difference between the groups PC. GAPC was lower in the DES AD (20.3%) and DES TRP (22.1%) of the 30th to 37th, there was no difference in the second phase of feeding behavior (60th to 67th day). Feed intake did not differ between groups at any age evaluated. Was an increase in fecal excretion relative AD in the DES group (26.8%), and TRP in the DES group (24.9%) in the young stage and reduction in fecal excretion of DES AD (24.4%) and DES TRP (25.6%) of the 60th to 67th day. We observed a reduction in absolute urinary excretion of the 30th to 37th day in the DES group AD (40.6%) and TRP in the DES group (41.3%). Water intake and CEA no difference was observed between groups. In summary the malnourished group showed a reduction of growth parameters and changes in aspects of food consumption. No changes were found in the group fed with tryptophan. At the dose administered tryptophan did not alter parameters of growth and development in rats nourished or malnourished during the critical period.

Keywords : tryptophan , serotonin , feeding behavior , growth , malnutrition , critical period .

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Neurônios serotoninérgicos.....	20
<b>Figura 2.</b> Síntese e transporte da serotonina.....	21
<b>Figura 3.</b> Vias de síntese e degradação da serotonina.....	24
<b>Figura 4.</b> Estrutura química do triptofano.....	25
<b>Figura 5.</b> Ajuste da ninhada.....	35
<b>Figura 6.</b> Elaboração da ração.....	36
<b>Figura 7.</b> Organograma dos grupos experimentais.....	37
<b>Figura 8.</b> Figura dos procedimentos de avaliações.....	39
<b>Figura 9.</b> Fotos dos procedimentos de avaliações.....	39
<b>Figura 10.</b> Foto das gaiolas metabólicas.....	41
<b>Figura 11.</b> Evolução ponderal (PC).....	44
<b>Figura 12.</b> Crescimento corporal (EL).....	45
<b>Figura 13.</b> Eixo latero-lateral do crânio (ELLC).....	46
<b>Figura 14.</b> Eixo ântero-posterior do crânio (EAPC).....	47
<b>Figura 15.</b> Crescimento da cauda (CC).....	48
<b>Figura 16.</b> Peso corporal (A), ganho de peso absoluto (B) e relativo (C).....	50
<b>Figura 17.</b> Ingestão absoluta de ração (A) e relativa (B) e, ingesta absoluta de água (C) e relativa (D).....	52
<b>Figura 18.</b> Excreção absoluta fecal (A) e relativa (B) e; excreção absoluta urinária (C) e relativa (D).....	54

**Figura 19.** CEA de ratos nutridos ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano

15mg/Kg.....

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição das dietas normoproteica (17%) e hipoproteica (8%).....	36
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

5,7 DHT: 5,7 dihidroxitriptamina	IAA: Ingestão absoluta de água
5-HIAA: 5-hidroxiindolacetaldeído	IAR: Ingestão absoluta de ração
5-HT: Serotonina	IRA: Ingestão relativa de água
5-HT1A/ 1B: Receptor serotoninérgico do tipo 1A/ 1B	IRR: Ingestão relativa de ração
5-HTP: 5 Hidroxitriptofano	LNAAs: aminoácidos neutros grandes
AADC: Ácido-amino-aromático descarboxilase	MAO: Monoaminoxidase
BHE: Barreira hemato-encefálica	mL: mililitro
c-AMP: Monofosfato cíclico de adenosina	PC: Peso corporal
CEA: Coeficiente de Eficácia Alimentar	PCA: Peso corporal absoluto
COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal	PN: Pós-natal
DAT: Transportador de dopamina	QAO: Quota de água ofertada
DHA: Ácido docosahexaenóico	QRO: Quota de ração ofertada
Dieta hipoproteica: DES	RjA: Rejeito de água
Dieta normoproteica: NUT	RjL: Rejeito limpo da ração
EAPC: Eixo ântero-posterior do crânio	RjS: Rejeito sujo da ração
EFA: Excreção fecal absoluta	RNA: Ácidoribonucleico
EL: Eixo longitudinal do corpo	S-100β: Fator trófico secretado por astrócitos
ELLC: Eixo látero-lateral do crânio	SERT: Transportador de serotonina
g: grama	SNC: Sistema nervoso central
GAD: Descarboxilase do ácido glutâmico	SSRI: Inibidores seletivos de Recaptação de Serotonina
GAPC: Ganho absoluto de peso corporal	VMAT: transportador vesicular de monoamina
GRPC: Ganho relativo de peso corporal	

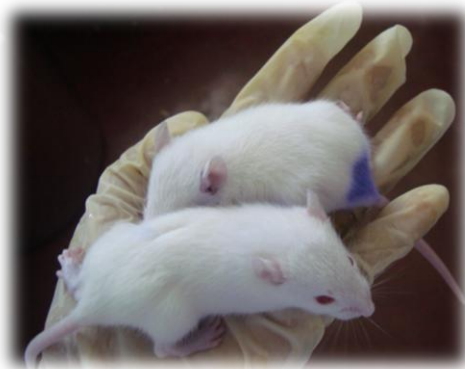


## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	18
2 JUSTIFICATIVAS.....	29
3 OBJETIVOS.....	31
4 HIPÓTESE.....	33
5 METODOLOGIA.....	35
5.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	35
5.2 INDICADORES DO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO.....	38
5.3 CONSUMO ALIMENTAR.....	40
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
6 RESULTADOS.....	44
6.1 INDICADORES DO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO.....	49
6.2 CONSUMO ALIMENTAR.....	55
7 DISCUSSÃO.....	57
8 CONCLUSÃO.....	64
9 PERSPECTIVAS.....	66
10 REFERÊNCIAS.....	67
11 ANEXOS.....	77

## 1. INTRODUÇÃO

---



## INTRODUÇÃO

Mudança no fenótipo, em resposta às alterações ambientais, vem sendo chamada de “plasticidade fenotípica” (GLUCKMAN et al., 2012) e pode explicar danos em parâmetros de crescimento e do consumo alimentar mediante insultos externos. A desnutrição perinatal é um dos fatores ambientais mais bem estudados como indutor de plasticidade fenotípica (RAVELLI, 1976; BARKER, 1999). Além das alterações nutricionais, as manipulações farmacológicas dos sistemas de neurotransmissores podem também modificar o crescimento e desenvolvimento (MORGANE, 1993; WINICK, 1972) e promover hipofagia em idades relacionadas à maturação dos mecanismos de controle do comportamento alimentar (LOPES DE SOUZA, 2005). Neste sentido, o precursor da serotonina (5-HT) o aminoácido L-triptofano, quando administrado no início da vida causou redução no consumo de ração em ratos adultos (CARVALHO et al., 2010).

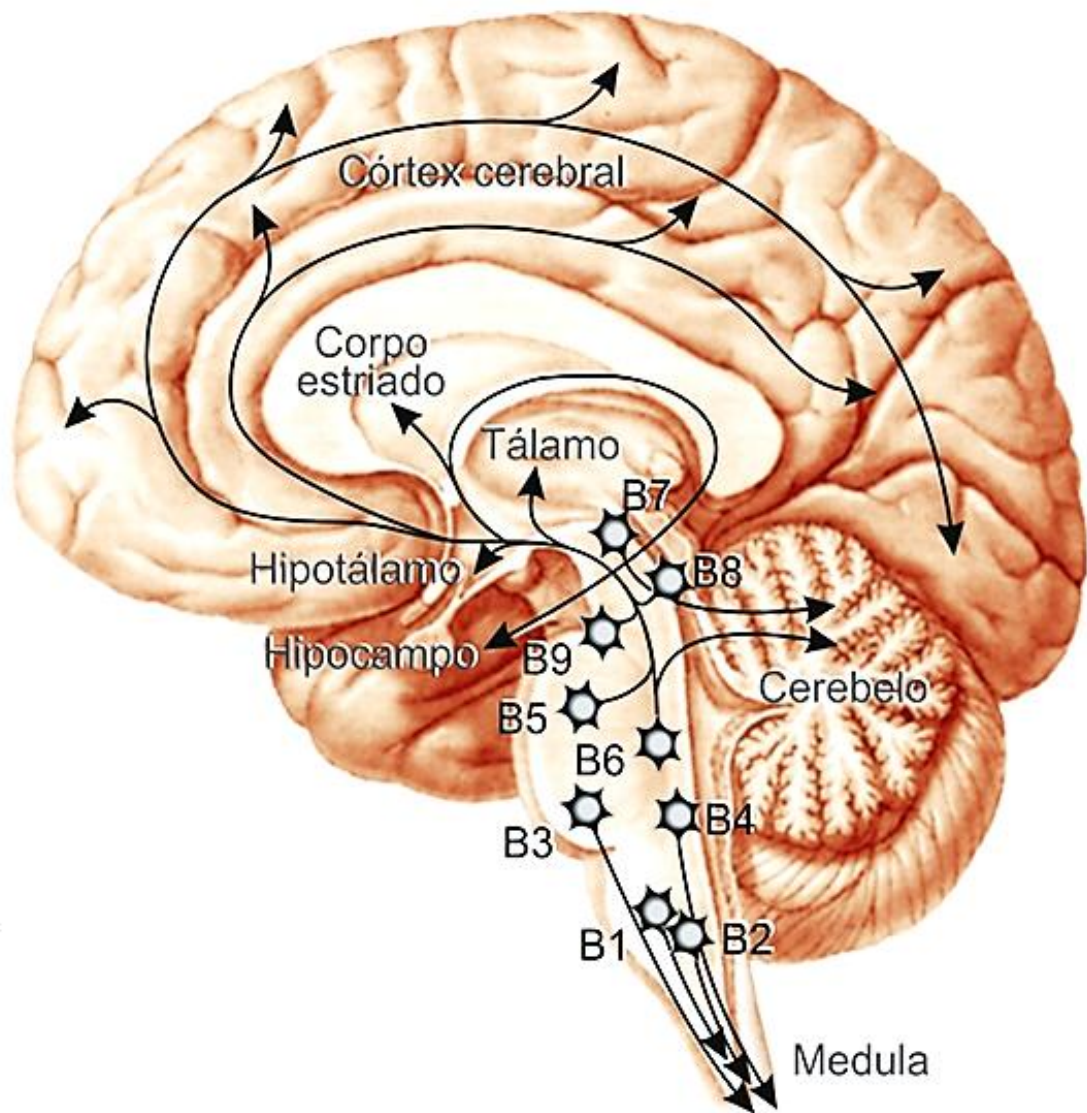
Há um período na vida dos animais em que o crescimento do sistema nervoso central (SNC) é muito rápido (SMART e DOBBING, 1971) e, portanto considerado como período crítico (WINICK, 1972; MORGANE et al., 1993) em que os processos de desenvolvimento são altamente dinâmicos e envolvem alterações anatômicas, fisiológicas e neuroquímicas, sensíveis a estímulos ou insultos oriundos do meio-ambiente (MORGANE, 1993). Dentre esses insultos encontra-se a desnutrição, o estresse e drogas (BURNS, 1990). Em humanos esse período coincide com o último trimestre de gestação, podendo se estender até o terceiro ou quarto anos de vida (MORGANE et al., 1978) e no rato com as três primeiras semanas e corresponde ao período de aleitamento (SMART e DOBBING, 1971).

O sistema nervoso é responsável pela captação, processamento, transmissão e análise de todas as informações internas e externas aos animais. Basicamente, esse sistema é formado por duas categorias de células: os neurônios e as células da glia. Os primeiros são elementos excitáveis que captam e transmitem informações, enquanto as células da glia asseguram sustentação, isolamento, nutrição e manutenção da constância interna (homeostase) ao tecido nervoso (NOGUEIRA et al., 2004). Nesse aspecto destaca-se a serotonina, um neurotransmissor que modula uma variedade de funções, entre elas o crescimento e o desenvolvimento, tendo seu efeito trófico já evidenciado em tecidos neurais (LOPES DE SOUZA et al., 2005) e também em tecidos não neurais (MOISEWITSCH e LAUDER, 1996; BENES, TAYLOR et al., 2000).

Modelos experimentais utilizando o rato desempenham um papel crucial na compreensão da sinalização da serotonina (MURPHY et al., 2004, HEN, 1993) e dos detalhes moleculares para os fenótipos comportamentais (BORUE et al., 2007) já que a serotonina abrange uma variedade de funções desde o desenvolvimento até a idade adulta e a semelhança genética entre o rato e o homem permite avaliar tal molécula. É importante mencionar que os primeiros 12 dias de vida no rato são comparáveis a aproximadamente o terceiro trimestre da gestação humana (QUINN, 2005) sendo um período caracterizado por rápido crescimento do cérebro, onde já se evidencia a arborização dendrítica, o crescimento axonal, a sinaptogênese, a gliogênese, e maturação de neurotransmissão (DOBBING, 1971; DOBBING e SANDS, 1979).

A nível hormonal a serotonina é secretada por um número de estruturas periféricas, incluindo a glândula pineal, células parafoliculares da tiróide, células enterocromafins do intestino, e corpos neuroepiteliais do pulmão, cruza a placenta e a imatura barreira hematoencefálica (BHE), proporcionando ao feto uma fonte parácrina de serotonina muito antes deste adquirir a capacidade de sintetizar o neurotransmissor (VITALIS e PARNAVELAS, 2003).

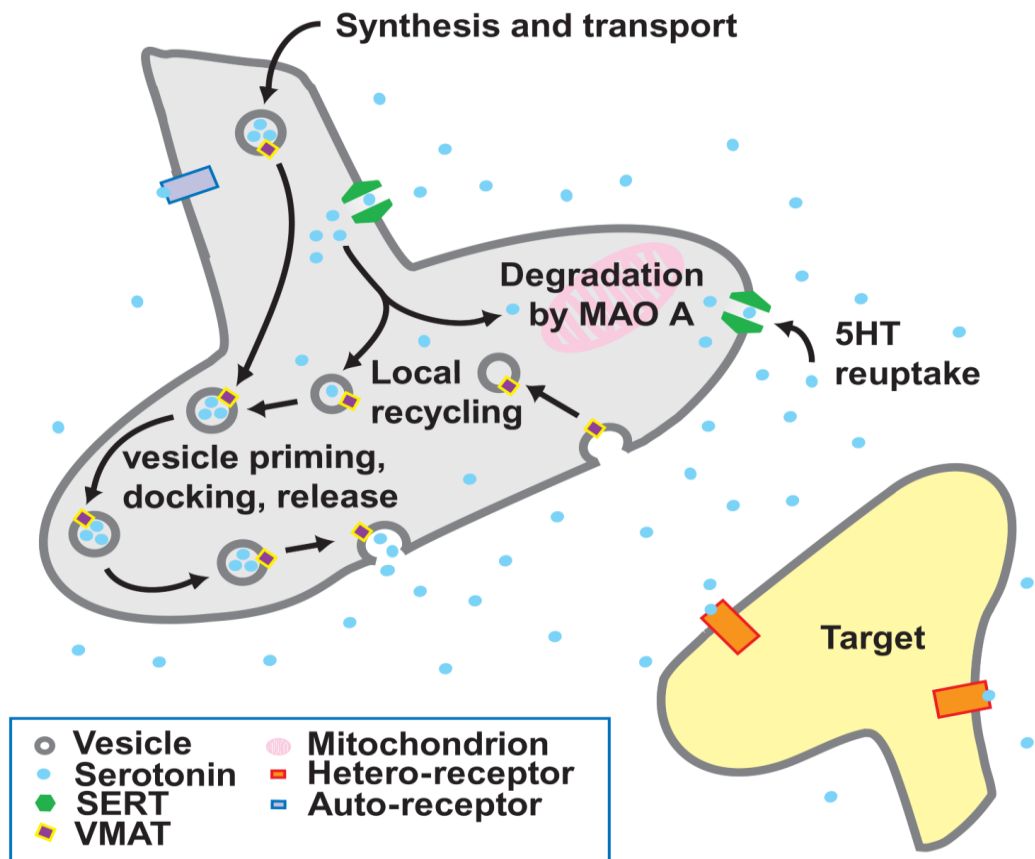
No sistema nervoso central de ratos, a serotonina é sintetizada pelos neurônios serotoninérgicos que se desenvolvem muito cedo, a partir do 13<sup>a</sup> e 14<sup>a</sup> dias embrionários e são localizados nos núcleos da rafe no tronco cerebral (LAUTENSCHLAGER, HOLTJE et al., 2000; JANUSONIS et al., 2004) enviando projeções para todo o cérebro, estando portanto, em uma posição privilegiada para modular a maturação de outros circuitos neuronais. (JANUSONIS et al., 2004). Além desta disposição anatômica, as ações da serotonina resultam mais precisamente de sua interação ao nível celular, com estruturas moleculares específicas denominadas receptores (HOYER et al., 1994; MANHÃES DE CASTRO, 1995). Devido sua expressão precoce, acredita-se ainda que a serotonina desempenhe um papel importantíssimo no desenvolvimento dos circuitos neurais e diferenciação de diversos sistemas de neurotransmissores (AZMITIA, 1999; BENES, TAYLOR et al. 2000). A figura 1 expressa as regiões encefálicas onde a serotonina é encontrada.



**Figura 1.** Neurônios serotoninérgicos. B representa neurônios concentrados na linha média do tronco encefálico e do mesencéfalo. Os mais rostrais emitem axônios ascendentes, enquanto os mais caudais projetam para a medula. Fonte: Lent, 2010.

Uma vez sintetizada a serotonina é armazenada em vesículas para neurotransmissão pelo transportador vesicular de monoamina (VMAT), este, transporta as monoaminas (serotonina, dopamina histamina, e noradrenalina) do citoplasma em vesículas, utilizando um gradiente de prótons. Após a liberação para o espaço extracelular, a serotonina pode interagir com outros neurônios através de mais de 14 tipos de receptores. Embora uma classe de receptores atue através de um canal de íons de serotonina, o restante dos receptores de serotonina encontra-se acoplado a proteína “G”. Estes receptores estão expressos em uma variedade de diferentes alvos no organismo em desenvolvimento ou adulto, permitindo que a serotonina exerça seus vários efeitos. A sinalização da 5-HT através destes receptores é dependente do nível

extracelular de serotonina. A serotonina é removida do espaço extracelular através do transportador de serotonina- SERT e reembalada em vesículas secretoras ou degradadas pela monoaminoxidase (MAO). Por conseguinte, a função de SERT e MAO é central para regulação dos níveis de serotonina, dentro e fora do neurônio serotoninérgico (BORUE et al., 2007). A figura 2 mostra como ocorre a síntese e o transporte de 5-HT.



**Figura 2.** Síntese e transporte da serotonina. Fonte: Borue et al., 2007

A serotonina está envolvida na modulação da maior parte dos circuitos neuronais do cérebro e estudos têm apontado seu fundamental papel na regulação do comportamento e do desenvolvimento (CASPI et al., 2003). Além disso, regula a proliferação celular, migração e maturação em uma variedade de tipos de células e tecidos, incluindo pulmão, rim, células endoteliais, mastócitos, neurônios e astrócitos. Estudos demonstram que os receptores 5-HT<sub>1A</sub> e 5-HT<sub>2A</sub> participam de uma variedade de processos celulares e comportamentais. O receptor 5-HT<sub>1A</sub> se desenvolve cedo no SNC e está associada com a secreção de S-100  $\beta$  (fator de crescimento serotoninérgico) de astrócitos e de redução de níveis de c-AMP em

neurônios. Estas ações proporcionam estabilidade intracelular para o citoesqueleto e resultam em diferenciação celular e cessação da proliferação (AZMITIA, 2001).

Por outro lado, a ocorrência de polimorfismo humano no transportador da serotonina (SERT) e na enzima monoamina-oxidase (MAO) que regulam respectivamente a recaptação e a degradação da serotonina está associada com a depressão e ansiedade (CASPI et al., 2003). Nesse aspecto destaca-se o uso já popularizado de Inibidores seletivos da recaptação da serotonina (SSRIs) devido aos seus efeitos secundários limitados, em comparação com os antidepressivos tricíclicos e inibidores da MAO (WARD, 2000). No entanto, a ocorrência de alterações comportamentais causadas por polimorfismos em SERT e MAO sugerem que níveis alterados de serotonina no período crítico podem ter efeitos inesperados sobre o cérebro em desenvolvimento.

As evidências acima demonstram o quanto é complexa a ação serotoninérgica. Ainda mais ao tratar-se de manipulação do sistema serotoninérgico em fases precoces da vida onde todos os processos de crescimento e desenvolvimento se iniciam e se modificam de acordo com a maturação celular. Agressões nutricionais e farmacológicas nessa fase podem ser danosas a vários sistemas, inclusive o SNC. Assim, tratamento com SSRIs causam maior número de malformações congênitas e adaptações neonatais em crianças e filhotes de animais expostos no início da vida (LEE, 2009). Em ratos recém-nascidos alterações persistiram até a idade adulta (LIRA et al., 2003, HOLMES et al., 2003). Isso é de especial preocupação porque SSRIs podem atravessar a barreira placentária e podem ser excretados no leite materno, sendo a droga de escolha para o tratamento da depressão em mulheres durante a gravidez e amamentação (HENDRICK et al., 2003, WEISSMAN et al., 2004).

Manipulações no sistema serotoninérgico utilizando SSRIs em ratos neonatos mostraram mudanças na maturação de reflexos, e em parâmetros do crescimento (DEIRÓ et al., 2006), um retardo no crescimento ósseo (GALINDO, 2006) e diminuição das medidas craniais e do encéfalo (MAGALHÃES, 2006).

Neurônios serotoninérgicos inervam o núcleo basomedial hipotalâmico e a área hipotalâmica lateral, estruturas relacionadas ao controle do comportamento alimentar (AZMITIA & SEGAL, 1978). A relação direta da serotonina na modulação do apetite (SIMANSKY, 1996) ocorre através de receptores pós-sinápticos. Os receptores 5-HT<sub>1B</sub> e 5-HT<sub>2C</sub> são os mais relevantes na resposta anorexigênica em mamíferos e aves (BLUNDELL, 1984). Por outro lado, hiperfagia e obesidade ocasionadas após depleção de serotonina, através de um inibidor

da enzima triptofano hidroxilase ou após lesões neurotóxicas de neurônios serotoninérgicos, reforçam esta hipótese (SALLER & STRICKER, 1976).

O transportador de serotonina (SERT) é responsável pela recaptação de 5-HT nos terminais nervosos serotoninérgicos. Estudos têm demonstrado que a inibição do SERT, aumentando a estimulação pós-sináptica de 5-HT, diminui a ingestão alimentar e o ganho de peso corporal em ratos e humanos (PETRISIC et al., 1997; OLIVIER e OORSCHOT, 2005).

Estudo de Barreto-Medeiros (2002), em ratos adultos, demonstrou que um SSRI provocou redução da ingestão alimentar. Esse achado se assemelha ao estudo de Carvalho-Santos (2010) em que a administração de L-triptofano causou redução no consumo de ração em ratos adultos. Em seres humanos, agentes serotoninérgicos estão sendo empregados para tratamentos de obesidade e transtornos alimentares podendo ser utilizados como ferramentas experimentais para a investigação do controle do apetite (BLUNDELL, 1992; LAM & HEISLER, 2007).

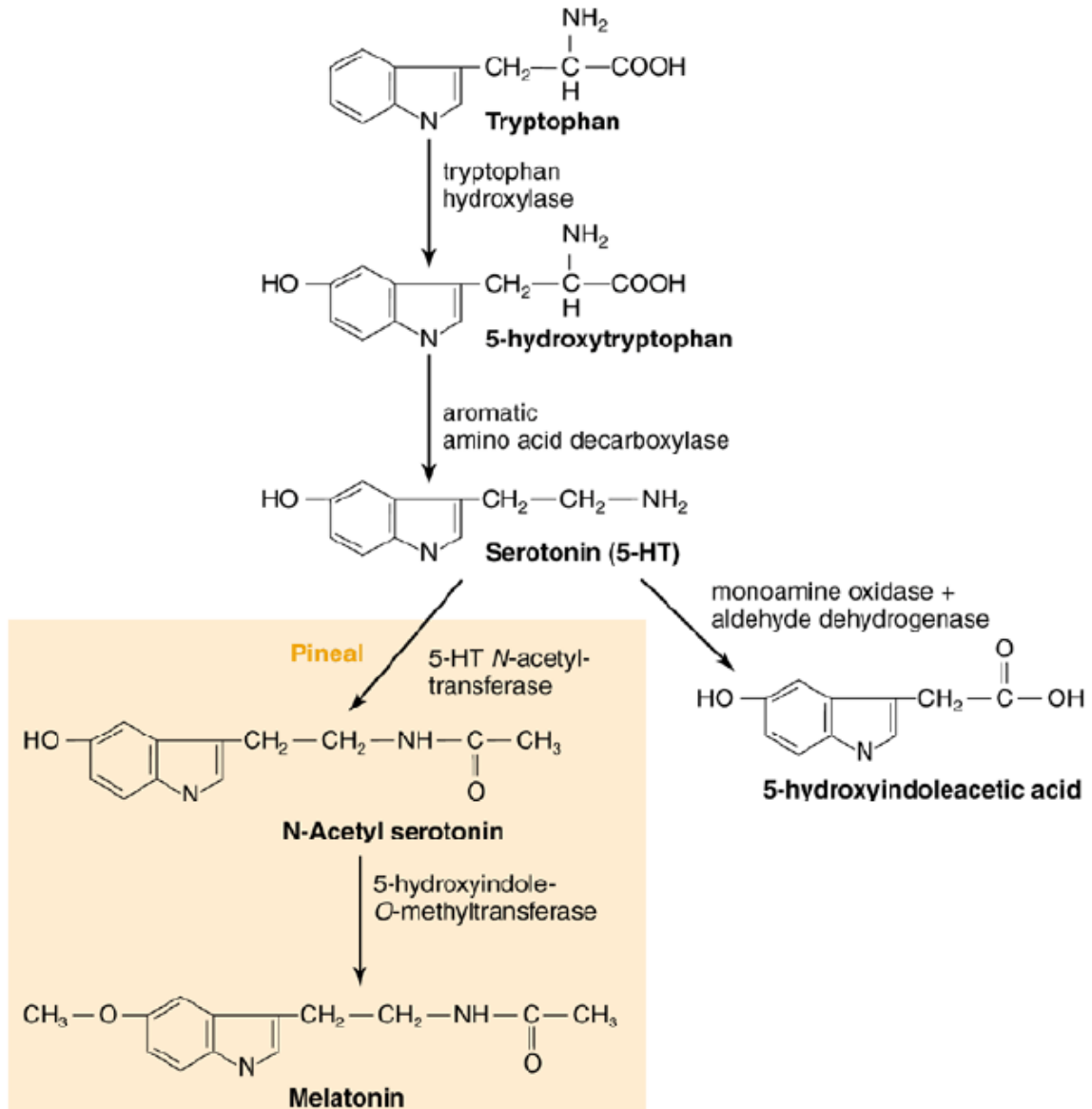
Neste aspecto, a alimentação diária e equilibrada é responsável pelo fornecimento dos nutrientes para o crescimento adequado de animais desde a vida intrauterina. Entre os nutrientes, as proteínas parecem ser o componente mais importante para o desenvolvimento de funções nervosas, pois elas fornecem aminoácidos que são precursores de neurotransmissores ou, em muitos casos, atuam como o próprio neurotransmissor (MORGANE, 1993). Dentre os aminoácidos, destaca-se o triptofano (TRP), um aminoácido neutro, essencial, que contribui para o crescimento normal, síntese proteica e para a síntese do neurotransmissor serotonina (5-HT) (FERNSTROM, 2000).

O aumento das concentrações séricas de TRP contribui para uma maior síntese de serotonina cerebral, sendo bem estabelecido na literatura (ASHCROFT, ECCLESTON, e CRAWFORD, 1965; PARDRIDGE, 1975; TURNER, 2006; FERNSTROM, 1983, 1995, 2000, 2013; SHABBIR, 2013), e comprovado que a administração desse aminoácido é capaz de aumentar os níveis líquidos de 5-HT em humanos (ECCLESTON et al., 1970).

Durante a síntese serotoninérgica o TRP é captado do plasma, de forma ativa, por carreadores de aminoácidos neutros da barreira hemato-encefálica (BHE). Dessa forma, a variação desse aminoácido no plasma influencia bastante a síntese de serotonina na rafe (BLUNDELL, 1992). Após atravessar a BHE, o triptofano é hidroxilado na posição 5 do anel aromático, pela enzima triptofano hidroxilase, dando origem ao 5-hidroxitriptofano (5-HTP). O 5-HTP é



descarboxilado, pela enzima L-aromático aminoácido descarboxilase, dando finalmente origem a 5-hidroxitriptamina (5-HT ou serotonina). A degradação da 5-HT é feita pelas enzimas MAO e aldeído desidrogenase, tendo como produto final o ácido 5-hidroxiindolacético (FERNSTROM, 2000).

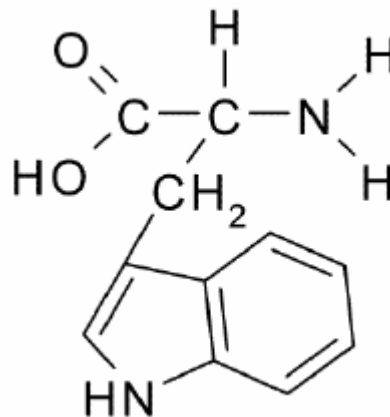


**Figura 3.** Esquema mostrando as vias de síntese e degradação da serotonina. Fonte: Siegel et al., 1999.

Quando o TRP é impossibilitado de alcançar o SNC, seu metabolismo periférico ocorre de duas maneiras – uma reversível e a outra não. A rota reversível compreende a incorporação do triptofano na síntese protéica no fígado e em outros tecidos (CHRISTENSEN, 1964; MUNRO, 1970). Esses depósitos de triptofano podem ser mobilizados, sendo ele posteriormente ofertado ao SNC (BLOXAM et al., 1974).

A rota irreversível compreende a enzima hepática L-triptofano-2,3-dioxigenase, conhecida como triptofano pirrolase. A secreção dessa enzima é estimulada pelos níveis séricos de triptofano e corticóides, ou seja, quanto maiores os níveis séricos dessas substâncias maior será a secreção da pirrolase (JOSEPH et al., 1976, YOUNG e ORAVEC, 1979). O triptofano também é responsável pela regulação da meia-vida da pirrolase, agindo sobre a enzima da seguinte maneira: o triptofano tem uma ação estimulante sobre a triptofano pirrolase – um aumento na concentração do triptofano sérico aumentará a produção hepática da enzima diminuindo a meia-vida do aminoácido. Ou seja, a meia-vida do triptofano é inversamente proporcional ao tamanho da dose administrada (GREEN et al., 1980).

O requisito nutricional diário de L-triptofano é modesto, 5 mg / kg. No entanto, muitos adultos optam por consumir muito mais, até 4-5 gramas ao dia ou 60 a 70 mg/kg, com intuito de melhora do humor ou do sono (FERNSTROM, 2012). Em ratos adultos foi usada dose de 50mg/Kg e verificados efeitos na redução da ingestão alimentar, sem que houvesse diferença no ganho ponderal (CARVALHO-SANTOS, 2010). Em leitões jovens suplementados com triptofano houve aumento da produção de 5-HT no hipotálamo, redução das concentrações de hormônio do estresse e diminuição da peroxidação lipídica (SHEN, 2012). A figura 4 mostra a estrutura química do TRP.



**Figura 4.** Estrutura química do triptofano.

Pesquisas no campo da neurociência nutricional têm destacado a influência que os nutrientes podem exercer sobre a atividade cerebral. Segundo Ballabriga (1990), a nutrição é

considerada um dos principais fatores ambientais que influencia a maturação e o desenvolvimento funcional do sistema nervoso durante o período crítico.

São bem conhecidos os danos imediatos causados pela desnutrição, como os déficits de ganho ponderal e de estatura, com implicações gerais sobre o desenvolvimento de órgãos e sistemas em humanos e em ratos (PEREIRA, 2009). A susceptibilidade do esqueleto craniofacial à desnutrição proteica também foi estudada por Miller e German (1999), estes autores encontraram um maior comprometimento do viscerocrânio em relação ao neurocrânio em ratos submetidos à manipulação nutricional.

Observações epidemiológicas com humanos demonstraram que o baixo peso ao nascimento está relacionado ao risco de hipertensão, doenças cardiovasculares, e diabetes tipo 2 na idade adulta (BARKER, 1999; RAVELLI et al. 1999; ROSEBOOM, 2001), propondo que eventos adversos no útero induzem respostas compensatórias no feto refletindo na plasticidade do desenvolvimento durante este período crítico (BATESON, 2004) e persistem permanentemente, definindo assim não só um fenótipo alterado no nascimento, mas também para toda a vida (BATESON, 2004). Estas alterações poderão ser parcialmente reversíveis ou não, em função da magnitude da agressão e dos fatores ambientais a que são submetidos os indivíduos (LEVITSKY e BARNES, 1972; DIAMOND et al., 1985).

A redução dos aportes nutricionais em um organismo no período crítico conduz a uma “programação metabólica” que irá lhe permitir a sobrevivência em condições de restrição alimentar. Contudo, quando esse organismo é submetido à nutrição adequada ou é superalimentado, a incompatibilidade entre essa programação fisiológica e as novas condições nutricionais pode gerar doenças (OZANNE E HALES, 2002) como as citadas acima.

A restrição de proteínas e de calorias durante a gestação levou a um retardo de crescimento desde o nascimento, no entanto, em determinado período houve uma aceleração no ganho ponderal (*catch-up*), e o grupo estudado tornou-se mais pesado que o alimentado normalmente. O rápido ganho de peso foi associado com hiperfagia, hiperglicemia, hiperinsulinemia, intolerância à glicose, resistência insulínica e hipertrofia dos adipócitos. (BIESWAL et al., 2006; FERREIRA E SILVA, et al., 2009; LIMA et al., 2011).

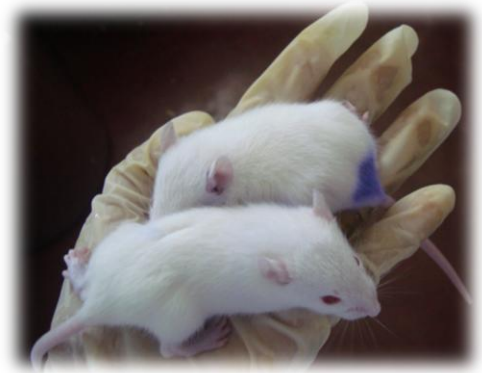
Os filhotes expostos à desnutrição perinatal durante a lactação apresentaram modificação no ritmo circadiano, o que pode ter contribuído para as alterações na alimentação e no

metabolismo energético resultando no desenvolvimento de distúrbios metabólicos na idade adulta. (OROZCO-SOLIS et al., 2011).

Alterações neurológicas importantes vêm sendo demonstradas pela manipulação do sistema serotoninérgico (KUMMET, 2012) e pela desnutrição em um período crítico do desenvolvimento (BALLABRIGA, 1990; ALMEIDA et al., 1996), podendo trazer repercussões ao longo da vida (OZANNE E HALES, 2002; LIMA, 2011). Há evidências que considerem que a indução de diferentes fenótipos ocorra por variações no ambiente no início da vida, incluindo a nutrição, que no homem é associada com um risco aumentado de doenças metabólicas (BURDGE, 2007; GLUCKMAN, 2008). Esta visão é apoiada por estudos em seres humanos e em modelos animais (BURDGE, 2007). Estudos experimentais com exposição materna a uma dieta hipoproteica são realizados para a avaliação da programação metabólica (STEWART et al., 1975; OZANNE et al., 1996; REUSENS & REMACLE, 2001). As evidências acima reforçam ainda mais a complexidade de um sistema de neurotransmissores, o serotoninérgico, com tão ampla diversidade de funções. Esclarece ainda o imbricado papel de comportamentos, em particular o comportamento alimentar cujas mudanças podem determinar profundas alterações metabólicas e fisiológicas no adulto.

## 2. JUSTIFICATIVA

---



## JUSTIFICATIVA

Já é bem conhecido o efeito de substâncias farmacológicas serotoninérgicas utilizadas na clínica psiquiátrica para melhora do humor e também na terapêutica auxiliar da perda de peso em indivíduos obesos, por diminuírem o apetite. Assim, medicamentos inibidores seletivos de recaptação de serotonina (SSRI), vêm sendo utilizados. Entretanto ainda são pouco estudados os efeitos do L-triptofano sobre aspectos importantes do crescimento, e do comportamento alimentar.

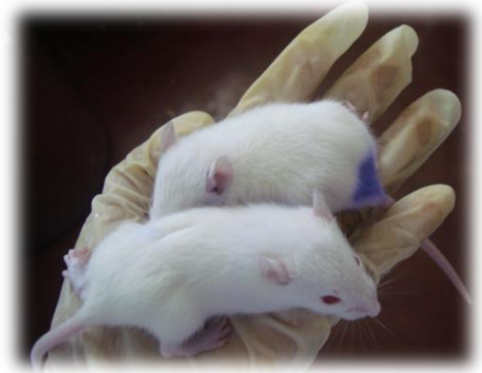
A programação neonatal na desnutrição tem expressão em fenômenos fisiológicos e comportamentais do animal adulto, sendo, portanto forte razão para estudos que conduzam a uma melhor compreensão de agressões no início da vida, de tal maneira, que venham modificar estruturas celulares, repercutindo no crescimento de tecidos e órgãos e alterando comportamentos que podem influenciar decisivamente na qualidade de vida de indivíduos jovens e adultos submetidos a tais agressões.

Manipulações do sistema serotoninérgico e oferta de dietas inadequadas nutricionalmente devem, portanto ser avaliados, visto que, a contribuição desses estudos para profissionais médicos, nutricionistas, fisioterapeutas, psiquiatras, educadores físicos e outros, pode ser de valor inestimável dado o benefício que trará a seus pacientes, em particular aos acometidos por deficiência nutricional e alterações no comportamento alimentar.

Ademais, como a serotonina se expressa de forma precoce em ratos, no período crítico do desenvolvimento do SNC, estudos que associem desnutrição e precursores de neurotransmissores – em particular o L-triptofano, em modelo experimental, pode ainda se constituir em importantes ferramentas para agilizar descobertas nesse campo, com estudos de efeitos tanto precoces, durante a suplementação, quanto efeitos tardios por possíveis alterações fenotípicas.

### 3. OBJETIVOS

---



## **OBJETIVOS**

### **GERAL:**

Investigar em ratos nutridos ou desnutridos durante a lactação, as repercussões do tratamento neonatal com L- triptofano (15mg/Kg), sobre o crescimento somático e o padrão do consumo alimentar jovem e adulto jovem.

### **ESPECÍFICOS:**

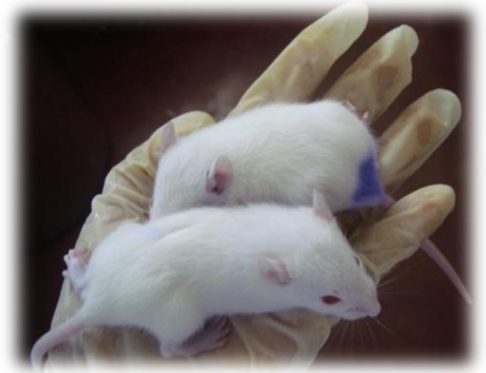
Em ratos nutridos ou desnutridos durante a lactação, investigar os efeitos do L-triptofano sobre:

- Evolução ponderal antes e depois do desmame.
- Evolução do crescimento (eixo longitudinal do corpo e comprimento da cauda).
- Evolução do crescimento do crânio (eixos látero-lateral e ântero-posterior).
- Consumo alimentar na fase jovem (30° a 37° dia de vida) e adulto jovem (60° a 67° dia): ingestão de ração e de água, eliminação fecal e de urina e relação entre ganho de peso e ração consumida.



## 4. HIPÓTESES

---



## **HIPÓTESES**

O tratamento crônico com L- triptofano 15 mg/Kg durante o período crítico do desenvolvimento do SNC em ratos nutridos ou desnutridos causa:

- Retardo nos parâmetros do crescimento somático de ratos normais ou desnutridos.
- Alteração do padrão do consumo alimentar (ingesta de ração e de água e eliminação urinária e fecal) no animal jovem e adulto jovem.

## 5. METODOLOGIA

---



## METODOLOGIA

Este estudo seguiu os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pelo Comitê de ética animal da Faculdade de Odontologia da UFBA (Nº 03.11).

### 5.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados ratos albinos, machos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), da colônia do Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia- LABNEX, os animais foram mantidos sob as mesmas condições de temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e ciclo claro/escuro de 12 horas (claro das 7:00 às 19:00 horas; escuro das 19:00 às 7:00 horas).

Para obtenção das ninhadas, fêmeas virgens com idade entre 90 a 100 dias, com livre acesso à ração e a água foram colocados em caixas de polipropileno para acasalamento. O dia do nascimento foi considerado como dia 0 (zero), sendo as manipulações iniciadas 24 horas após o parto (1º dia), em que foi realizada a separação dos sexos pelo exame da distância anogenital e o ajuste da ninhada a 8 filhotes machos, com no mínimo 6 g de peso corporal, conforme figura 5.



**Figura 5.** Ajuste da ninhada em 8 filhotes machos.

No dia do nascimento, as mães foram agrupadas segundo a dieta a ser recebida durante os 21 dias de amamentação: **dieta padrão normoproteica (NUT)**, contendo 17% de proteína e **dieta hipoproteica (DES)**, contendo aproximadamente 8% de proteína, conforme tabela 1.

**Tabela 1:** Composição das dietas normoproteica (17%) e hipoproteica (8%).

COMPOSIÇÃO/TIPO DE DIETA	NORMOPROTEICA	HIPOPROTEICA
<i>Ingredientes (g)</i>		
Caseína	185,00	87,00
Amido de milho	644,50	742,50
Óleos de soja	70,00	70,00
Fibras	50,00	50,00
Mistura vitamínica	10,00	10,00
Mistura de minerais	35,00	35,00
Biotina/Colina	2,50	2,50
Metionina	3,00	3,00

As misturas de sais e vitaminas foram formuladas de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition Rodents Diets, AIN-93, para as fases de crescimento, gravidez e lactação de roedores, nas mesmas quantidades da dieta normoproteica.

Todas as dietas foram preparadas de acordo com os procedimentos estabelecidos pelo Instituto Americano de Nutrição - AIN 93 (REEVES, 1997), peletizadas e oferecidas *ad libitum*, alterando-se o teor protéico para constituir o grupo nutrido e desnutrido. Neste período a ingestão hídrica foi *ad libitum*.



**Figura 6.** Elaboração da ração: ração em pó; ração hidratada; ração peletizada. Fonte: Carvalho-Santos, 2008.

Baseada na dieta materna durante a lactação a prole nutrida (NUT) ou desnutrida (DES) foi subdividida de acordo com a administração, ou não, de L-triptofano (15 mg/Kg), a partir do 7º dia de vida até o final da lactação (21º dia de vida). Foram utilizadas no máximo 3 animais de cada ninhada para formação final dos grupos, de forma a minimizar a interferência genética e do ambiente uterino. Assim, foram obtidos os seguintes grupos:

#### Grupos nutrido (NUT):

- Nutrido, Água destilada (NUT AD), n=17: receberam água destilada, via subcutânea, 1ml/100g de peso corporal, uma vez ao dia, do 7º ao 21º dia de vida.
- Nutrido, Triptofano (NUT TRP), n=20: receberam triptofano, via subcutânea, em um volume de 1ml/100g de peso corporal, na dose de 15 mg/kg de peso corporal uma vez ao dia, do 7º ao 21º dia de vida.

#### Grupos desnutrido (DES):

- Água destilada (DES AD), n=18: receberam água destilada, via subcutânea, 1ml/100g de peso corporal, uma vez ao dia, do 7º ao 21º dia de vida.
- Triptofano (DES TRP), n=18: receberam triptofano, via subcutânea, em um volume de 1ml/100g de peso corporal, na dose de 15 mg/kg de peso corporal uma vez ao dia, do 7º ao 21º dia de vida.



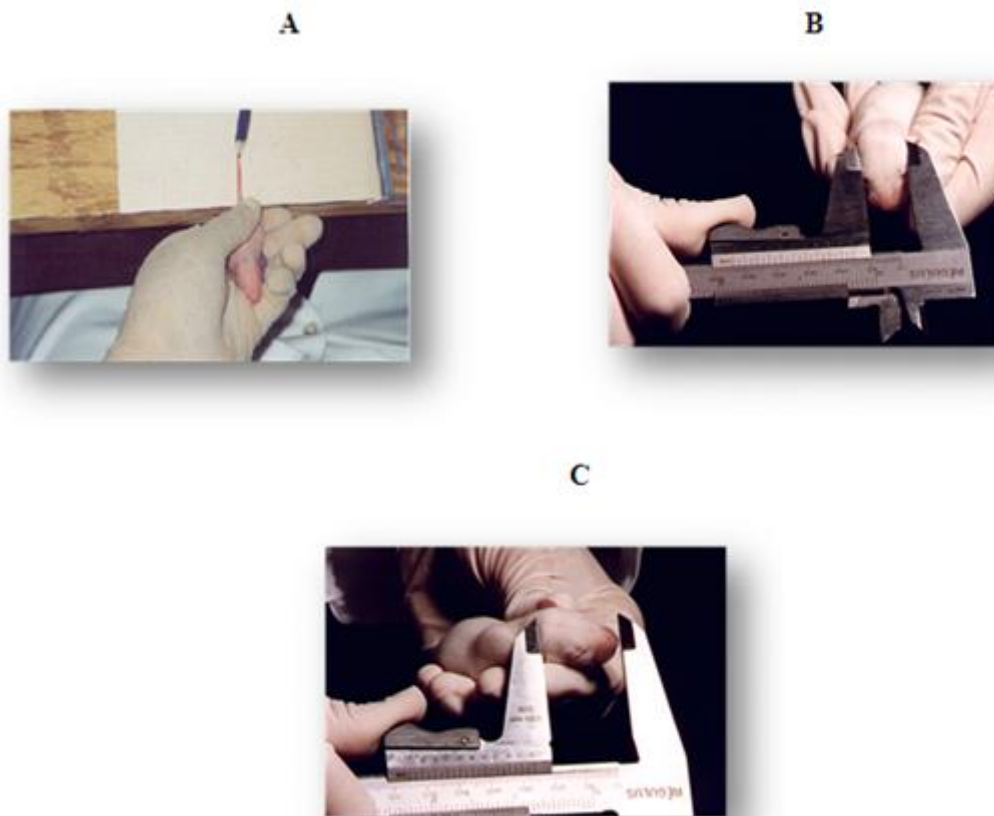
**Figura 7.** Organograma dos grupos experimentais.

Os filhotes, após o período de lactação, receberam dieta padrão comercial, contendo 22% de proteína, (ração *Presence*®) e água *ad libitum*. Os grupos experimentais delineados foram avaliados conforme seguintes procedimentos:

## 5.2 INDICADORES DO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO (1° AO 21° DIA PÓS-NATAL)

Cada animal foi avaliado diariamente de 11:00 às 13:30 quanto às seguintes medidas murinométricas:

- **Peso corporal (PC)** - Foi aferido diariamente, utilizando-se uma balança eletrônica com capacidade de 4 kg (Marte, modelo S-000, com sensibilidade para 0,0001g).
- **Comprimento da cauda (CC)** - O animal foi contido delicadamente com uma das mãos do pesquisador. Em seguida, encostado o trem posterior do animal na borda de uma mesa lisa e plana com um papel milimetrado afixado. O ânus foi considerado como ponto anatômico e a medida obtida a partir dele, com a cauda esticada. O local coincidente com a extremidade da cauda foi identificado com um lápis, o rato foi retirado, e realizada a leitura da distância em cm, entre as duas extremidades.
- **Eixo látero-lateral do crânio (ELLC)** - Este foi considerado, tendo como referência uma linha imaginária perpendicular ao eixo longitudinal do crânio, entre os pavilhões auriculares. O animal era contido com uma das mãos do pesquisador, tendo a cabeça deste entre o dedo indicador e o polegar. Assim, com auxílio do paquímetro, a medida foi realizada e obtida em cm.
- **Eixo ântero- posterior do crânio (EAPC)** - Era tomada como referência, a linha média que vai da extremidade do focinho até a base do crânio. O pesquisador continha o rato com uma das mãos, mantendo a cabeça do animal entre os dedos indicador e polegar. Tomando-se desta forma a medida, em cm, com auxílio do paquímetro.
- **Eixo longitudinal do corpo (EL)** – O rato era mantido em decúbito ventral em uma superfície plana e lisa. O corpo do animal era contido delicadamente com os dedos, causando uma rápida imobilização. Dessa forma, com ajuda de uma caneta, os pontos entre o focinho e a base da cauda (ânus) eram marcados e a distância entre estes, efetuada com paquímetro.



**Figura 8.** Fotos dos procedimentos de avaliações: A- comprimento da cauda; B- eixo látero-lateral do crânio; C- eixo antero-posterior do crânio. Fonte: Deiró, 2006.



**Figura 9.** Fotos dos procedimentos de avaliações: A- Peso corporal; B- eixo longitudinal do corpo.



### 5.3 CONSUMO ALIMENTAR NAS IDADES JOVEM E ADULTO JOVEM

Para avaliação do consumo alimentar e hídrico pós-desmame, cada animal foi mantido em gaiolas metabólicas de acrílico, dotadas de comedouro de vidro, coletor de fezes, bebedouro e coletor de urina. As avaliações foram efetuadas entre às 10:00 e 12:00 horas. Para cada animal dos diferentes grupos, diariamente por 7 dias, os seguintes procedimentos foram adotados.

- **Peso corporal** - O peso corporal foi aferido em balança digital (Marte, modelo S-000, com sensibilidade de 0,0001g).
- **Ração** - A quota de ração ofertada (QRO) em gramas de dieta *Presence*® foi colocada no comedouro. Os rejeitos limpo (RjL) e sujo (RjS) em gramas e padronizada em 100 ml. Após 24 horas, foi quantificado o rejeito de água (RjA) em ml encontrado no bebedouro.
- **Fezes** - Cada dia, cuidadosamente com ajuda de uma espátula, os bolos fecais foram coletados e transferidos para um béquer, efetuando-se a pesagem.
- **Urina** - A urina eliminada por cada animal foi coletada em recipiente graduado encaixado na gaiola metabólica. A excreção urinária foi quantificada em ml.

Após as avaliações de acordo com os procedimentos acima descritos, foram obtidos os seguintes parâmetros:

**Peso Corporal (PCA)** - Corresponde ao peso corporal em gramas de cada animal obtido diariamente durante a avaliação do consumo alimentar.

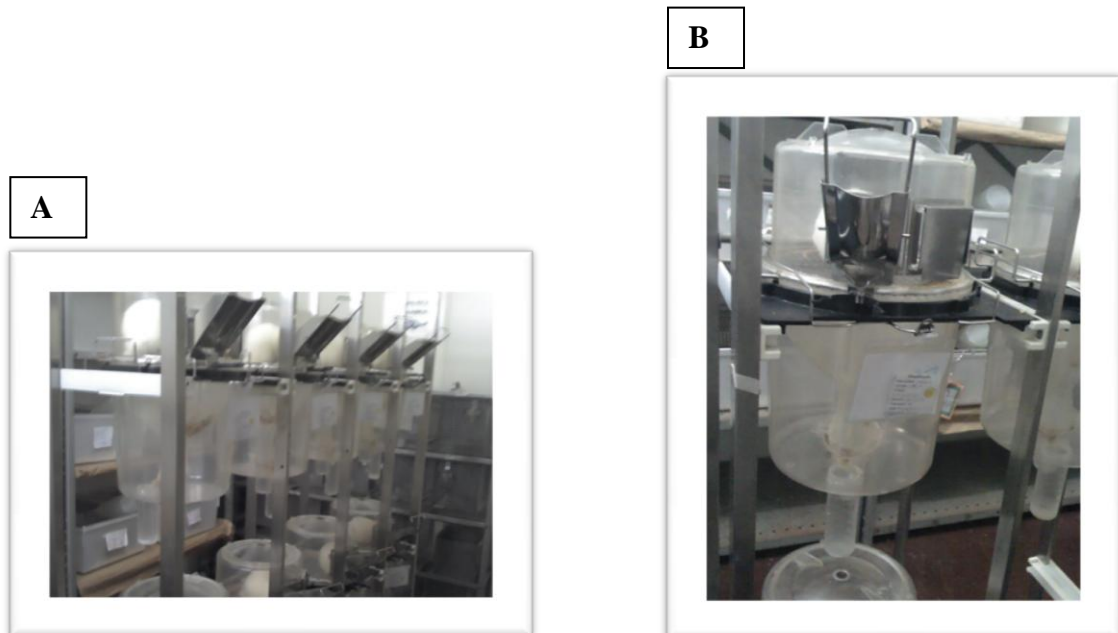
- **Ganho absoluto de peso corporal (GAPC)** - Corresponde à diferença entre o PCA do animal e aquele aferido no dia anterior.
- **Ganho relativo de peso corporal (GRPC)**- Foi calculado utilizando a seguinte equação:  

$$GRPC = (GAPC / PCA \times 100).$$
- **Ingestão absoluta de ração (IAR)** - É a quota de ração ingerida em gramas pelo animal diariamente. Para o cálculo, utilizava-se a fórmula:  $IAR = QRO - (RjL + RjS)$ . Onde: QRO: Quota de ração ofertada; RjL: rejeito limpo da ração; RjS: rejeito sujo da ração.
- **Ingestão relativa de ração (IRR)** - Foi calculado utilizando a seguinte equação:  

$$IRR = (IAR / PCA) \times 100.$$
- **Ingestão absoluta de água (IAA)** - É a quota de água ingerida em ml pelo animal diariamente. Para o cálculo, utilizava-se a fórmula:  $IAA = QAO - (RA)$ . Onde- QAO: Quota de água ofertada; RA: Rejeito de água.

- **Ingestão relativa de água (IRA)** - Foi calculado utilizando a seguinte equação:  
 $IRA = (IAA / PCA) \times 100$ .
- **Excreção absoluta fecal (EAF)** - É a quantidade em gramas de fezes eliminada pelo animal diariamente.
- **Excreção relativa fecal (ERF)** - Foi calculada utilizando a seguinte equação:  $ERF = (EAF / PCA) \times 100$ .
- **Excreção Absoluta Urinária (EAU)** - É o volume em ml de urina eliminado pelo animal diariamente.

**Excreção Relativa Urinária (ERU)** - Foi calculada utilizando a seguinte equação:  
 $ERU = (EAU / PCA) \times 100$ .



**Figura 10.** A e B. Fotos das gaiolas metabólicas para verificar o consumo de água e ração e a excreção fecal e urinária.

#### 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram lançados em planilha do Programa Excel, já desenvolvida de forma a fornecer os valores relativos, em seguida submetidos à análise estatística.

Foi utilizado o programa estatístico Sigmastat 3.5. Após testes preliminares para identificar a normalidade das distribuições e homogeneidade das variâncias entre os grupos, a análise de variância (ANOVA) foi empregada sempre que os dados (expressos pela média  $\pm$  erro padrão) foram paramétricos. Quando a ANOVA revelou diferença significativa, foi utilizado o teste de Holm Sidak para identificação de quais grupos diferem entre si. A significância estatística foi considerada, admitindo-se um nível crítico de  $p < 0,05$  para rejeição da hipótese nula em todos os casos.

## 6. RESULTADOS

---

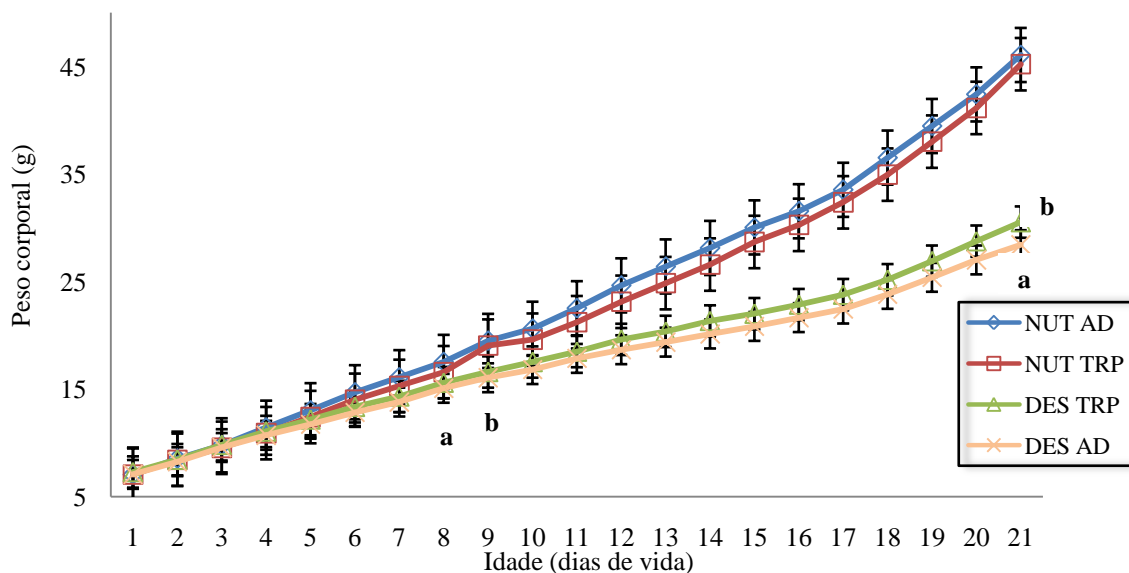


## RESULTADOS

### 6.1 INDICADORES DO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DE RATOS NUTRIDOS OU DESNUTRIDOS TRATADOS CRONICAMENTE COM L-TRIPTOFANO NO PERÍODO DE ALEITAMENTO.

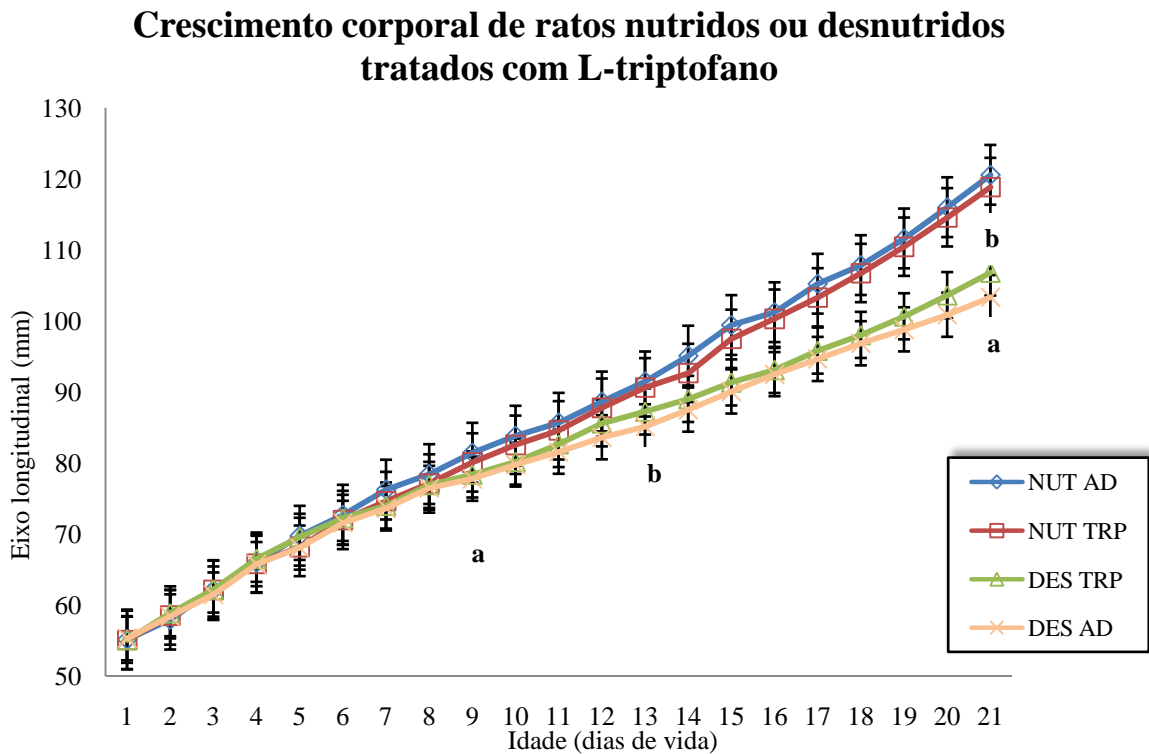
Quanto ao peso corporal (PC) a ANOVA mostra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 1532}=18,3$ ,  $p<0,001$ ) e do tempo ( $F_{20, 1532}= 1167,6$ ,  $p<0,001$ ), bem como, interação entre os grupos e o tempo ( $F_{60, 1532}=31,7$ ,  $p<0,001$ ) sobre a evolução ponderal. Quando comparados ao grupo NUT AD o grupo DES AD apresentou redução do peso corporal do 8º ao 21º dia (26,4%) e o grupo DES TRP do 9º ao 21º dia pós-natal (22,7%). NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

#### Evolução ponderal de ratos nutridos ou desnutridos tratados com L-triptofano



**Figura 11.** Evolução ponderal (PC) do 1º ao 21º dia pós-natal (PN) de ratos normais ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT), ou hipoproteica (DES) durante a lactação subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7º ao 21º dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18) foram diariamente pesados. Resultados representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD; ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak. Diferenças ( $p<0,05$ ) expressas no primeiro e no último dia da sequência, letra “a” grupo DES AD, “b” grupo DES TRP.

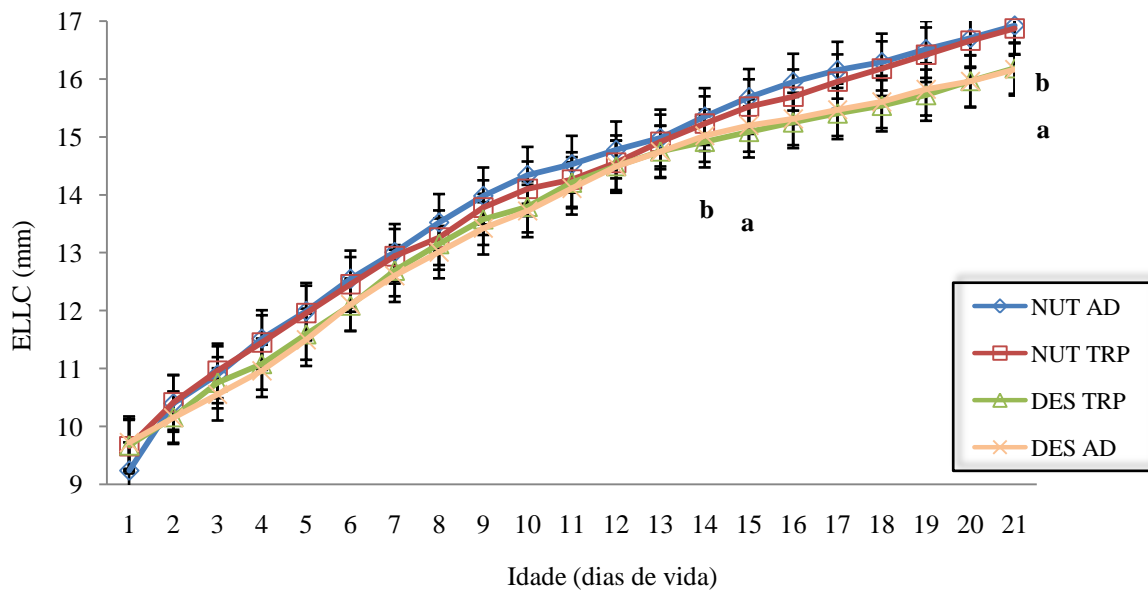
Com relação ao crescimento corporal (EL), ANOVA demonstrou o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 1532}=8,9$ ,  $p<0,001$ ) e do tempo ( $F_{20, 1532}= 2500,4$ ,  $p<0,001$ ), bem como interação entre os grupos e o tempo ( $F_{60, 1532}=16,7$ ,  $p<0,001$ ). Foi apresentada redução do EL do 9º ao 21º dia de vida no grupo DES AD (6,7%) e do 13º ao 21º no DES TRP (5,4%) quando comparados a NUT AD. NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.



**Figura 12.** Crescimento corporal (EL) do 1º ao 21º dia pós-natal (PN) de ratos normais ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT), ou hipoproteica (DES) durante a lactação subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7º ao 21º dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18) foram diariamente medidos quanto ao eixo longitudinal (mm). Resultados representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD; ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak. Diferenças ( $p<0,05$ ) expressas no primeiro e no último dia da sequência, letra “a” grupo DES AD, “b” grupo DES TRP.

O efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 1532}=5,3$ ,  $p<0,05$ ) e do tempo ( $F_{20, 1532}= 2500,9$ ,  $p<0,001$ ), bem como interação entre os grupos e o tempo ( $F_{60, 1532}=3,1$ ,  $p,<0,001$ ) sobre o eixo látero- lateral do crânio (ELLC), analisado por ANOVA demonstra redução do 15º ao 21º dia de vida no grupo DES AD (3,3%) e do 14º ao 21º dia no DES TRP (3,1%) quando comparados a NUT AD. NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

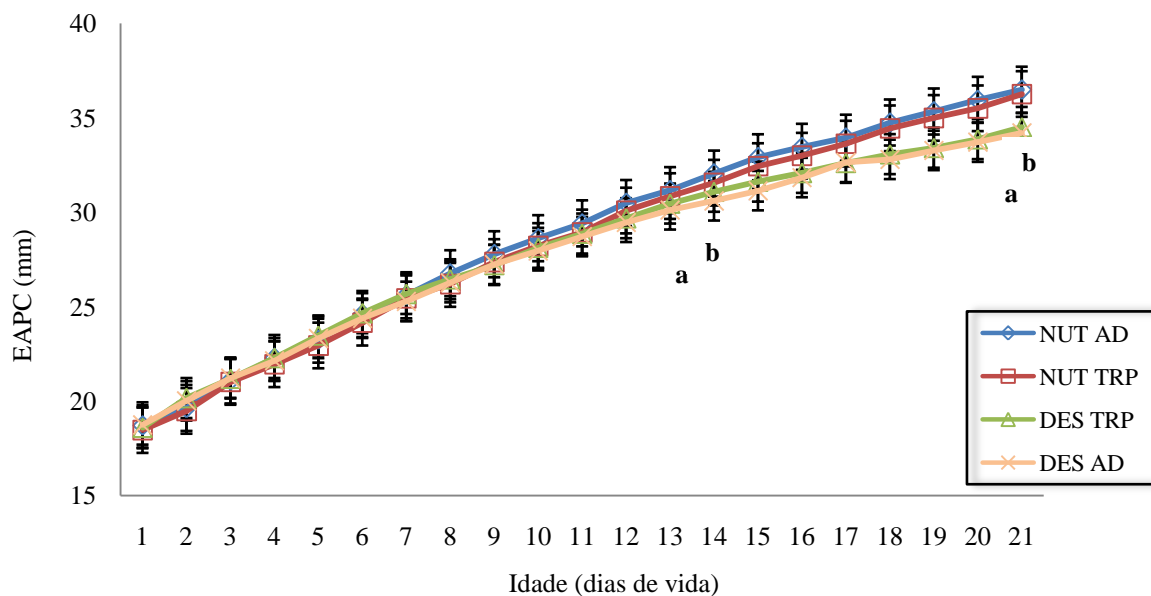
### Eixo látero-lateral do crânio de ratos nutridos ou desnutridos tratados com L-triptofano



**Figura 13.** Eixo latero- lateral do crânio (ELLC) do 1º ao 21º dia pós-natal (PN) de ratos normais ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT), ou hipoproteica (DES) durante a lactação subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7º ao 21º dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18) foram diariamente medidos quanto ao eixo latero- lateral do crânio (mm). Resultados representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD; ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak. Diferenças ( $p<0,05$ ) expressas no primeiro e no último dia da sequência, letra “a” grupo DES AD, “b” grupo DES TRP.

Com relação ao eixo ântero- posterior do crânio (EAPC), ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 1532}=2,9$ ,  $p<0,05$ ) e do tempo ( $F_{20, 1532}= 3737,9$ ,  $p<0,001$ ), bem como interação entre os grupos e o tempo ( $F_{60, 1532}=7,5$ ,  $p,<0,001$ ). Foi apresentada redução do 13° ao 21° dia de vida no DES AD (3,2%) e do 14° ao 21° dia no DES TRP (2,5%) quando comparados ao grupo NUT AD. NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

### Eixo ântero posterior do crânio de ratos nutridos ou desnutridos tratados com L-triptofano

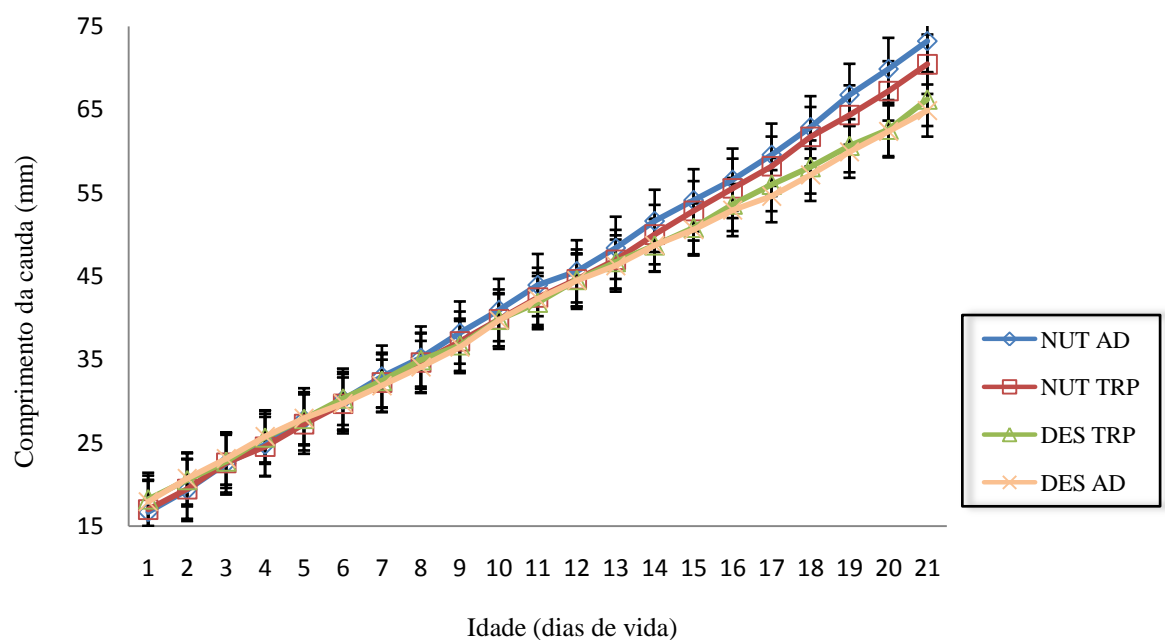


**Figura 14.** Eixo ântero-posterior do crânio(EAPC) do 1° ao 21° dia pós-natal (PN) de ratos normais ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT), ou hipoproteica (DES) durante a lactação subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7° ao 21° dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18) foram diariamente medidos quanto ao eixo ântero-posterior do crânio (mm). Resultados representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD; ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak. Diferenças ( $p<0,05$ ) expressas no primeiro e no último dia da sequência, letra “a” grupo DES AD, “b” grupo DES TRP.



ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 1532}=2,4$ ,  $p>0,05$ ) e do tempo ( $F_{20, 1532}= 3826,0$ ,  $p<0,001$ ), bem como interação entre os grupos e o tempo ( $F_{60, 1532}=7,7$ ,  $p<0,001$ ) sobre o comprimento da cauda (CC). Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

### Crescimento da cauda de ratos nutridos ou desnutridos tratados com L-triptofano



**Figura 15.** Crescimento da cauda(CC) do 1° ao 21° dia pós-natal (PN) de ratos normais ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/ Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT), ou hipoproteica (DES) durante a lactação subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7° ao 21° dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18) foram diariamente medidos quanto ao comprimento da cauda (mm). Resultados representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD; ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak.

## 6.2 CONSUMO ALIMENTAR DE RATOS NUTRIDOS OU DESNUTRIDOS JOVEM E ADULTO JOVEM TRATADOS CRONICAMENTE COM TRIPTOFANO NO PERÍODO DE ALEITAMENTO.

**Peso corporal - JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos ( $F_{3, 407} = 4,9$ ,  $p < 0,05$ ) sobre o peso corporal de ratos. No período entre o 30° e o 37° dia PN o grupo DES AD apresentou peso corporal menor (17,7%), assim como o grupo DES TRP (21,9%) quando comparados ao controle NUT AD ( $P < 0,05$ ). NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

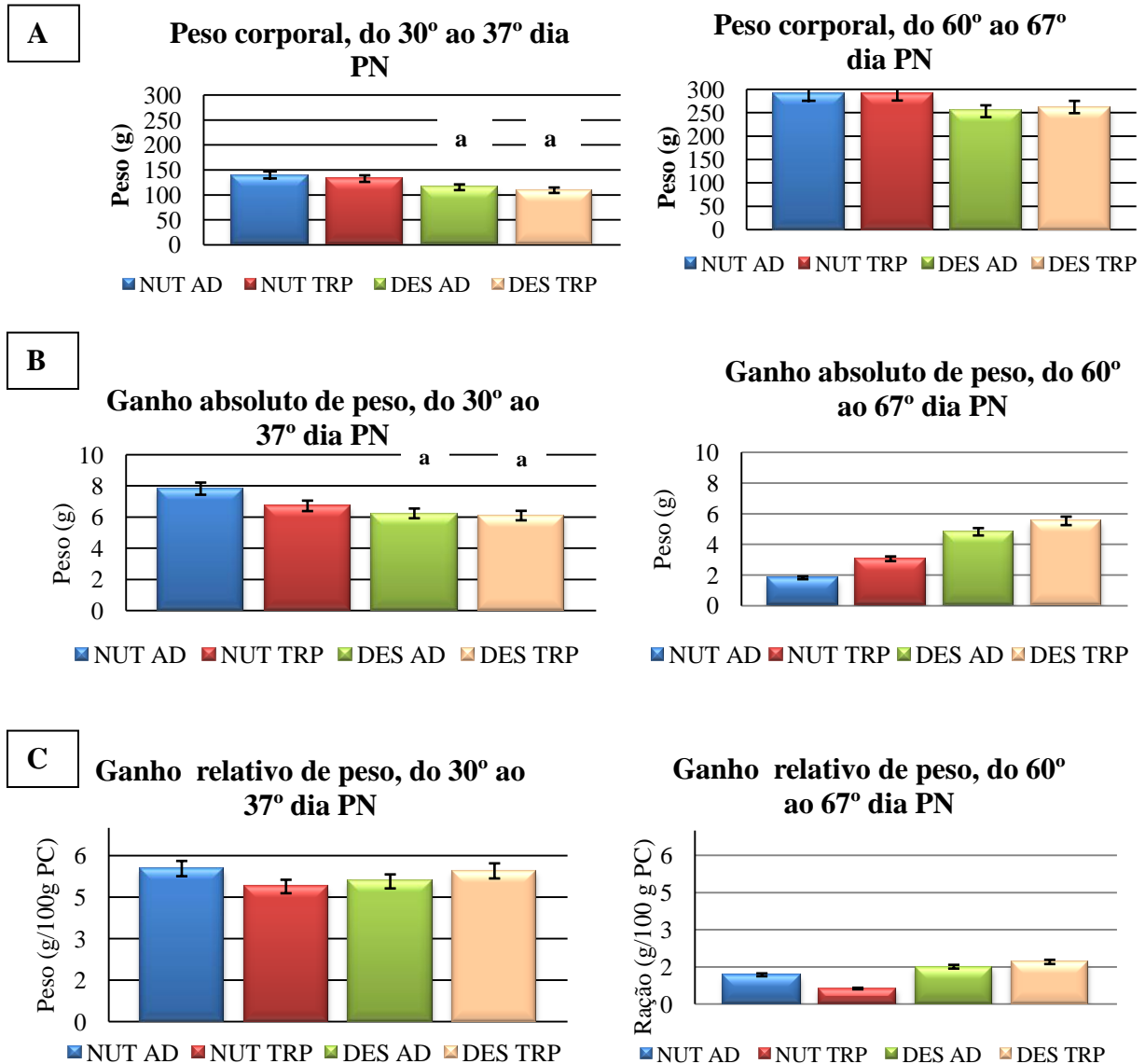
**Peso corporal - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos ( $F_{3, 359} = 2,8$ ,  $p > 0,05$ ) sobre o peso corporal de ratos. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ganho absoluto de peso corporal - JOVEM:** Com relação ao ganho absoluto de peso corporal do 30° ao 37° dia PN, ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos ( $F_{3, 356} = 3,2$ ,  $p < 0,05$ ). Apresentaram redução no ganho ponderal absoluto o grupo DES AD (20,3%) e o DES TRP (22,1%) quando comparados ao NUT AD ( $P < 0,05$ ). NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

**Ganho absoluto de peso corporal - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos sobre o ganho ponderal ( $F_{3, 314} = 1,7$ ,  $p > 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ganho relativo de peso corporal - JOVEM:** Com relação ao ganho relativo de peso corporal de ratos, ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos; ( $F_{3, 356} = 0,51$ ,  $p > 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ganho relativo de peso corporal - ADULTO JOVEM:** Com relação ao ganho relativo de peso corporal de ratos, ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos; ( $F_{3, 269} = 1,2$ ,  $p > 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.



**Figura 16.** Peso absoluto (A), ganho de peso absoluto (B) e relativo (C) de ratos nutridos ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT) ou hipoproteica (DES) durante a lactação foram subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7° ao 21° dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18). O peso foi aferido em balança digital. O ganho de peso absoluto foi obtido durante os 7 dias da avaliação do consumo alimentar e o relativa equivale a 100 g do p.c. Os resultados estão representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD, utilizando-se ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak. a= p < 0,01.

**Ingestão absoluta de ração - JOVEM:** ANOVA demonstra os efeitos dos tratamentos (grupos) ( $F_{3, 356} = 2,0$ ,  $p > 0,05$ ) sobre a ingestão de ração. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ingestão absoluta de ração - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra os efeitos dos tratamentos (grupos) ( $F_{3, 314} = 0,7$ ,  $p > 0,05$ ) sobre a ingestão de ração. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ingestão relativa de ração - JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (grupos) ( $F_{3, 356} = 1,0$ ,  $p > 0,05$ ) sobre a ingestão relativa de ração. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

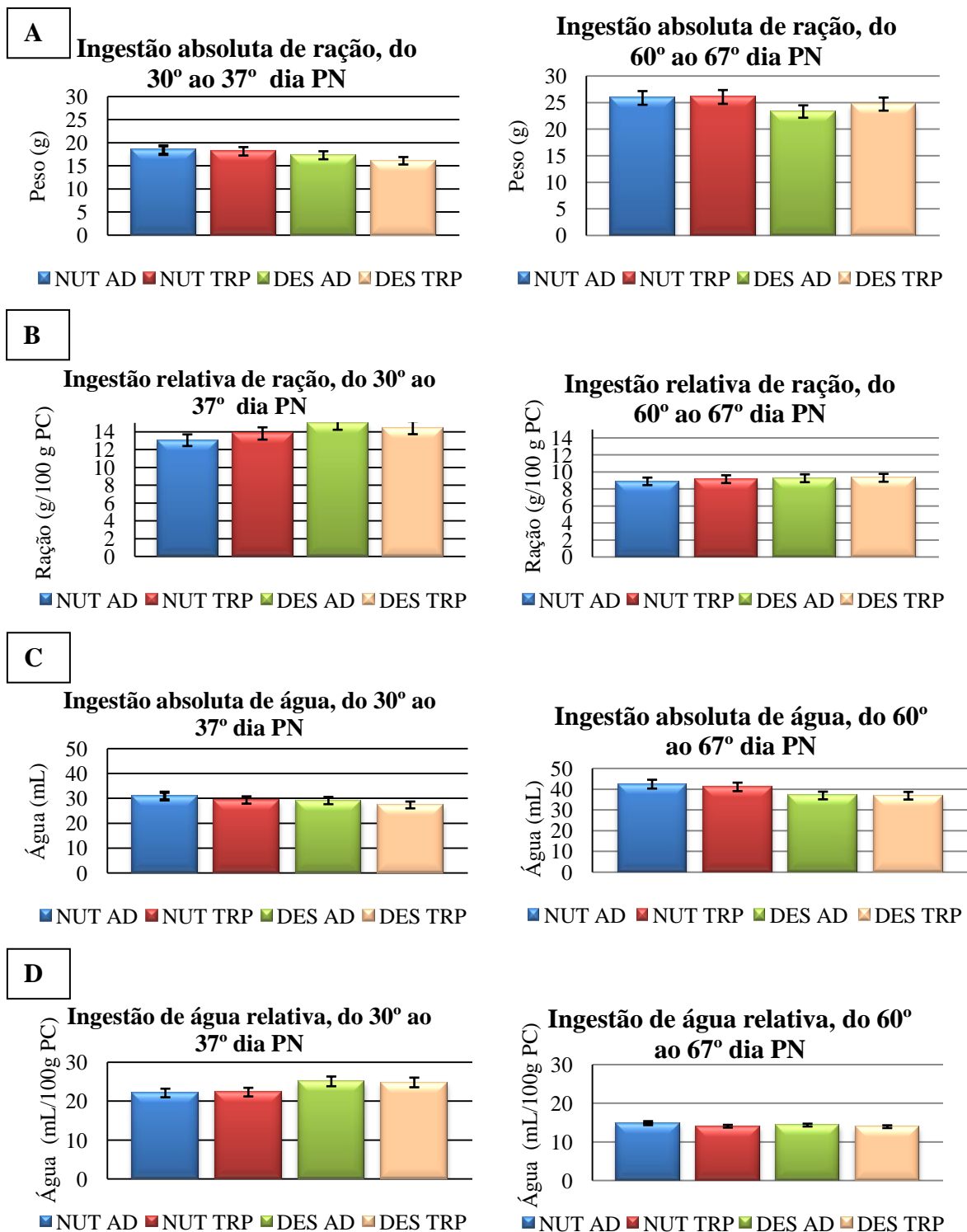
**Ingestão relativa de ração - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (grupos) ( $F_{3,314} = 0,07$ ,  $p > 0,05$ ) sobre a ingestão relativa de ração. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ingestão absoluta de água - JOVEM:** ANOVA mostra o efeito dos tratamentos (grupos) ( $F_{3, 356} = 0,6$ ,  $p > 0,05$ ) sobre a ingestão de água; não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ingestão absoluta de água - ADULTO JOVEM:** ANOVA mostra o efeito dos tratamentos (grupos) ( $F_{3, 314} = 1,1$ ,  $p > 0,05$ ) sob a ingestão de água; não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Ingestão relativa de água - JOVEM:** Foi demonstrado por ANOVA a comparação entre os tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 356} = 1,03$ ,  $p > 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD em relação à ingestão relativa de água.

**Ingestão relativa de água- ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstrou a comparação entre os tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 314} = 0,2$ ,  $p > 0,05$ ). Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD em relação à ingestão relativa de água.



**Figura 17.** Ingestão alimentar absoluta (A) e relativa (B) e, ingestão de água absoluta (C) e relativa (D) de ratos nutridos ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT) ou hipoproteica (DES) durante a lactação foram subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7° ao 21° dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18). A ingestão absoluta foi aferida em balança digital e a ingestão de água em recipiente graduado. As ingestões relativas foram calculadas para 100 g do p.c. Os resultados estão representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD, utilizando-se ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak.  $\alpha = p < 0,01$ .

**Excreção fecal absoluta - JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 356} = 0,5$ ,  $p > 0,05$ ) sob a excreção fecal; Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Excreção fecal absoluta - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 314} = 6,3$ ,  $p < 0,05$ ) sob a excreção fecal; houve diminuição na excreção fecal de DES AD (24,4%) e DES TRP (25,6%) comparados a NUT AD. NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

**Excreção fecal relativa - JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 356} = 3,9$ ,  $p < 0,05$ ) sob a excreção fecal relativa. Foi observado aumento na excreção fecal relativa no grupo DES AD (26,8%), e no grupo DES TRP (24,9%) comparados a NUT AD ( $P < 0,05$ ). NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

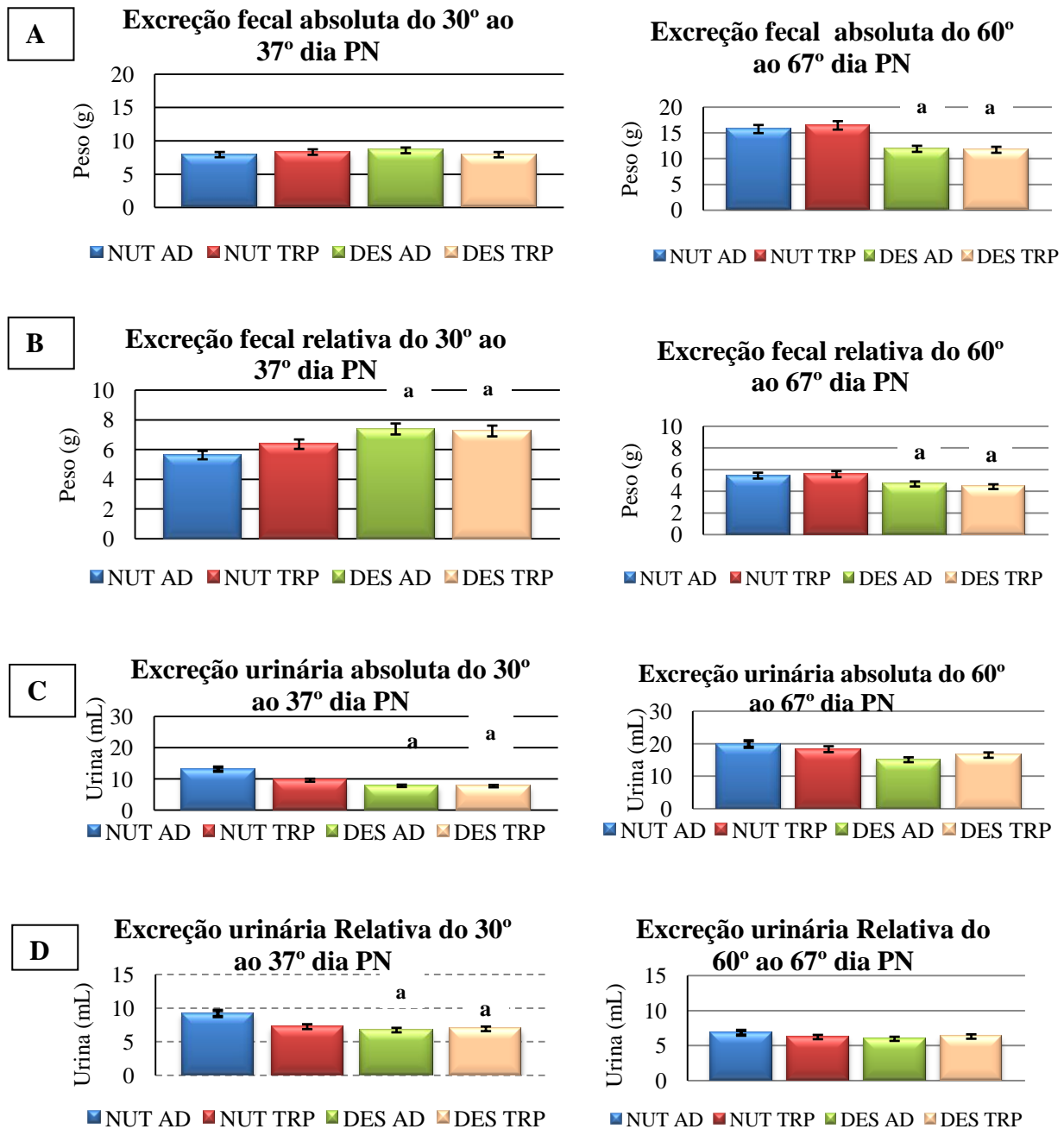
**Excreção fecal relativa - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 314} = 4,1$ ,  $p < 0,05$ ) sob a excreção fecal relativa; foi observada redução na excreção fecal relativa no grupo DES AD (14,2%), e no grupo DES TRP (18,8%) comparados a NUT AD ( $P < 0,05$ ). NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

**Excreção urinária absoluta - JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 356} = 6,59$ ,  $p < 0,05$ ) sob a excreção urinária. Foi observada diminuição do 30° ao 37° dia no grupo DES AD (40,6%) e no grupo DES TRP (41,3%) comparados a NUT AD ( $P < 0,05$ ). NUT TRP não apresentou diferença quando comparado a NUT AD.

**Excreção urinária absoluta - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 314} = 1,6$ ,  $p > 0,05$ ) sob a excreção urinária. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Excreção urinária relativa - JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 356} = 3,42$ ,  $p < 0,05$ ) sob a excreção urinária relativa. Foi observada diminuição do 30° ao 37° dia no grupo DES AD (26,8%) comparados a NUT AD ( $P < 0,05$ ). os grupos NUT TRP e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**Excreção urinária relativa - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 314} = 0,6$ ,  $p > 0,05$ ) sob a excreção urinária relativa. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

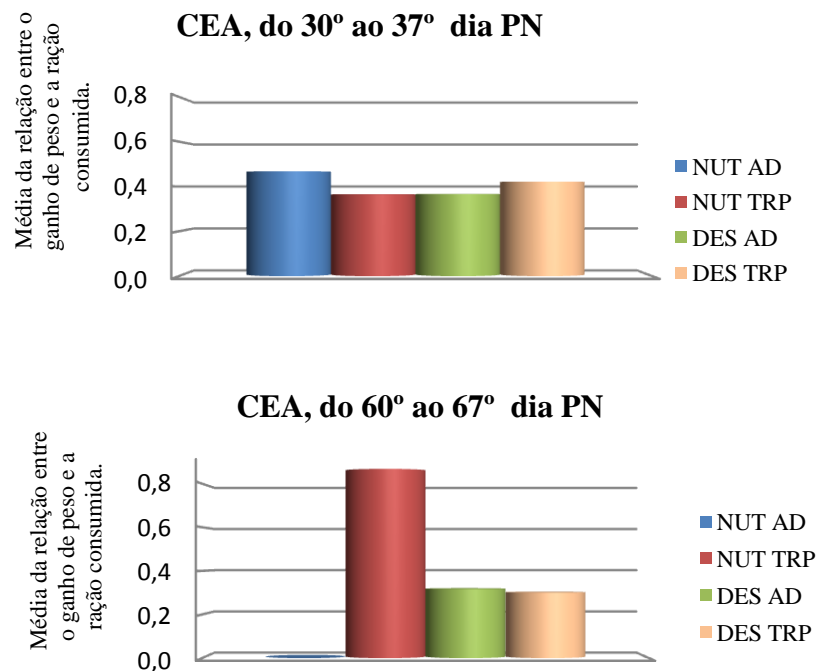


**Figura 18.** Excreção fecal absoluta (A) e relativa (B) e; excreção urinária absoluta (C) e relativa (D) de ratos nutridos ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT) ou hipoproteica (DES) durante a lactação foram subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7° ao 21° dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18). A excreção fecal absoluta foi aferida em balança digital e a eliminação de urina em recipiente graduado. Os valores relativos foram calculados para 100 g do p.c. Os resultados estão representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD, utilizando-se ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak.  $a = p < 0,01$ .

### Relação entre o ganho de peso e a ração consumida (CEA)

**CEA - JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 50} = 0,4$ ,  $p > 0,05$ ) sob a relação ganho de peso/ração consumida. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.

**CEA - ADULTO JOVEM:** ANOVA demonstra o efeito dos tratamentos (Grupos) ( $F_{3, 44} = 0,8$ ,  $p > 0,05$ ) sob a relação ganho de peso/ração consumida. Não houve diferença entre os grupos NUT TRP, DES AD e DES TRP quando comparados a NUT AD.



**Figura 19.** CEA de ratos nutridos ou desnutridos tratados ou não com L-triptofano 15 mg/Kg. Ratos Wistar machos cujas mães receberam dieta normoproteica (NUT) ou hipoproteica (DES) durante a lactação foram subdivididos em grupos tratados com uma dose diária (via s.c., 1ml/100g de peso corporal) de L- triptofano 15 mg/Kg (TRP) ou água destilada (AD) do 7° ao 21° dia PN. Grupos assim definidos: (NUT AD, n=17), (NUT TRP, n=20), (DES TRP, n=18) e (DES AD, n=18). O CEA= ganho de peso/ ração consumida. Os resultados estão representados em média  $\pm$  EP. Cada grupo foi comparado ao grupo NUT AD, utilizando-se ANOVA, seguido do teste de Holm-Sidak.



## 7. DISCUSSÃO

---



## DISCUSSÃO

Neste estudo, a restrição proteica materna durante a lactação alterou parâmetros de crescimento durante o período crítico de desenvolvimento do SNC e causou sequelas no comportamento alimentar da prole. Na dose administrada, o triptofano não modificou a programação desses aspectos pela desnutrição, bem como não provocou alterações nos animais nutridos em relação aos aspectos avaliados. Em estudo recentemente publicado, Nascimento et. al (2013) também não observaram modificações no peso e ingestão de ração em ratos nutridos ou desnutridos suplementados com 125 mg/kg/dia de L-triptofano por via oral.

A manipulação do sistema serotoninérgico é frequentemente relatada em virtude do interesse em se conhecer os efeitos de medicações antidepressivas em um período crítico do desenvolvimento (KUMMET, 2012). Para isso, os SSRI são usados em modelos experimentais que avaliam uma variedade de parâmetros. No entanto, o uso do precursor da serotonina, o aminoácido triptofano em ratos neonatos é bastante escasso. Neste estudo, a dose de 15 mg/kg/dia de L-triptofano, não incidiu em aumento da mortalidade dos filhotes, não se caracterizando uma dose tóxica.

Com relação aos efeitos da restrição proteica materna imposta durante a lactação foi observado neste estudo alterações precoces em parâmetros do crescimento da prole, como a redução na evolução do peso corporal durante os 21 dias avaliados, similar a estudos de Lopes de Souza et. al (2008), Melo et. al (2008) e Carvalho-Santos et. al (2010) que usaram modelo de desnutrição semelhante.

A restrição nutricional durante o desenvolvimento pode alterar a expressão genética, e reduzir permanentemente o número de células nos órgãos e tecidos (SAYER, 2005), dessa forma, provavelmente, a desaceleração na evolução do peso corporal provocada pela dieta materna neste estudo, está relacionada com a diminuição do número de fibras musculares na prole (BRAMELD, 2004).

Corroborando com a hipótese acima, Melo (2011) observou que a restrição proteica alimentar durante a lactação reduziu o número e morfologia dos miotubos de filhotes nas idades de 42, 60 e 90 dias e Alves et. al (2008) observaram que ratos cujas mães foram submetidos à dieta hipoproteica na gestação e lactação apresentaram diminuição dos pesos corporais e

musculares, com menores fibras musculares, maior polimorfismo e tecido conjuntivo endomisial, sugerindo um retardo na diferenciação das características morfológicas, metabólicas e contráteis das fibras em desenvolvimento.

O eixo longitudinal avaliado no presente trabalho reflete o crescimento corporal, que em determinado espaço de tempo do período de aleitamento, apresentou retardo, corroborando com pesquisas de Moura et. al (2007) ao observar as repercussões nos filhotes de ratas com restrição de proteínas na lactação e estudo de Lima et. al (2011) que utilizou o desmame precoce para promover a desnutrição. A desnutrição proteica tem sido extensamente relacionada aos déficits de ganho ponderal e de estatura, com implicações gerais sobre o desenvolvimento de órgãos e sistemas em humanos e em ratos (PEREIRA, 2009).

Em adição, este estudo avaliou os eixos craniais nos filhotes, observando redução de maneira semelhante ao estudo de Fernandes et. al (2008) que evidenciou reduções nas dimensões craniofaciais tanto em filhotes submetidos à dieta hipocalórica quanto à dieta hipoproteica na lactação, sendo as maiores reduções apresentadas pelo grupo com restrição proteica. No presente estudo duas medidas simultâneas foram realizadas e constatou-se o déficit no crescimento, denotando que a desnutrição se constituiu em agressão, alterando o adequado crescimento das diferentes estruturas do arcabouço craniofacial.

O crescimento da cauda não diferiu entre os grupos, diferente do estudo de Silva et. al (2006) que ao estudar parâmetros de crescimento em filhotes de ratas submetidas à dieta hipoproteica na lactação, visualizaram redução em todos os parâmetros de crescimento analisados, inclusive no crescimento da cauda.

O retardo nos parâmetros de crescimento somático dos filhotes causado pela alteração na dieta materna no presente estudo se relaciona a observação da menor concentração de proteínas no leite de ratas submetidas à desnutrição proteica durante a lactação em comparação ao das ratas com alimentação normal (PASSOS, 2000). Além disso, nossos resultados se amparam naqueles de Riul et. al (1999) que observaram em animais desnutridos durante a lactação, mudanças no comportamento de interação mãe-filhote com redução na frequência da amamentação, contribuindo para menor peso e velocidade de crescimento dos animais.

Os danos no crescimento dos filhotes de mães submetidas à restrição proteica neste estudo podem estar relacionados ainda à relação entre desnutrição e aumento cerebral de serotonina (MORGANE et al., 2002; MANJARREZ et al., 2003), já que a 5-HT exerce efeito trófico em

tecidos neurais e também em tecidos não neurais (MOISEIWITSCH e LAUDER,1996), podendo influenciar na redução dos parâmetros de crescimento, de forma semelhante aos estudos usando SSRI (LOPES DE SOUZA, 2005; DEIRÓ et al., 2008), que promovem aumento da disponibilidade de serotonina na fenda sináptica (BAUMMAN e ROCHAT, 1995; LAUNAY et al., 2006; LI, 2006).

Com relação aos efeitos duradouros, um aspecto importante sobre a desnutrição a se considerar neste estudo, é que apesar do déficit (26,4%) apresentado no peso corporal comparado ao grupo nutrido no período neonatal essa diferença foi diminuindo no decorrer do tempo, chegando a 17,7% na idade jovem e desaparecendo na idade adulto jovem, sendo que nesta idade, houve uma tendência ao aumento do ganho de peso corporal absoluto e relativo. Este resultado sugere uma indução fenotípica pela desnutrição (ROSEBOOM, 2001; BURDGE, 2007) levando a uma rápida recuperação do peso corporal mediante a normalização da oferta proteica.

Esta inclinação à rápida recuperação do desenvolvimento aqui observada pode ser comparada a resultados encontrados por Bieswal et. al (2006) e Ferreira e Silva et. al (2009) em um modelo de desnutrição na gestação em que a restrição de proteínas e calorias levou a um retardo de crescimento desde o nascimento, no entanto, em determinado período da vida adulta, houve uma aceleração no ganho ponderal (*catch-up*), e o grupo estudado tornou-se mais pesado que o alimentado normalmente.

Apesar de não serem avaliados indicadores metabólicos neste estudo, podemos inferir uma maior ocorrência de fatores de risco de desenvolvimento de doenças crônicas nos animais precocemente desnutridos. A indução de plasticidade fenotípica pela desnutrição culmina em alterações cerebrais que podem ser de ordem química e/ou morfológica e ocorrer em diversas estruturas, como o hipotálamo, que tem papel chave no controle da expressão comportamental e da homeostase energética (WAUBEN, 1999). Assim, estudos recentes estão mostrando que alterações em longo prazo causadas por agressão nutricional, em um período crítico, podem originar doenças crônicas no adulto (RAVELLI et al., 1999; ROSEBOOM, 2001; OZANNE E HALES, 2002).

Em face da administração crônica de L- triptofano durante o período crítico de desenvolvimento do encéfalo foi demonstrado, neste trabalho, que a dose administrada, não promoveu alterações de parâmetros de crescimento e consumo alimentar de animais nutridos ou desnutridos durante a lactação.

A não ocorrência de alterações relacionadas à administração de triptofano neste estudo relaciona-se à rápida resposta do metabolismo proteico no fígado de animais desnutridos (MUNRO, 1975), além disso, animais recém-nascidos possuem maior síntese proteica que adultos, sendo elevadas as concentrações intracelulares da maioria dos aminoácidos (METCOFF, 1986), levando à suposição que o L- triptofano administrado tenha seguido o metabolismo periférico, sendo incorporado à síntese protéica no fígado e em outros tecidos (CHRISTENSEN, 1964; MUNRO, 1970), não atravessando a BHE para formação de serotonina.

Como mencionado anteriormente, a redução nos parâmetros de crescimento nos animais desnutridos neste estudo pode estar relacionada com a redução no tecido muscular. Neste sentido, especula-se que no grupo desnutrido que recebeu triptofano, este aminoácido, no fígado dos animais desnutridos, pode ter sido utilizado para função plástica (MUNRO, 1970), formando proteínas musculares afetadas pela desnutrição, refletindo em uma menor redução dos parâmetros de crescimento.

Os animais nutridos e desnutridos se comportaram de maneira similar em relação ao consumo de ração, excreção fecal, consumo hídrico e excreção urinária independente da administração de L-triptofano.

Com relação ao consumo alimentar após o desmame, os ratos precocemente desnutridos aqui avaliados, apresentaram equiparação do peso corporal em relação ao grupo nutrido na idade adulto jovem (60 dias), apesar de não ter sido observado aumento significativo do consumo de ração, pode-se observar o aumento na excreção fecal relativa na idade jovem destes animais. Portha et. al (2011) afirma que a fase jovem é considerada a fase de hiperfagia de filhotes de ratos desnutridos.

Em contrapartida, estudo de Fagundes et.al (2007) mostrou que a restrição protéica durante a lactação diminuiu a massa de gordura visceral e gordura total do corpo, refletindo em diminuição do peso corporal na prole adulta, sem alterações na ingestão alimentar. No atual estudo, o menor peso corporal pode ainda estar relacionado à diminuição no tecido gorduroso destes animais.

A ausência de diferença em relação ao consumo de ração e ao Coeficiente de Eficácia alimentar (CEA), pode também estar relacionada a alterações nos sensores nutricionais hipotalâmicos e na transmissão do sinal simpático via receptores adrenérgicos no músculo,

reduzindo o metabolismo energético (OROZCO-SOLIS et al., 2011) e propiciando ganho de peso mesmo sem aumento no consumo de ração.

Na idade adulto jovem houve diminuição na excreção fecal absoluta e relativa dos animais desnutridos. Outros estudos são necessários para melhor explicar tais achados.

Neste estudo houve redução na excreção urinária absoluta e relativa na idade jovem dos animais desnutridos sendo normalizada na idade adulta de forma semelhante ao peso corporal. Estudos recentes relacionam a restrição proteica materna perinatal à diminuição do número de néfrons, redução na taxa de filtração glomerular e consequente aumento do risco de hipertensão na vida adulta da prole (LUZARDO et al., 2011; SAHAJPAL & ASHTON, 2003). Avaliações da função renal e pressão arterial se fazem necessárias para melhor entender o metabolismo hídrico nestes animais.

Neste estudo o uso de 15 mg/Kg/dia de L-triptofano não incorreu em mudanças em parâmetros de crescimento e consumo alimentar avaliados. Em humanos, estudo de seis semanas com uma dosagem diária de 20 mg/kg de triptofano resultou em cessação da compulsão alimentar e da ingesta, efeitos associados ao aumento da serotonina. Em ratos adultos uma dose diária de 50mg/Kg foi necessária para se observar efeitos na redução da ingestão alimentar, sem que houvesse diferença no ganho ponderal (CARVALHO-SANTOS, 2010). Já Nascimento et. al (2013) observou que a suplementação de 125mg/Kg/dia por via oral de L-triptofano não alterou o ganho de peso, nem o padrão de alimentação em ratos nutridos ou desnutridos sugerindo que a dosagem e forma de administração utilizadas podem influenciar na via metabólica seguida pelo triptofano.

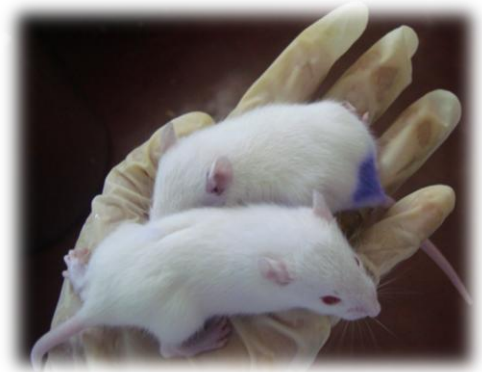
Por fim, com as devidas precauções, pode-se inferir que restrição proteica durante períodos críticos interferem no crescimento e consumo alimentar jovem e adulto jovem, entretanto, pequenas doses de L- triptofano *de per se* parece não ter causado significativa alteração na síntese da 5-HT e consequentes efeitos tróficos e morfofuncionais que repercutisse no crescimento e no comportamento alimentar dos animais nutridos ou desnutridos.

Ademais, este estudo deverá contribuir para o surgimento de novas pesquisas visando melhor compreender a ação do precursor da serotonina em estados nutricionais de carência proteica, os possíveis desvios metabólicos de aminoácidos na desnutrição, os efeitos de diferentes doses do L-triptofano no período crítico em estruturas musculares, ósseas e cartilaginosas e de

órgãos alvo inclusive o encéfalo no sentido de investigar-se o aumento da síntese serotoninérgica a nível neural e nos tecidos onde a 5-HT atua.

## 8. CONCLUSÃO

---



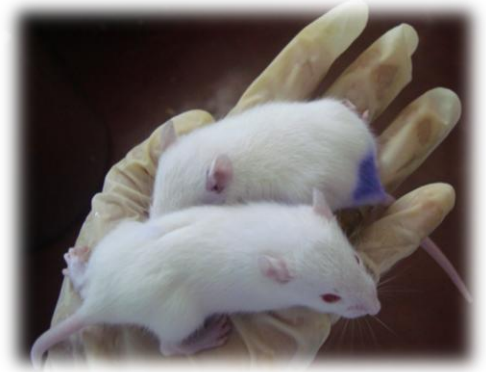


## CONCLUSÃO

- A restrição proteica materna durante a lactação promoveu redução de parâmetros de crescimento somático durante o período neonatal.
- A restrição proteica materna durante a lactação promoveu redução na velocidade da evolução ponderal dos filhotes e no ganho de peso até a fase jovem, mostrando na idade adulta jovem, alterações nesses parâmetros, sugerindo possível recuperação nutricional (*catch up*).
- Nas condições do estudo, a administração de L-triptofano, na dose de 15mg/Kg/dia não modificou parâmetros de crescimento e do consumo alimentar de ratos nutridos ou desnutridos.

## 9. PERSPECTIVAS

---



## PERSPECTIVAS

Em ratos nutridos ou desnutridos tratados com triptofano no período crítico, avaliar:

- O comportamento alimentar em idades mais avançadas (por exemplo, aos 90 dias de vida) com realização de medidas murinométricas em diferentes fases da vida até a idade adulta para avaliação de efeitos em períodos mais tardios.
  
- A serotonina em diferentes estruturas cerebrais com vistas a elucidar o aumento da síntese serotoninérgica a partir da dose de triptofano administrada.
  
- Os efeitos com doses mais elevadas de triptofano, de forma a construir uma curva dose-resposta.
  
- Os indicadores metabólicos visando observar uma possível programação para o desenvolvimento de doenças crônicas.
  
- A expressão de receptores durante o crescimento e desenvolvimento de animais neonatos em diferentes fases do período de aleitamento e após o tratamento crônico com drogas que interfiram no sistema 5-HT.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. et al. Infectious endocarditis caused by Q fever. Apropos of a clinical case. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 15, n. 11, p. 799-803, 1996.
- ALVES, A. P.; DÂMASO, A.R.; DAL PAI; V. Efeito da desnutrição protéica pré e pós-natal sobre a morfologia, a diferenciação e o metabolismo do tecido muscular estriado esquelético em ratos. **Jornal de Pediatria**, 2008.
- AZMITIA, E.C. Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. **Brain Research Bulletin**, v. 56, n.5, p.413-24, 2001.
- AZMITIA, E.C. Serotonin neurons, neuroplasticity, and homeostasis of neural tissue. **Neuropsychopharmacology**.v.21, n.2,p.33-45.1999.
- AZMITIA, E.C; SEGAL, M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 179, n. 3, p. 641-68, 1978.
- BALLABRIGA, A. Life style, environment and childhood diseases. **Anales Espanoles de Pediatria**, v.33, n.42, p.1-19, 1990.
- BARKER, D.J. Fetal origins of cardiovascular disease. **Annals of Medicine**, n.1, p. 3-6, 1999.
- BARRETO- MEDEIROS, J.M. et al. Early malnourished rats are not affected by anorexia induced by a selective serotonin reuptake inhibitor in adult life. **Nutritional Neuroscience**, v.5, p. 211-214, 2002.
- BASTOS, E.F. et al. Fluoxetine-induced plasticity in the rodent visual system. **Brain Research**, v. 824, p. 28-35, 1999.
- BATESON, P. et al. Developmental plasticity and human health. **Nature**, p. 419-421, 2004.
- BAUMMAN, P.; ROCHAT, B. Comparative pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors: a look behind the mirror. **International Clinical Psychopharmacology**, v.10, n.1, p.15-21, 1995.

BENES, F. M. et al. Convergence and plasticity of monoaminergic systems in the medial prefrontal cortex during the postnatal period: implications for the development of psychopathology. **Cerebral Cortex**, v.10, n.10, 2000.

BIESWAL, F. et al. The importance of catch-up growth after early malnutrition for the programming of obesity in male rat. **Obesity**, v.14, n.8, p.1330-43, 2006.

BLOXAM, D. L.; WARREN, W. H.; WHITE, P. J. Involvement of the liver in the regulation of tryptophan availability: possible role in the responses of liver and brain to starvation. **Life Sciences**, v. 15, p. 1443-1445, 1974.

BLUNDELL, J.E. Serotonin and appetite. **Neuropharmacology**, v.23, p. 1537-51, 1984.

BLUNDELL, J.E. Serotonin and the biology of feeding. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 55, n.1, p. 155S-159S, 1992.

BORUE, X.; CHEN, J.; CONDRON, B. G. Developmental Effects of SSRI's – Lessons learned from Animal Studies. **Int J Dev Neurosci**, v.25, n.6, p.341-347, 2007.

BRAMELD, J.M; The influence of undernutrition on skeletal muscle development. **British Journal of Nutrition**, v.91, p.327–328, 2004.

BRONZINO, J. et al. The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 2, p.137-230, 1978.

BURDGE, G.C. et al. Epigenetic regulation of transcription: a mechanism for inducing variations in phenotype (fetal programming) by differences in nutrition during early life? **British Journal of Nutrition**, v.97, n.6, p.1036-46, 2007.

BURNS, E.M. The effects of stress during the brain growth spurt. **Annual Review of Nursing Research**, v.8, p.57-82, 1990.

CARVALHO-SANTOS, J. Efeito do tratamento com triptofano sobre o consumo alimentar em ratos adultos submetidos a desnutrição neonatal. **Dissertação** (Mestrado)- Escola de Nutrição, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 2008.

CARVALHO-SANTOS, J. et.al. Efeito do tratamento com triptofano sobre parâmetros do comportamento alimentar em ratos adultos submetidos à desnutrição neonatal. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.23, n.4, p.503-511, 2010.

CASPI, A. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science**, v. 301, p. 386–9, 2003.

CHRISTENSEN, H. N. Free amino acids and peptide in tissues. In: UNRO, H. N.; ALLISON, J. B. (eds.). *Mammalian Protein Metabolism*, **Academic Press**, v. 1, p. 105-124, 1964.

DEIRÓ, T. C. B. J. et al. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats. **Physiology Behavior**, v.87, p.338-344, 2006.

DEIRÓ, T.C.B.J. et al. Neonatal exposure to citalopram, a serotonin selective reuptake inhibitor, programs a delay in the reflex ontogeny in rats. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v.66, p. 736-740, 2008.

DIAMOND, M.C. et al. Plasticity in the 904-day -old male rat cerebral cortex. **Experimental Neurology**, v.87, p. 309-317, 1985.

DOBBING, J. Undernutrition and the developing brain: the use of animal models to elucidate the human problem. **Psychiatria, neurologia, neurochirurgia**, v.74, n.6, 1971.

DOBBING, J.; SANDS J. Comparative aspects of the brain growth spurt. **Early Human Development**, v.3, n.1, p. 79-83, 1979.

ECCLESTON, D.; ASHCROFT, G. W.; CRAWFORD, T. B. Effect of tryptophan administration on 5HIAA in cerebrospinal fluid in man. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 33, p. 269-272, 1970.

FAGUNDES, A.T.S. et al. Maternal low-protein diet during lactation programmes body composition and glucose homeostasis in the adult rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v. 98, p. 922-928, 2007.

FERNANDES, R.M. et al. Maternal malnutrition during lactation reduces skull growth in weaned rat pups: Experimental and morphometric investigation. **Anatomical Science International**, v.83, p. 123-130, 2008.

FERNSTROM, J. D. Effects and side effects associated with the non-nutritional use of tryptophan by humans. **Journal of Nutrition**, v.142, n.12, p.2236S-2244S, 2012.

FERNSTROM, J. D. Role of precursor availability in the control of monoamine biosynthesis in brain. **Physiology**, v.63, p.484-546, 1983.

FERNSTROM, J.D. Can nutrient supplements modify brain function? **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n.6, p.1669S-75S, 2000.

FERNSTROM, J.D. et al. The ingestion of different dietary proteins by humans induces large changes in the plasma tryptophan ratio, a predictor of brain tryptophan uptake and serotonin synthesis. **Clinical Nutrition**, p. S0261-5614, 2013.

FERNSTROM, M.H.; FERNSTROM, J.D. Brain tryptophan concentrations and serotonin synthesis remain responsive to food consumption after the ingestion of sequential meals. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.61, p. 312-9, 1995.

FERREIRA-E-SILVA, W. T. ; GALVÃO, B. A. ; FERRAZ-PEREIRA, K. N. ; DE-CASTRO, C. B. ; MANHÃES-DE-CASTRO, R. . Perinatal Malnutrition Programs Sustained Alterations in Nitric Oxide Released by Activated Macrophages in Response to Fluoxetine in Adult Rats. *Neuroimmunomodulation (Basel)*, v. 16, p. 219-227, 2009.

GALINDO, L.C.M. **Efeitos do tratamento neonal com Inibidores seletivos de recaptação de serotonina sobre a atividade osteoblástica e o crescimento de fêmures de ratos.** Dissertação (Mestrado) - Departamento de Anatomia Patológica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

GLUCKMAN, P. D. et al. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 1, p. 6-73, 2008.

GLUCKMAN, P.D.; BEEDLE, A.S. Match fitness: development, evolution, and behavior: comment on Frankenhuis and Del Giudice. **Developmental Psychology**, v.48, n.3, 2012.

GREEN, A.R. et al. Metabolism of an oral tryptophan load. II. Effect of pretreatment with the putative tryptophan pyrrolase inhibitors nicotinamide or allopurinol. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 10, p. 617-619, 1980.

HEN, R. Structural and functional conservation of serotonin receptors throughout evolution. **Exs**, v. 63, p.266-78, 1993.

HENDRICK, V. et al. Placental passage of antidepressant medications. **Am J Psychiatry**, v. 160, p. 993-6, 2003.

HOLMES, A. et al. Abnormal anxiety-related behavior in serotonin transporter null mutant mice: the influence of genetic background. **Genes, Brain and Behavior**, v.2, p.365-80, 2003.

HOYER, D. et al. International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). **Pharmacological Reviews**, v. 46, 157, 1994.

JANUSONIS, S.; GLUNCIC, V.; RAKIC, P. Early serotonergic projections to Cajal-Retzius cells: relevance for cortical development. **J Neurosci**, v.24, p.1652-9, 2004.

JOSEPH, M. H.; YOUNG, S. N.; CURZON, G. The metabolism of a tryptophan load in rat brain and liver: the influence of hydrocortisone and allopurinol. **Biochemical Pharmacology**, v. 25, p. 2599-2604, 1976.

KUMMET, G.J. et al. Neonatal SSRI Exposure Programs a Hypermetabolic State in Adult Mice. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v.2012, 8p, 2012.

LAM, D.D; HEISLER, L.K. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes. **Expert Rev Mol Med**, v. 9, n. 5, p. 1-24, 2007.

LAUNAY, J. M. et al. Serotonin transport and serotonin transporter-mediated antidepressant recognition are controlled by 5-HT<sub>2B</sub> receptor signaling in serotonergic neuronal cells. **FASEB Journal**, v. 20, n. 11, p. 1843-1854, 2006.

LAUTENSCHLAGER, M.; HOLTJE, M. et al. Serotonin uptake and release mechanisms in developing cultures of rat embryonic raphe neurons: age- and region-specific differences. **Neuroscience**, v.99, n.3, 2000.

LEE, L. J. Neonatal fluoxetine exposure affects the neuronal structure in the somatosensory cortex and somatosensory-related behaviors in adolescent rats. **Neurotoxicity Research**, v.15, n.3, p.212-23, 2009.

LENT, Roberto. **Cem bilhões de neurônios?** Conceitos fundamentais de neurociência. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

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

LI, Q. Cellular and molecular alterations in mice with deficient and reduced serotonin transporters. **Molecular Neurobiology**, v.34, n.1, p.51-66, 2006.

LIMA, N. da S. et al. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. **British Journal of Nutrition**, v.105, n.9, p.1405-13, 2011.



LIRA, A. Altered depression-related behaviors and functional changes in the dorsal raphe nucleus of serotonin transporter-deficient mice. **Biological Psychiatry**, v.54, p. 960–71, 2003.

LOPES DE SOUZA, S. et al. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **European Journal of Neuroscience**, v. 27, n.6, p.1400-8, 2008.

LOPES DE SOUZA, S. **Sistema serotoninérgico: Estudo comportamental e neuroanatômico por manipulação farmacológica e nutricional em ratos neonatos**.2005. 174p. Tese (doutorado) Universidade de São Paulo, São Paulo.

LUZARDO, R. et al. Metabolic programming during lactation stimulates renal Na<sup>+</sup> transport in the adult offspring due to an early impact on local angiotensin II pathways. **PLoS One**, v.6, n.7, 2011.

MAGALHÃES, C. P. et al. Neonatal treatment effect with selective inhibitor of 5-HT recapture on [corrected] the cranium-encephalic anatomic development. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, v.64, n.4, p.990-3. 2006.

MANHÃES DE CASTRO, R. **Etude de la participation des recepteurs centraux de la serotonine du type 5-HT1B dans la reactions cerebrales au stress et dans le mecanisme d'acção des antidepressives**.1995. 264p. Tese (doutorat)- Université Pierre et Marie Curie, Paris.

MANJARREZ, G. et al. Serotonergic receptors in the brain of in utero undernourished rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.21, n.5,p. 283-9, 2003.

MELO, J. F. et al. Efeito da desnutrição neonatal sobre o recrutamento celular e a atividade oxidante-antioxidante de macrófagos em ratos adultos endotoxêmicos. **Revista de Nutrição**, v.21, n.6, p. 683-694, 2008.

MELO, J.F.M. et al. Effect of a neonatal lowprotein diet on the morphology of myotubes in culture and the expression of key proteins that regulate myogenesis in young and adult rats. **European Journal of Nutrition**, v.50, n.4, 2011.

METCOFF, J. Intracellular amino acid levels as predictors of protein synthesis. **Journal of the American College of Nutrition**. V.5, n.2, p. 107-20, 1986.

MILLER, J. P.; GERMAN R. Z. Protein malnutrition affects the growth trajectories of the craniofacial skeleton in rats. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 2061-9, 1999.

MOISEWITSCH, J.R.D.; LAUDER, J.M. Stimulation of murine tooth development inorganotypic culture by the neurotransmitter serotonin. **Archives of Oral Biology**, v.41, n.2, p.161-165, 1996.

MORGANE, P.J.; MILLER, M.; KEMPER, T.; STERN, W.; FORBES, W.; HALL, R.; BRONZINO, J.; KISSANE, J.; HAWRYLEWICZ, E. & RESNICK, O. The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 2: 137-230, 1978.

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

MORGANE, P.J., MOKLER, D.J., GALLER, J.R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev.** 2002 Jun;26(4):471-83. Review.

MOURA, E.G. et al. Malnutrition during lactation changes growth hormone mRNA expression in offspring at weaning and in adulthood. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, n.2, p.134-9, 2007.

MUNRO H.N. Regulation of protein metabolism in relation to adequacy of intake. **Infusionsther Klin Ernahr**, v.2, n.2, p.112-7, 1975.

MUNRO, H. N. Free amino pools and their role in regulation. In: MUNRO, H. N. (ed.) *Mammalian Protein Metabolism*, **Academic Press**, v. 4, p. 299-386, 1970.

MURPHY, D.L. et al. Serotonin transporter: gene, genetic disorders, and pharmacogenetics. **Mol Interv**, v.4, p. 109-23, 2004.

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

NOGUEIRA, M.I. et al. Serotonina – trajetória evolutiva de uma molécula de ampla ação trófica e neurogical. **Ciência Hoje**, v. 34, p. 30-35, 2004.

OLIVIER, B.; OORSCHOT, R. V. 5-HT1B Receptors and Aggression: A Review. **European Journal of Pharmacology**, v.526, p.207-17, 2005.

OROZCO-SOLÍS, R. et al. Perinatal nutrient restriction induces long-lasting alterations in the circadian expression pattern of genes regulating food intake and energy metabolism. **International Journal of Obesity**, v. 9, p. 1-11, 2011.

OZANNE, S.E. et al. Altered muscle insulin sensitivity in the male offspring of protein-malnourished rats. **American Journal of Physiology**, v.271, p.E1128-E1134, 1996.

OZANNE, S.E., HALES, C.N. Pre- and early postnatal nongenetic determinants of type 2 diabetes. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v.4, n.24, p.1-14, 2002.

PARDRIDGE, W.M.; OLDENDORF, W.H. Kinetic analysis of blood-brain barrier transport of amino acids. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 401, n. 1, p. 128-36, 1975.

PASSOS, M.C.F.; RAMOS, C.F.; MOURA, E.G. Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. **Nutrition Research**, v.20, n.11, p.1605-1614, 2000.

PEREIRA, K. N. F. Repercussões da Desnutrição e/ou da Inibição Neonatal da Recaptação de Serotonina no Desenvolvimento Neuromuscular do Trato Gastrointestinal: Revisão da Literatura. **Neurobiologia**, v.72, n.2, p. 145-153, 2009.

PETRISIC, M.S.; AUGOOD, S.J.; BICKNELL, R.J.; Monoamine transporter gene expression in the central nervous system in diabetes mellitus. **Journal of Neurochemistry**, v. 68, p. 2435- 2441, 1997.

PORTHA, B.; CHAVEY, A.; MOVASSAT, J. Early-life origins of type 2 diabetes: fetal programming of the beta-cell mass. **Experimental Diabetes Research**, 2011.

QUINN, R.D.V.M. Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? **Nutrition**, v. 21, n.6, p.775-7, 2005.

RAVELLI, A.C. et al. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.70, p.811-816, 1999.

RAVELLI, G.P; STEIN,Z.A.; SUSSER, M.W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **The New England Journal of Medicine**, v. 297, n.7, p.349-53, 1976.

REUSENS, B.; REMACLE, C. Effects of maternal nutrition and metabolism on the developing endocrine pancreas. In: **Fetal Origins of Cardiovascular and Lung Disease**, New York: Ed. D. Barker, p. 339-358, 2001.

RIUL, T.R. et al. Ethological analysis of mother-pup interactions and other behavioral reactions in rats: effects of malnutrition and tactile stimulation of the pups. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n.8, p.975-83, 1999.

ROSEBOOM, T.J. The fetal origins hypothesis. **Twin Research**, v.4, n.5, 2001.

SALLER, C.F; STRICKER, E.M. Hyperphagia and increased growth in rats after intraventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. **Science**, v. 192, n. 4237, p. 385-7, 1976.

SAHAJPAL, V.; ASHTON, N. Renal function and angiotensin AT1 receptor expression in young rats following intrauterine exposure to a maternal low-protein diet. **Clin Sci (Lond)**, v.104, n.6, 2003.

SAYER, A.A, COOPER, C. Fetal programming of body composition and musculoskeletal development. **Early Human Development**, v.81, p.735–744, 2005.

SHABBIR, F. et al. Effect of diet on serotonergic neurotransmission in depression. **Neurochemistry International**, v.62, n.3, p.324-9, 2013.

SHEN, Y.B. et al. Effects of increasing tryptophan intake on growth and physiological changes in nursery pigs. **Journal of Animal Science**, v.90, n.7, p.2264-75, 2012.

SIEGEL, A. et al. Neuropharmacology of brain-stimulation-evoked aggression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**.v. 23, n.3, p.59-89, 1999.

SILVA, H. J. et al. Malnutrition and somatic development: Application of protocol of mensuration to evaluation of indicators of Wistar rats. **International Journal of Morphology**, v.24, n.3, p. 469-474, 2006.

SIMANSKY, K.J. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. **Behavioural Brain Research**,v. 73, p. 37-42, 1996.

SMART, J.L. & DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Research**, v. 28, p. 85-95, 1971a.

STEWART, R.J.; PREECE, R.F.; SHEPPARD, H.G. Twelve generations of marginal protein deficiency. **British Journal of Nutrition**, v.33, p.233-253, 1975.

TURNER, E.H.; LOFTIS, J.M.; BLACKWELL, A.D. Serotonin a la carte: Supplementation with the serotonin precursor 5-hydroxytryptophan. **Pharmacology & Therapeutics**, v.109, p.325– 338, 2006.

VITALIS, T.; PARNAVELAS, J.G. The role of serotonin in early cortical development. **Developmental Neuroscience**, v.25, p.245-56, 2003.

WARD,R.M. et al. Use of psychoactive medication during pregnancy and possible effects on the fetus and newborn. Committee on Drugs. American Academy of Pediatrics. **Pediatrics**, v.128, n.1, 2000.

WAUBEN, I.P.;WAINWRIGHT, P.E. The influence of neonatal nutrition on behavioral development: a critical appraisal. **Nutrition Reviews**, v.57, n.2, p.35-44, 1999.

WEISSMAN, A.M. Pooled analysis of antidepressant levels in lactating mothers, breast milk, and nursing infants. **American Journal of Psychiatry**,v.161, p. 1066–78, 2004.

WINICK, M.; ROSSO, P.; BRASEL, J.A. Malnutrition and cellular growth in the brain: existence of critical periods. In: **Lipids malnutrition and the development brain**. Amsterdam: CIBA Foundation Symposium 1972:199-212.

YOUNG, S. N.; ORAVEC, M. The effect of growth hormone on the metabolism of a tryptophan load in liver and brain of hypophysectomized rats. **Canadian Journal of Biochemistry**, v. 57, p. 517-522, 1979.

## ANEXOS

### ANEXO A- Resumo apresentado em Congresso: FeSBE 2011, Rio de Janeiro.

#### MOTHER MALNUTRITION AND MATERNAL TREATMENT WITH L-TRYPTOPHAN (15 mg): EFFECTS ON THE PHYSICAL OCCURRENCE OF NEWBORN RATS WISTAR.

MEIRA, G. L. S. <sup>1</sup>; RÊGO, L. C. <sup>2</sup>; GOMES, Q. A. F. <sup>1</sup>; MENEZES, C. M. <sup>1</sup>; BARRETO- MEDEIROS, J. M. <sup>1</sup>;  
BORGES, K. M. <sup>1</sup>; DEIRO, T. C. B. D. J. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Nutritional Science, UFBA

<sup>2</sup> Department of Science, FRB

**Keywords:** malnutrition, serotonin, tryptophan

#### Objectives:

Protein malnutrition has general implications on the development of organs and systems. Serotonin (5-HT), synthesized in the raphe nuclei, from the essential amino acid tryptophan (TRIP), also regulates the development of neural and non-neural tissues. As we know, malnutrition either pre- or postnatal increases the brain availability of serotonin in rats chronically malnourished, the objective of this study was to evaluate effects of neonatal treatment with 15 mg TRIP on the appearance of the physical characteristics of the offspring whose mothers were submitted to protein restriction during lactation.

#### Methods and Results:

Methods: Neonatal male Wistar rats were divided according to maternal diet during lactation: standard diet (SD), with 23% protein (n=34) or low protein (HD), with 8% protein (n=23) and subdivided into groups treated and not treated with L-tryptophan 15 mg/kg/day (TRIP) from 7th to 21st postnatal day (PN). Untreated groups were given distilled water (DW). The groups were observed until day 21 of life: opening time of the pinna (APO), auditory meatus opening (AMO), eye opening (EO), eruption of upper (UEI) and lower (LEI) incisors. We used a magnifying glass and cotton swab to help in the observations. Differences between groups were tested with the non-parametric test U- Mann-Whitney, data were presented as median, and maximum and minimum values of the distributions. In all cases,  $P < 0.05$  was considered statistically significant. The number of the ethics committee is 20.10, was 19/11/2010. Results: Compared to untreated SD, the time of LAW had anticipated 19% ( $p < 0.001$ ) compared to untreated HD group. There was no significant difference for the other parameters between the groups. The group treated SD (TRIP) showed 19% acceleration in the appearance of LAW,  $p < 0.001$ , compared to the untreated group SD. For this group there was also no significant difference for the other parameters. Comparing the treated groups (TRIP), TRIP-HD was late 43%, 16% and 7% in the appearance of APO, AMO and EO, respectively,  $p < 0.001$  for all comparisons in relation to the SD-TRIP. There was no difference between groups for LEI and UEI. Among the animals receiving HD, the HD-TRIP group was late 43% and 16% at onset of PDB and AMO, respectively ( $p < 0.001$  for both) compared to HD-DW group, not treated. There was no difference between groups for the parameters LAW, UEI and EO. The SD-TRIP group when compared to HD-DW, showed acceleration in the appearance of 7% EO,  $p < 0.001$ . There was no difference between groups in other parameters. Finally, HD-TRIP The group showed, compared to SD-DW, delay of 43% and 16% in the appearance of APO and AMP, respectively,  $p < 0.001$  for both. There was no difference between groups for LAW, UEI and EO.

#### Conclusions:

Isolated malnutrition and tryptophan administration anticipated the emergence of LEI. Malnutrition associated with TRIP seems to delay APO and AMO. The malnutrition was delaying the appearance of OA. The role of serotonin in modulating of appearance of the physical characteristics needs further study.

Financial Support: CAPES, FAPESB, PIBIC, UFBA



# FeSBE 2011

24 a 27 de agosto de 2011  
Rio de Janeiro - RJ

## CERTIFICADO

Certificamos que o resumo 23.013 – MOTHER MALNUTRITION AND MATERNAL TREATMENT WITH L-TRYPTOPHAN (15 mg): EFFECTS ON THE PHYSICAL OCCURRENCE OF NEWBORN RATS WISTAR., autoria de MEIRA, G. L. S.; RÉGO, L. C.; GOMES, Q. A. F.; MENEZES, C. M.; BARRETO- MEDEIROS, J. M.; BORGES, K. M.; DEIRO, T. C. B. D. J., foi apresentado na XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizado de 24 a 27 de agosto de 2011 no Rio de Janeiro, RJ.



Comissão Organizadora



## ANEXO B- Resumo apresentado em Congresso: FeSBE 2011, Rio de Janeiro.

### MALNUTRITION AND MATERNAL TREATMENT WITH L-TRYPTOPHAN (10 mg): EFFECTS ON MATURATION OF REFLEXES IN RATS WISTAR NEONATES.

DOMINGOS; T.S; MEIRA, G. L. D. S. ; SACRAMENTO, M. M. ; NOBREGA, J. C. ; DIAS, L. L. ; DEIRÓ, T. C. B. D. J.  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, UFBA

**Keywords:** L-TRYPTOPHAN , MALNUTRITION, NEONATES. , REFLEXES IN RATS, MATURATION

#### Objectives:

The serotonin (5-HT), synthesized by the essential amino acid tryptophan, can influence the maturation of reflexes. The aim of this study was to evaluate effects of neonatal treatment with 10 mg TRIP on the maturation of reflexes in the offspring of rats undernourished during lactation.

#### Methods and Results:

Methods: Groups of rats newborns were divided into four groups (n = 10) according to the administration sc of distilled water (AD) or L-tryptophan 10 mg / kg / day (TRIP) of 7 to 21 days post natal (PN) and maternal diet during lactation (standard 23% protein: NUT) or (hipoproteic with 8% protein: DES) and called: NUT AD, AD DES, NUT TRIP, TRIP DES. The groups were observed until Day 21 PN regarding: handgrip (PP); recovery of recumbency (DR), placing the vibrissae (CV), aversion to the cliff (AP) negative geotaxis (NG) response to shock (RS) and acceleration (AC). We used table ramp with an inclination of 45 °, 30 cm ruler attached to the polyester pillow, container, metal stick and stopwatch to assist in the observations. Data were analyzed using Mann-Whitney Rank Sum Test and the number of days of life, are expressed as median (maximum and minimum). Results: Group 4 TRIP NUT PP (3-6) RD 5.5 (2-7), CV 9 (6-12) PA 7 (5-10) GN 12.5 (8-16); RS 12 (11-13) AC 13 (10-15) as compared to group AD des PP 7 (7-12) DR 5.5 (9.3), (CV) 13.5 (8-17) AP 12.5 (11-17) GN 14.5 (13-17) RS 13.5 (12-17), BC 14.5 (13-17), presented early in the disappearance of PP, appearance of HP, AP, NG and RS (p <0.005). There was no difference for AC. RD was not evaluated. The group presented TRIP DES PP 8 (5-12) DR 5 (2-8), CV 12 (10-17), AP 12.5 (10-17) GN 15 (11-17) RS 13.5 (12-17) AC 14 (10-17) and DES when compared with AD showed no difference between groups for PP, RD, GN, RS. There were evaluated: HP, AP and AC. Already the group had TRIP NUT PP 4 (4-6), RD 2 (1-4), CV 13 (10-15), AP 9.5 (6-15) GN 15 (12-16) RS 11, 5 (10-12), AC 12 (8-13) and compared to the TRIP DES, presented early in the onset of RS and AC, p <0.05. There was no difference between groups for VC, AP, PP, RD, GN. Compared to AD NUT: PP 5 (3-8) RD 9 (7-13), CV 11.5 (8-14) PA 11 (6-16) GN 12 (10-13) RS 11 (10-14), AC 13 (11-14) group showed TRIP NUT anticipation in the onset of RD, AP, and delay of CV, p <0.05. There was no difference between groups for GN, RS and PP. While the BC reflex was not evaluated. The TRIP DES group compared to the AD NUT, was late in the disappearance of PP and the appearance of NG and RS, and acceleration in the onset of RD, p <0.05. There was no difference between groups for AC. Reflexes CV and AP were not evaluated. While the AD group when compared with DES NUT AD, was late in the disappearance of PP and the appearance of GN, RS and AC, and acceleration in the onset of RD, p <0.05. There was no difference between groups for CV and AP.

#### Conclusions:

As the tryptophan the precursor of 5-HT, there could have been increased serotonin synthesis, incurring changes in the reflex maturation. Literature data are scarce, and studies are needed to further elucidate the present findings.

Financial Support: CAPES, FAPESB, PIBIC, UFBA





# FeSBE 2011

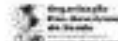
24 a 27 de agosto de 2011  
Rio de Janeiro - RJ

## CERTIFICADO

Certificamos que o resumo 23.275 – MALNUTRITION AND MATERNAL TREATMENT WITH L-TRYPTOPHAN (10 mg): EFFECTS ON MATURATION OF REFLEXES IN RATS WISTAR NEONATES., autoria de DOMINGOS; T.S; MEIRA, G. L. D. S.; SACRAMENTO, M. M. ; NOBREGA, J. C. ; DIAS, L. L. ; DEIRO, T. C. B. D. J., foi apresentado na XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizado de 24 a 27 de agosto de 2011 no Rio de Janeiro, RJ.



Comissão Organizadora



Para verificar a autenticidade deste certificado, acesse [www.fesbe.org.br/certificados](http://www.fesbe.org.br/certificados)

**ANEXO C- Resumo apresentado em Congresso: FeSBE 2011, Rio de Janeiro.****EFFECT OF L-TRYPTOPHAN ON THE IMMUNE RESPONSE OF YOUNG RATS SUBMITTED TO POSTNATAL PROTEIN RESTRICTION**

RIBEIRO, R. S. S. ; SACRAMENTO, M. M. ; MEIRA, G. L. DE S. ; NÓBREGA, J. C. ; QUEIRÓS-SANTOS, A. ; DEIRÓ, T. C. B. J.  
Ciência da Nutrição/ Universidade Federal da Bahia, UFBA

**Keywords:** Immune Response , Leukocytes, Protein restriction , Tryptophan, Wistar's rats

**Objectives:**

The aim of this study was evaluate the effects of L-Tryptophan 15mg (TRYP) administration on the immune response of young rats undergone to the protein restriction during lactation, by counting the total and the differential of leukocytes.

**Methods and Results:**

Male Wistar's rats were divided into two groups (n = 11 each) according to the Distilled Water's Treatments (DW) and Tryptophan 15mg (TRYP = 15mg/kg/day sc) whose mothers were submitted to the protein restriction (8% protein) during the lactation period (1st to 21th postnatal days). After 50 days of life these animals were undergone to blood collection to perform the count. For analysis of WBC was extracted from 0.5 ml blood and deposited in 5 ml tube previously incremented of one drop (20µl) of anticoagulant (EDTA - ethylene diamine tetra-acetic to 3%-acid) and performed total and differential count of leukocytes (neutrophils, monocytes, lymphocytes). It was used Turk's solution, optical microscope with a 40x magnifying glass and a Neubauer chamber, kit Quick Panoptic LB - Laborclin Ltd., optical microscope with 100X objective and immersion manual cell counter DigiTimes's branded with 8 buttons for each type of cell. The total and differential count of leukocytes was not significantly different between the groups.

**Conclusions:**

Preliminary results suggest that administration of tryptophan, in the period of lactation, does not alter the immune response in young animals undergone to protein restriction. More studies are needed to elucidate the presents such findings.

Financial Support: CAPES, FAPESB, CNPQ, PIBIC, UFBA



# FeSBE 2011

24 a 27 de agosto de 2011  
Rio de Janeiro - RJ

## CERTIFICADO

Certificamos que o resumo 23.274 – EFFECT OF L-TRYPTOPHAN ON THE IMMUNE RESPONSE OF YOUNG RATS SUBMITTED TO POSTNATAL PROTEIN RESTRICTION, autoria de RIBEIRO, R. S. S.; SACRAMENTO, M. M. ; MEIRA, G. L. DE S. ; NÓBREGA, J. C. ; QUEIROS-SANTOS, A. ; DEIRO, T. C. B. J., foi apresentado na XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizado de 24 a 27 de agosto de 2011 no Rio de Janeiro, RJ.

Comissão Organizadora



Para verificar a autenticidade deste certificado, acesse [www.fesbe.org.br/certificados](http://www.fesbe.org.br/certificados)

**ANEXO D- Resumo apresentado em Congresso: FeSBE 2011, Rio de Janeiro.****EFFECT OF L-TRYPTOPHAN ON RENAL MORPHOLOGY OF RATS EXPOSED POSTNATAL PROTEIN RESTRICTION.**

RÊGO, L. C. <sup>1,2</sup>; SILVA, B. N. <sup>1</sup>; MEIRA, G. L. D. S. <sup>2</sup>; MEDEIROS, J. M. B. <sup>2</sup>; MANHÃES-DE-CASTRO, R. <sup>3</sup>; DEIRÓ, T. C. B. J. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculdade Ruy Barbosa, FRB

<sup>2</sup> Departamento de Ciências Nutricionais, ENUFBA

<sup>3</sup> UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, UFPE

**Keywords:** kidney, lactation, malnutrition, morphology, Tryptophan

**Objectives:**

Restricting protein in the maternal diet in rats, depending on the period, has been linked to the onset structural changes and diseases in adult life. It has been shown that serotonin can modulate the development of various organs, and nervous system. Thus, the purpose of this study was to investigate the effects of supplementation of L-Tryptophan (TRIP), serotonin precursor, in renal morphology and possible target organs of rats subjected to protein restriction during lactation.

**Methods and Results:**

Wistar male newborns whose mothers were submitted to protein restriction (with 8% protein) were treated with TRIP (15mg/kg/day subcutaneously, n = 6) or placebo (distilled water, n = 8) during lactation. At 180 days of age, animals were sacrificed and the vascular system was perfused with saline and then fixed. The heart, liver, both kidneys, and retroperitoneal fat mass (RFM) were removed and weighed. The right tibia was dissected and its length was obtained to evaluate and standardize their organ masses and adipose tissue in relation to the length of the animal. The heart, liver and both kidneys masses and the RFM were similar in both groups. The organ masses: tibia length (TL) and RFM: TL ratio were also similar. However, we found a significant decrease ( $P < 0.03$ ) by almost 17% in the left kidney mass: tibia length ratio (LKM: TL) in the TRIP group when compared with the control.

**Conclusions:**

Preliminary results suggest that tryptophan supplementation in critical lactation period for kidney development in rats may change renal morphology in animals submitted to protein restriction.

Financial Support: CAPES, FAPESB, PIBIC.



# FeSBE 2011

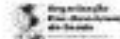
24 a 27 de agosto de 2011  
Rio de Janeiro - RJ

## CERTIFICADO

Certificamos que o resumo 07.027 – EFFECT OF L-TRYPTOPHAN ON RENAL MORPHOLOGY OF RATS EXPOSED POSTNATAL PROTEIN RESTRICTION., autoria de RÉGO, L. C.; SILVA, B. N.; MEIRA, G. L. D. S.; MEDEIROS, J. M. B.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; DEIRÓ, T. C. B. J., foi apresentado na XXVI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizado de 24 a 27 de agosto de 2011 no Rio de Janeiro, RJ.



Comissão Organizadora



Para verificar a autenticidade deste certificado, acesse [www.fesbe.org.br/certificados](http://www.fesbe.org.br/certificados)

## ANEXO E- Resumo apresentado em Congresso: COMAN/ CONAN 2011, Ouro Preto.

### EFEITO DO L-TRIPTOFANO (20 mg) SOBRE MATURAÇÃO DE REFLEXOS E PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DE RATOS NEONATOS.

Cássia Araújo Cerqueira – UFBA, cassiacerqueira90@hotmail.com

Juliana Carvalho da Nóbrega – UFBA, cristal\_luna18@hotmail.com

Liliane Alves Santos – UFBA, anealvess@yahoo.com.br

Louise Leite Dias – UFBA, louise.leite@hotmail.com

Luana Pereira Vilas Bôas – UFBA, luana\_vboas@hotmail.com

Thaís Domingos da Silva – UFBA, domingos.thais@gmail.com

Tereza Cristina Bonfim de Jesus Deiró – UFBA, terezadeiro@yahoo.com.br

**Palavras-chaves:** reflexos, crescimento, neonatos, ratos Wistar, serotonina, triptofano.

#### INTRODUÇÃO

O Triptofano é um aminoácido essencial importante na regulação de mecanismos fisiológicos (LAUDER, 1990). Uma vez absorvido pode ser levado para o sistema nervoso central (SNC), onde será convertido em serotonina (5-HT) (YOKOGOSHI & NOMURA, 1991).

A 5-HT pode promover mudanças no crescimento de tecidos, modular respostas neurocomportamentais, influenciar na sensibilidade à dor, na atividade motora, na termorregulação corporal, no sono e na alimentação (Chopin et al., 1994). Tais mudanças influenciam a estrutura corporal de animais e podem causar alterações na maturação de reflexos o que pode ser um fator indicativo do desenvolvimento do sistema nervoso (SN).

A formação das estruturas do SN ocorre com grande intensidade durante a gestação do rato e período de aleitamento (Noback et al., 1981), sendo assim, a manipulação de fármacos ou variação nutricional durante o período neonatal, pode levar a drásticas mudanças morfológicas e funcionais no crescimento e maturação dos reflexos desses animais.

#### OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar a maturação de reflexos e parâmetros de crescimento em ratos neonatos durante o tratamento com L-triptofano 20mg (TRIP 20).

#### MATERIAIS E MÉTODOS

Grupos de ratos Wistar machos neonatos foram tratados com TRIP 20=20mg/kg/dia s.c, n=20, e água destilada (AD) 1ml/kg/dia s.c, n=20 durante amamentação (1º ao 21º dia pós-natal). A água destilada foi o veículo utilizado para diluir o Triptofano, pois, segundo DEIRÓ (2006) o volume utilizado (1ml/kg/dia) não demonstra diferenças da utilização de salina como meio diluidor (não há mudanças na pele quanto à absorção, formação de bolhas entre outras alterações significativas),

Foram avaliados quanto à maturação dos reflexos: preensão palmar (PP); recuperação do decúbito (RD); colocação pelas vibrissas (CV); aversão ao precipício (AP); geotaxia negativa (GN); resposta ao susto (RS) e aceleração (AC). Utilizou-se: mesa, para RD, CV e AP; rampa com inclinação de 45º para avaliar GN; régua de 30 centímetros acoplada à almofada de poliéster e recipiente para AC; bastão metálico para PP e

cronômetro para auxiliar nas observações. Os dados foram analisados utilizando-se Mann-Whitney Rank Sum Test e os valores, em dias de vida, foram expressos em mediana (máximo e mínimo).

Com relação aos parâmetros de crescimento, foram avaliados: peso corporal (PC), comprimento da cauda (CC), eixo longitudinal (EL), eixos látero-lateral do crânio (ELLC) e eixo ântero-posterior do crânio (EAPC). Utilizou-se paquímetro Starret Caliper (0,01cm de acurácia) e balança semi-analítica digital Marte, modelo AS 2000C, capacidade 2000g (0,01g de acurácia). Os dados foram analisados utilizando-se ANOVA - Two Way Repeated Measures seguido do teste de Holm-Sidak.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparado ao grupo AD: PP 5(3-8); RD 9(7-13); CV 11,5(8-14); AP 11(6-16); GN 12(10-13); RS 11(10-14); AC 13(11-14) o grupo TRIP 20: PP 7(5-9); RD 3(1-6); CV 10(7-14); AP 12(6-16); GN 14(11-16); RS 12(10-13); AC 13(11-14), apresentou atraso no desaparecimento da PP e aparecimento da GN e antecipação da RD. Não houve diferença significativa entre os grupos para CV, AP, RS e AC.

Com relação aos parâmetros de crescimento, o grupo TRIP 20, quando comparado com AD, apresentou redução do PC do 7º ao 21º dia PN,  $F=(1,186)=46,344$ ,  $p<0,001$ ; do ELLC do 4º ao 21º dia PN,  $F=(1,860)=10,77$ ,  $p<0,002$ ; e do EL do 14º ao 20º dia PN  $F=(1,848)=4,528$ ,  $p<0,004$  e houve aumento do EAPC do 2º ao 19º dia PN  $F=(1,881)=62,839$ ,  $p>0,005$ . Já o CC não apresentou diferença significativa.

Segundo MAGALHÃES (2006), em um estudo realizado com ratos neonatos, comparando-se o grupo controle com o grupo que fez uso de inibidores seletivos de recaptura da serotonina (ISRS) houve diferença entre as medidas a partir do 7º dia de vida, perdurando até o 21º dia pós-natal. As medidas da circunferência do crânio (ELLC e EAPC) do grupo ISRS apresentaram redução ( $p<0,05$ ) quando comparadas as do grupo controle. De igual maneira, em DEIRÓ (2008) há uma redução na evolução ponderal (PC) e no crescimento somático e em GALINDO (2006) um retardo no crescimento ósseo e redução no encefalo.

Esses resultados corroboram com o presente estudo no que diz respeito à redução do ELLC no grupo TRIP 20, no entanto, diferem na medida do EAPC. Os ISRS são substâncias que aumentam a disponibilidade de serotonina no sistema nervoso, o que nos permite comparar esse grupo com o TRIP 20 do presente estudo.

## CONCLUSÃO

O estudo realizado demonstra que o tratamento com TRIP 20, durante o período de 21 dias PN, antecipou o aparecimento de RD, atrasou o aparecimento de GN e o desaparecimento de PP. Os demais reflexos não apresentaram diferença entre os grupos. Houve também redução do ELLC, PC e EL e aumento do EAPC, o parâmetro CC não apresentou diferença. Dados da literatura ainda são escassos, sendo assim, estudos com triptofano nessa fase inicial da vida, ainda se fazem necessários para melhor elucidar os presentes achados.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPESB, PIBIC, UFBA

# Certificado



Certificamos que **LUANA PEREIRA VILAS BÓAS** apresentou o trabalho **"EFEITO DO L-TRIPTOFANO (20 MG) SOBRE MATUREZAÇÃO DE REFLEXOS E PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DE RATOS NEONATOS"**, de autoria de **BÓAS, L.P.V.; CERQUEIRA, C.A.; NÓBREGA, J.C.; SANTOS, L.A.; DIAS, L.L.; SILVA, T.D.; DEIRÓ, T.C.B.J.**, na modalidade **PÔSTER** durante o IV Congresso Mineiro de Alimentação e Nutrição e I Congresso Nacional de Alimentos e Nutrição realizado de 31 de maio a 03 de junho de 2011.

Ouro Preto, 03 de junho de 2011

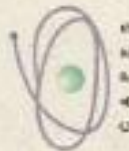
Prof. Dra. Ana Lúcia Rissoni dos Santos Regis  
Coordenadora IV COMAN - I CONAN

Prof. MSc. Auréliano Claret da Cunha  
Coordenador IV COMAN - I CONAN

REALIZAÇÃO:



APOIO:





**ANEXO F - Resumo apresentado em Congresso: FeSBE- Águas de Lindóia. SP, 2012.**

**EFEITOS DO L-TRIPTOFANO SOBRE O CRESCIMENTO SOMÁTICO DE RATOS EXPOSTOS OU NÃO À RESTRIÇÃO PROTÉICA PÓS-NATAL**

Autores <sup>1</sup>SILVA\*, T. D. D. <sup>1</sup>, DIAS\*, L. L. <sup>1</sup>, MEIRA\*\*, G. L. D. S. <sup>1</sup>, COSTA, J. S. <sup>1</sup>, NÓBREGA, J. C. D. <sup>1</sup>, CERQUEIRA, C. A. <sup>1</sup>, DEIRÓ, T. C. B. D. J. <sup>1</sup>, RIBEIRO, R. S. S. <sup>1</sup>, COSTA, F. <sup>1</sup>, SACRAMENTO, M. M. <sup>1</sup>, BOAS, L. P. V. <sup>1</sup> Ciências da Nutrição - ENUFBA

Apoio Financeiro: CAPES, FAPESB, CNPQ, PIBIC, UFBA.

**Objetivos**

O estado nutricional estabelece efeitos importantes na vida, desde o momento de sua concepção até a morte. Desequilíbrios nutricionais, ou manipulações farmacológicas dos sistemas neurotransmissores, sucedem uma série de alterações bioquímicas e orgânicas, que alteram o crescimento e desenvolvimento somático. O triptofano é um aminoácido essencial, precursor da serotonina (5-HT). A 5-HT pode promover alterações no crescimento de tecidos que influenciam a estrutura do corpo dos animais. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da administração de L-Triptofano (TRIP) em ratos submetidos ou não à restrição proteica na lactação sobre parâmetros do crescimento somático.

**Métodos**

Ratos Wistar machos neonatos, foram divididos em grupos de acordo com a dieta materna em: nutrido = N (dieta com 17% de proteína – Norma internacional AIN 93G) ou desnutrido = D – (manipulada com 8% de proteína) e administrado salina (SAL) ou triptofano 15 mg/kg/dia, s.c.(TRIP15), do 7º ao 21º, de acordo com o peso corporal - obtendo-se assim os seguintes grupos: nutrido solução salina (N SAL; n=18), nutrido triptofano (N TRIP15; n=19), desnutrido salina (D SAL; n=23) e desnutrido triptofano (D TRIP15; n=22). Sendo avaliados do 1º ao 21º dia de vida : peso corporal (PC), eixo longitudinal (EL), eixo ântero-posterior do crânio (EAPC) e eixo latero-lateral do crânio (ELLC). Utilizou-se paquímetro Starret Caliper (0,01cm de acurácia) e balança semi-analítica digital Marte, (modelo AS 2000C - capacidade 2000g c/0,01g de acurácia). Os dados foram analisados utilizando-se ANOVA - Two Way Repeated Measures seguido do teste de Bartlett. Comitê de ética: 20.10 da Faculdade de Odontologia da UFBA.

**Resultados**

Ao comparar o grupo N-TRIP15 com o N-SAL, não houve diferença para os demais parâmetros. Comparado ao grupo N-SAL, o grupo D-SAL apresentou diminuição no EL  $F(3,82) = 47,4540$  do 140 ao 210 dia, no EAPC do 170 ao 210  $F(3,82)=27,6565$ ,  $p < 0,05$ . O grupo D-TRIP15 em comparação ao grupo N-SAL apresentou redução no EL do 60 ao 210  $F(3,82)=47,4540$ , e no EAPC do 120 ao 210  $F(3,82)=27,6565$ ,  $p < 0,05$ . D-TRIP15 em comparação com N-TRIP15 teve redução no EL do 60 ao 210  $F(3,82) = 47,4540$ , no EAPC do 170 ao 210  $F(3,82)=27,6565$ ,  $p < 0,05$ . D-TRIP15 comparado com D-SAL apresentou redução no EL,  $F(3,82) = 47,4540$  do 80 ao 210 dia e no EAPC do 120 ao 210  $F(3,82)=27,6565$ ,  $p < 0,05$ . Não houve diferença para os demais parâmetros. Comparando N-TRIP15 e D-SAL o último apresentou diminuição no EL do 120 ao 210  $F(3,82)=47,4540$ , no e EAPC do 150 ao 210  $F(3,82)=27,6565$ ,  $p < 0,05$ . Em todas as comparações entre os grupos, não houve diferença para o ELLC.

**Conclusão**

A administração isolada de TRIP-15 não resultou diferenças significantes em relação aos parâmetros PC e ELLC. Contudo, a restrição proteica interferiu em todos os grupos diminuindo o ganho de peso, e a velocidade de crescimento do corpo, resultando em diferenças significantes entre os mesmos. No entanto, no grupo em que a restrição proteica foi associada ao TRIP esses déficits no crescimento somático apareceram mais precocemente sugerindo o efeito modulador da 5-HT em diferentes condições de nutrição.



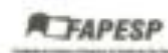
# FeSBE 2012

Certificamos que

o trabalho 20.063 - EFEITOS DO L-TRIPTOFANO SOBRE O CRESCIMENTO SOMÁTICO DE RATOS EXPOSTOS OU NÃO À RESTRIÇÃO PROTÉICA PÓS-NATAL de autoria SILVA, T. D. D., DIAS, L. L., MEIRA, G. L. D. S., COSTA, J. S., NÓBREGA, J. C. D., CERQUEIRA, C. A., DEIRÓ, T. C. B. J., RIBEIRO, R. S. S., COSTA, F., SACRAMENTO, M. M., BOAS, L. P. V. - ESCOLA DE NUTRIÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - ENUFBA foi apresentado sob a forma de painel na

XXVII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental – FeSBE, realizada na cidade de Águas de Lindóia – SP, de 22 a 25 de agosto de 2012.

Comissão Organizadora



## **ANEXO G - Resumo apresentado em Congresso: ENAM- ENACS, Fortaleza, CE, 2012.**

### **EFEITOS DA RESTRIÇÃO PROTÉICA MATERNA E APLICAÇÃO DE TRIPTOFANO DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE O PESO CORPORAL E OS EIXOS CRANIANOS DE RATOS NEONATOS**

Marina de Queiroz Sampaio\*<sup>1</sup> Cássia Araújo Cerqueira<sup>1</sup> Renata Seixas Silva Ribeiro<sup>1</sup> Glécia Leolina de Souza Meira<sup>1</sup> Frederico Costa<sup>2</sup> Tereza Cristina Bonfim de Jesus Deiró<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal da Bahia, Escola de Nutrição, Departamento da Ciência da Nutrição, Laboratório de Nutrição Experimental

<sup>2</sup> Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular

Introdução: As repercussões biológicas e sociais ocasionadas pela restrição energético-proteica nos períodos pré e pós-natal a fazem um dos mais relevantes problemas de saúde pública. Estudos experimentais revelam alterações no peso corporal e no consumo alimentar tanto da mãe quanto dos filhotes em casos de restrição alimentar materna. Além disso, já foram observadas alterações na composição do leite de ratas submetidas à restrição proteica, revelando menor teor de proteínas e calorias. Neste contexto, a serotonina (5-HT), produzida nos núcleos da rafe a partir do aminoácido essencial triptofano, pode contribuir para a redução do consumo alimentar e acentuação da perda ponderal. A manipulação farmacológica no sistema serotoninérgico também produz retardo no crescimento ósseo dos animais em uma fase precoce da vida, além de redução do encéfalo. Diversos estudos avaliam os efeitos da restrição proteica nos períodos de gestação e lactação. No entanto, os estudos acerca dos efeitos da desnutrição na prole somente no período de lactação são escassos. Por conta disso e devido à alta prevalência das alterações metabólicas decorrentes da desnutrição, a

realização de trabalhos desta natureza é de extrema importância. Objetivo: Avaliar os efeitos da restrição proteica materna e aplicação de triptofano durante a lactação sobre o peso corporal e os eixos cranianos de ratos neonatos. Metodologia: Trata-se de um estudo experimental controlado e aleatorizado em que foram utilizados ratos albinos da linhagem Wistar. Ratos Wistar machos neonatos foram distribuídos em 4 grupos de acordo com administração de TRIP 15=15mg/kg/dia s.c. e Água destilada (AD) 1ml/kg/dia s.c. durante amamentação (7º ao 21º dia pós-natal) e dieta materna na lactação (dieta padrão com 23% de proteínas: DP ou dieta hipoproteica com 8% de proteínas: DH): TRIP 15 DP n=19; TRIP 15 DH n=22; AD DP n=18 e AD DH n=23. As aferições foram realizadas do 1º ao 21º dias. Para os eixos cranianos ELLC (Eixo Latero-Lateral do Crânio) e EAPC (Eixo Ântero-Posterior do Crânio), utilizou-se paquímetro Starret Caliper (0,01cm de acurácia) e para Peso Corporal, utilizou-se balança semi-analítica digital Marte, modelo AS 2000C, capacidade 2000g (0,01g de acurácia). Os dados foram analisados utilizando-se ANOVA - Two Way Repeated Measures seguido do Teste Mann-Whitney e os valores, em dias de vida, foram expressos em média. O trabalho foi realizado entre março de 2011 e março de 2012 no Laboratório de Nutrição Experimental da Escola de Nutrição da Universidade Federal da Bahia. Resultados: No parâmetro Peso Corporal, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos AD DP e TRIP 15 DH entre o 9º e o 21º dias (AD DP>TRIP 15 DH); grupos AD DP e AD DH entre o 13º e 21º dias (AD DP > AD DH); grupos TRIP 15 DP e TRIP 15 DH do 9º ao 21º dias (TRIP 15 DP > TRIP 15 DH) e grupos

TRIP 15 DP e AD DH do 13º ao 21º dias (TRIP 15 DP > AD DH) ( $p < 0,05$ ). Comparando-se os grupos AD DP e TRIP 15 DP e os grupos TRIP 15 DH e AD DH não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. Em relação ao EAPC, foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos AD DP e TRIP 15 DH entre o 12º e o 21º dias (AD DP > TRIP 15 DH); grupos AD DP e AD DH entre o 17º e 21º dias (AD DP > AD DH); grupos TRIP 15 DP e TRIP 15 DH do 17º ao 21º dias (TRIP 15 DP > TRIP 15 DH); grupos TRIP 15 DP e AD DH do 15º ao 21º dias (TRIP 15 DP > AD DH); grupos TRIP 15 DH e AD DH do 12º ao 21º dias (AD DH > TRIP 15 DH) ( $p < 0,05$ ). Porém, entre os grupos AD DP e TRIP 15 DP não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados. O parâmetro ELLC apresentou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos AD DP e AD DH (AD DH > AD DP) e TRIP 15 DP e AD DH (AD DH > TRIP 15 DP) no primeiro dia. Entre o 2º e 21º dias nesses grupos e entre os demais, não houve diferenças estatisticamente significantes. Conclusões: O tratamento com triptofano não resultou em diferenças estatisticamente significantes em relação aos parâmetros Peso Corporal e ELLC.

Contudo, a restrição protéica interferiu em todos os grupos, resultando em diferenças estatisticamente significantes entre os mesmos.



## XII ENCONTRO NACIONAL DE ALEITAMENTO MATERNO / ENAM II ENCONTRO NACIONAL DE ALIMENTAÇÃO COMPLEMENTAR SAUDÁVEL / ENACS

### CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho: **EFEITOS DA RESTRIÇÃO PROTÉICA MATERNA E APLICAÇÃO DE TRIPTOFANO DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE O PESO CORPORAL E OS EIXOS CRANIANOS DE RATOS NEONATOS** de autoria de MARINA DE QUEIROZ SAMPAIO; CÁSSIA ARAÚJO CERQUEIRA; RENATA SEIXAS SILVA RIBEIRO; GLÉCIA LEOLINA DE SOUZA MEIRA; FEDERICO COSTA; TEREZA CRISTINA BONFIM DE JESUS DEIRÓ participou da **Sessão de Temas Livres – Pôsteres**, no XII Encontro Nacional de Aleitamento Materno/ ENAM e II Encontro Nacional de Alimentação Complementar Saudável/ ENACS, entre os dias 19 a 23 de Agosto de 2012, em Fortaleza - Ceará.

Divia de Lourdes Azevêdo Fernandes  
Presidente do ENAM 2012

REALIZAÇÃO

Maria Auxiliadora Rozendo da Silva Tavares  
Coordenadora do CNCP

PATROCÍNIO

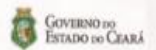
Rosana de Divitiis  
Presidente da IBFAN

APOIO



Ministério da  
Educação

Ministério da  
Saúde



Instituição Promotora: IBFAN/Brasil; CNCP, Ceará/Brasil - 42,5 L-CERPs - IBLCE CERP Approval Number: C1220207 - Data do programa: 19-23 Agosto, 2012