

Estudos morfológico e morfométrico do coração e da artéria aorta em ratos adultos desmamados precocemente**Morphological and morphometric studies of the heart and aorta artery in preciously weed adult rats**

DOI:10.34119/bjhrv3n4-279

Recebimento dos originais: 20/07/2020

Aceitação para publicação: 20/08/2020

José Emerson Xavier

Mestre em Morfotecnologia pela Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, S/N - Tabuleiro do Martins - Maceió - AL - CEP 57072-900

E-mail: joseemersonxavier@gmail.com

Rafael Danyllo da Silva Miguel

Mestre em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento pela Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Alagoas – Campus Arapiraca

Endereço: Av. Manoel Severino Barbosa, S/N – Bom Sucesso - Arapiraca - AL - CEP 57309-005

E-mail: rafael.miguel@arapiraca.ufal.br

Ardilles Juan Carlos Alves dos Santos

Doutor em Biociência Animal pela Universidade Federal Rural de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal do Piauí

Endereço: Rua Cícero Duarte, n. 905 - Junco - Picos - Piauí - PI - CEP 64607-670

E-mail: ardillesjuan@hotmail.com

Mariana Nathália Gomes de Lima

Especialista em Saúde Coletiva pela Secretaria de Saúde de Pernambuco

Endereço: Rua Ester Foigel, 110. Iputinga – Recife – PE – CEP 50721440

E-mail: mariananglima@gmail.com

Ruan Victor Alves da Silva

Acadêmico do curso de Fisioterapia na Faculdade Unirb - Arapiraca

Instituição: Faculdade Unirb - Arapiraca

Endereço: Rodovia AL 220, 3630 - Senador Arnon De Melo - Planalto - Arapiraca - AL. Cep 57315-745

E-mail: ruancatu@gmail.com

Iris Nataniely Cavalcante dos Santos

Acadêmica do curso de Biomedicina na Faculdade Unirb - Arapiraca

Instituição: Faculdade Unirb - Arapiraca

Endereço: Rodovia AL 220, 3630 - Senador Arnon De Melo – Planalto - Arapiraca - AL. Cep 57315-745

E-mail: iris-cavalcante45@hotmail.com

Carina Scanoni Maia

Doutorado em Biociência Animal pela Universidade Federal Rural de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Da Engenharia, S/N - Cidade Universitária, Recife -PE- CEP 50740-600
E-mail: carina.scanoni@gmail.com

Fernanda das Chagas Ângelo Mendes Tenório

Doutorado em Biociência Animal pela Universidade Federal Rural de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Da Engenharia, S/N - Cidade Universitária, Recife -PE- CEP 50740-600
E-mail: fcas14@hotmail.com

Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior

Doutorado em Estomatopatologia pela Universidade Estadual de Campinas
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: R. Alto do Reservatório, S/N - Alto José Leal, Vitória de Santo Antão – PE
E-mail: famanajas@yahoo.com.br

Sandra Lopes de Souza

Doutorado em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Da Engenharia, S/N - Cidade Universitária, Recife -PE- CEP 50740-600
E-mail: sanlopesufpe@gmail.com

Lisiane dos Santos Oliveira

Doutorado em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: R. Alto do Reservatório, S/N - Alto José Leal, Vitória de Santo Antão – PE
E-mail: lisianenutricao@yahoo.com.br

Juliana Pinto de Medeiros

Doutorado em Ciência Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Da Engenharia, S/N - Cidade Universitária, Recife -PE- CEP 50740-600
E-mail: jupinto2@gmail.com

RESUMO

Objetivo: Realizar uma investigação acerca dos efeitos do desmame precoce sobre a morfologia e morfometria do coração e da artéria aorta de ratos adultos submetidos ao desmame precoce no 15º dia de vida pós-natal. **Método:** Foram utilizados 16 ratos machos da linhagem *Wistar*. Os grupos experimentais foram formados pelos grupos DP15 (desmame no 15º dia pós-natal) e C30 (desmame no 30º dia pós-natal), com o 8 ratos cada grupo. Após o desmame, os animais foram separados em gaiolas individuais e no 100º dia de vida pós-natal, foram eutanasiados através da perfusão intracardiaca. O coração e a artéria aorta foram coletados e posteriormente processados para a microscopia de luz. As análises foram realizadas a partir de fotomicrografias e do software ImageJ. Foram avaliados o número de cardiomiócitos, a área nuclear e a espessura da aorta. **Resultado:** Os resultados mostraram que o desmame precoce promoveu alterações significativas nas variáveis analisadas, provocando a redução da área nuclear dos cardiomiócitos (C: $16,77\mu\text{m} \pm 5,95$; DP: $12,48\mu\text{m} \pm 7,03$), hiperplasia do miocárdio (C: $30,42\mu\text{m} \pm 11,38$; DP: $48,87\mu\text{m} \pm 13,62$), diminuição na espessura da artéria aorta (C: $168,56\mu\text{m} \pm 46,61$; DP: $113,81\mu\text{m} \pm 28,01$) (C: $130,69\mu\text{m} \pm 40,75$; DP: $81,62\mu\text{m} \pm 19,89$). Baseado em nossos resultados podemos sugerir que o desmame precoce é uma agressão perinatal capaz de provocar alterações na morfologia e morfometria do coração e da artéria aorta de ratos.

Palavras-chave: Aorta Ascendente, Coraçã, Desmame Precoce, Morfologia

ABSTRACT

Objective: To carry out an investigation on the effects of early weaning on the morphology and morphometry of the heart and aortic artery of adult adults submitted to early weaning on the 15th day postnatal life. **Method:** Sixteen male *Wistar* rats were used. The experimental groups were formed by groups DP15 (weaning on the 15th postnatal day) and C30 (weaning on the 30th postnatal day), with 8 rats each group. After weaning, the animals were separated into individual cages rather than 100 days postnatal life, were euthanized by intracardiac perfusion. The heart and aortic artery were collected and processed for light microscopy. As analyzes were performed from photomicrographs and make the ImageJ software. The number of cardiomyocytes, a nuclear area and aortic thickness were evaluated. **Results:** The results showed that early weaning promoted a significant reduction in the cardiomyocyte nuclear area (C: $16.77 \mu\text{m} \pm 5.95$, SD: $12.48 \mu\text{m} \pm 7.03$), myocardial hyperplasia (C: $30.42 \mu\text{m} \pm 11.38$, SD: $48.87 \mu\text{m} \pm 13.62$), decrease in aortic artery thickness (C: $168.56 \mu\text{m} \pm 46.61$, SD: $113, 81 \mu\text{m} \pm 28.01$) (C: $130.69 \mu\text{m} \pm 40.75$; SD: $81.62 \mu\text{m} \pm 19.89$). Based on our results we can suggest that early weaning is a perinatal aggression capable of causing the morphology and morphometry of the heart and the aorta of rats.

Keywords: Ascending Aorta, Heart, Early Weaning, Morphology.

1 INTRODUÇÃO

O Desmame é um evento natural na vida dos mamíferos. No início do período neonatal o leite materno fornece ao neonato uma solução rica em proteínas, imunoglobulinas e fatores tróficos importantes para o desenvolvimento do corpo e evolui gradativamente para um padrão alimentar adulto¹. Entretanto, quando o desmame ocorre de forma abrupta pode acarretar danos morfológicos, fisiológicos e comportamentais no organismo^{2,3}.

O comportamento alimentar neonatal vem sendo estudados a vários anos e envolve uma série de episódios específicos, que são a procura do mamilo, fixação no mamilo, ingestão do leite e desligamento do mamilo⁴. Segundo a Organização Mundial de Saúde (2002)⁵, para a espécie humana, é recomendado o aleitamento materno exclusivo até o sexto mês após o nascimento e de forma complementar até os dois anos de idade.

Vários modelos animais vêm sendo utilizados a fim de melhor compreender os efeitos do desmame nos organismos adultos. Em ratos, durante as duas primeiras semanas de vida os filhotes dependem única e exclusivamente das mães para suprir suas necessidades vitais básicas, tais como alimentação e regulação da temperatura corporal⁶. A partir da terceira semana de vida o desmame espontâneo começa de forma gradativa, quando inicia o consumo de alimentos sólidos e evolui para o padrão de consumo alimentar adulto até por volta do 30º dia vida quando completa o desmame⁷. Quando o aleitamento materno é interrompido abruptamente antes desse período é considerado desmame precoce.

Estudos demonstraram que o desmame precoce é capaz de promover alterações comportamentais. Esse desmame pode ser realizado pela ausência materna, afastando-se a mãe do filhote, ou através da administração de bromocriptina, um agonista do receptor de dopamina D2 que inibe a liberação de prolactina⁸. Em outros animais, tais como os porcos, não há tanta dependência dos filhotes pela mãe após o período do nascimento. Essa maior independência desses animais de suas mães no período perinatal ocorre devido ao grande período de gestação destes animais e, devido a isso, os porcos podem ser criados com leite artificial e inclusive com dietas sólidas logo após o nascimento^{9,10}.

Agressões no período perinatal, gestação e lactação, são responsáveis por promover diferentes respostas adaptativas que por consequência causam alterações comportamentais, morfológicas e fisiológicas^{11, 12}. Além disso, vários estudos demonstraram que o desmame precoce promove modificações morfofisiológicas e neurocomportamentais na vida adulta^{3,2}. Sabendo disto, este estudo trata-se de uma investigação acerca dos efeitos do desmame precoce sobre a morfologia e morfometria do coração e da artéria aorta de ratos adultos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os procedimentos foram avaliados e aprovados de acordo com a Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pernambuco (Protocolo 17/2017).

2.2 ANIMAIS

Foram utilizadas ratas albinas (200-250g de peso corporal) da linhagem *Wistar* provenientes do Biotério de Criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. As ratas (n=20) foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para um macho. A prenhez foi diagnosticada pela presença de espermatozoide no esfregaço vaginal e confirmada pelo ganho de peso corporal (Damasceno et al.; 2002). A partir do diagnóstico as ratas prenhas foram transferidas para gaiolas individuais, e durante a gestação e lactação receberam água e dietas padrão de biotério (Labina, Presence ®, *ad libitum*). Após o nascimento dos filhotes foi realizada a sexagem para a formação das ninhadas com 8 filhotes por mãe. Durante todo o experimento, os animais foram mantidos em condições padrão de biotério (temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, sob ciclo claro/escuro invertido de 12 horas, luz acesa às 18 horas).

2.3 DESMAME PRECOCE

O dia do nascimento da ninhada foi considerado dia zero. No primeiro dia pós-natal, foi realizada a sexagem dos animais com o objetivo de manter 8 filhotes machos em cada ninhada (as ninhadas que não obtiveram esse número foram complementadas por fêmeas). Os grupos experimentais foram formados de acordo com o período do desmame de cada ninhada (D15 (n=8); C30 (n=8)). As ninhadas pertencentes ao grupo D15 foram desmamadas no 15º dia pós-natal e ao grupo C30 foram desmamadas no 30º dia pós-natal que é considerado período natural de desmame. As nutrizes dos animais D15 foram separadas de seus filhotes que foram submetidas a pequenos *paletes* de dieta padrão de biotério. A partir do 30º dia, todos os grupos foram submetidos a dieta padrão de biotério.

2.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Inicialmente, os animais foram separados de acordo com o dia do desmame:

- Grupo desmamado precocemente (D15), n=8 – animais desmamados no 15º dia pós-natal;
- Grupo desmamado no período natural (C30), n=8 - animais desmamados no 30º dia pós-natal;

Após o desmame precoce, os animais pertencentes a ambos os grupos foram separados em gaiolas individuais até o 100º dia pós-natal.

2.4 EUTANÁSIA

Os animais foram anestesiados profundamente com uma combinação de ketamina (1ml/Kg) e xilazina (0,1ml/kg), seguido da abertura da cavidade torácica para acesso ao ventrículo esquerdo do coração e introdução da cânula para perfusão. Esta cânula ficou acoplada a uma bomba peristáltica em velocidade compatível com a manutenção da integridade dos vasos sanguíneos. Inicialmente foi infundido 150 mL de solução salina (NaCl, 0,9%) a temperatura ambiente para remoção do sangue dos vasos. Este procedimento previne a formação de coágulos e propicia a correta penetração do fixador nos tecidos. Esta foi seguida de infusão de 400 mL solução fixadora (4% de paraformaldeído, pH 7,4, em 4º C). Ao final da passagem do fixador, o coração e a porção ascendente da artéria aorta foram cuidadosamente dissecados e retirados da cavidade torácica e foram fixados, durante 24 horas, em formalina a 10% neutra tamponada (NBF)¹³.

2.5 MICROSCOPIA DE LUZ

Foi realizada a clivagem dos órgãos, onde, no coração foi realizado um corte frontal na região média e na artéria aorta um corte transverso na porção ascendente. Em seguida, os fragmentos foram desidratados em soluções de álcool etílico com concentrações crescentes, diafanizados pelo xilol, impregnados pela parafina líquida em estufa regulada à temperatura de 59°C e incluídos em parafina. Os blocos foram cortados no micrótomo em cortes seriados com espessura de 4µm. Os cortes obtidos foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de MAYER, e mantidos em estufa regulada à temperatura de 37°C durante 24 horas. As lâminas histológicas produzidas foram coradas por Hematoxilina – Eosina e analisadas em microscópio óptico¹³.

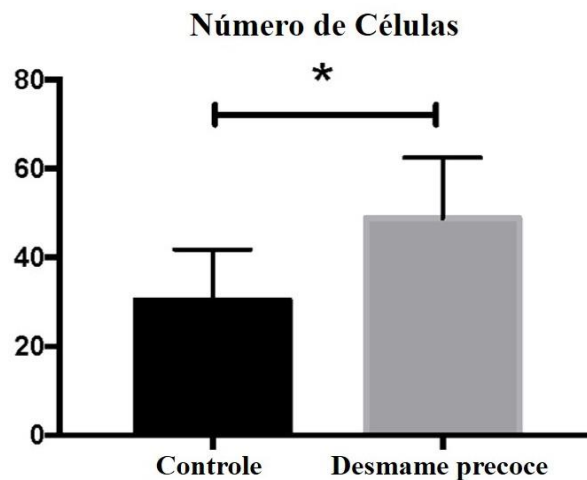
2.6 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

A análises das variáveis deste estudo foram realizadas a partir de fotomicrografias adquiridas por meio de uma câmera de captura digital (Moticam 2300) de 3,0 megapixels, acoplada a um microscópio óptico (Nikon E-200), e um computador. A aquisição das imagens foi realizada utilizando a objetiva 10X para artéria aorta e a objetiva de 40X para coração, com o auxílio do software Motic Images Plus Versão 2.0. Após a captura das imagens, as mesmas foram salvas no formato JPEG. Para analisar as fotomicrografias foi utilizado o software ImageJ Versão 1.43.

2.7 ANÁLISE DO CORAÇÃO

Para a avaliação do número de núcleos por fotomicrografia, foram retiradas aleatoriamente 10 fotomicrografias de cada lâmina da parede lateral do ventrículo esquerdo num aumento de 40X. Em seguida, foram mensuradas as áreas de 80 núcleos celulares dos cardiomiócitos por animal (Figura 1). Os Dados obtidos foram inseridos num planilha do Excel 2013.

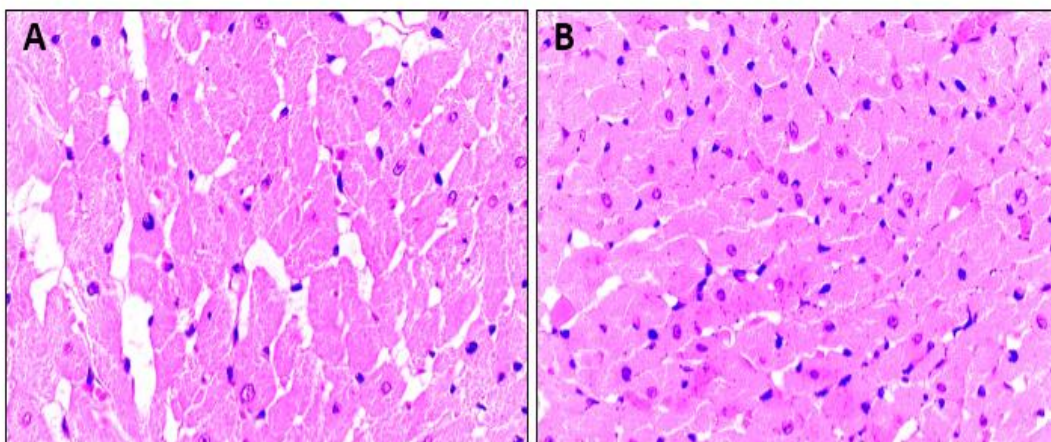
FIGURA 1 – Efeitos do desmame precoce sobre a quantidade de núcleos por fotomicrografia do coração de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$.



2.8 ANÁLISE DA ARTÉRIA AORTA

Para a avaliação da espessura total e da túnica média foram retiradas 10 fotomicrografias de cada lâmina da porção ascendente da artéria aorta num aumento de 10X e foi mensurada a espessura de 10 regiões escolhidas aleatoriamente por corte (Figura 2).

FIGURA 2 – Fotomicrografias do coração de ratos. Em “A” animais controle e “B” animais submetidos ao desmame precoce, com 100 dias de vida pós-natal. Observar a quantidade de núcleos em ambos os grupos. H.E. Aumento 400x.



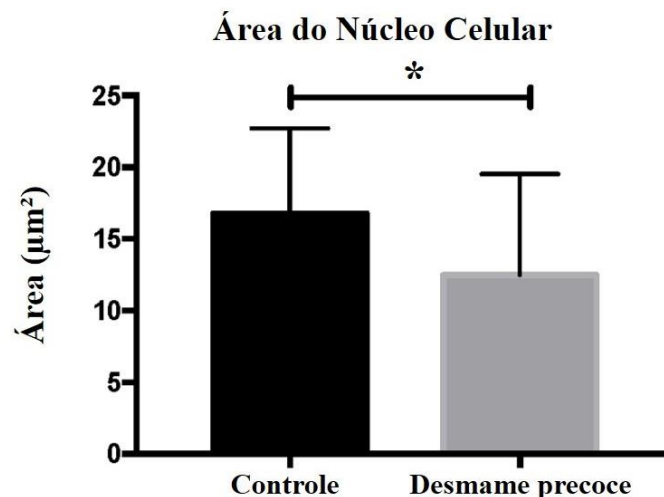
2.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados, inicialmente, foram submetidos ao teste de normalidade e em seguida aos testes ANOVA e U de Mann-Whitney. Os dados foram tabulados e processados pelo programa estatístico SPSS (Statistical Package for Social Science, 2001), adotando-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS

A análise dos núcleos dos cardiomiócitos revelou que o desmame precoce promoveu a redução da área nuclear dos animais quando comparado com animais controle (C: $16,77\mu\text{m} \pm 5,95$; DP: $12,48\mu\text{m} \pm 7,03$, $p \leq 0,05$) (Figura 3).

FIGURA 3 – Efeitos do desmame precoce sobre a área nuclear dos cardiomiócitos de ratos aos 100 dias de vida pós-natal. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$.



Em relação a quantidade de núcleos observados em cada fotomicrografia, verificou-se que o desmame precoce promoveu hiperplasia dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo ($p \leq 0,05$) dos animais (DP: $48,87\mu\text{m} \pm 13,62$) quando comparado com animais controle (C: $30,42\mu\text{m} \pm 11,38$) (Figura 2 e 3).

Quanto a análise da espessura total da artéria aorta, pode-se observar que o desmame precoce promoveu uma diminuição significativa na espessura da parede do vaso (C: $168,56\mu\text{m} \pm 46,61$; DP: $113,81\mu\text{m} \pm 28,01$, $p \leq 0,05$) (Figura 4 e 5), fato que se repetiu na análise da espessura da túnica média, onde também houve uma diminuição significativa na espessura da camada muscular (C: $130,69\mu\text{m} \pm 40,75$; DP: $81,62\mu\text{m} \pm 19,89$, $p \leq 0,05$) (Figura 6).

FIGURA 4 – Efeitos do desmame precoce sobre a espessura total da artéria aorta de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $p \leq 0,05$.

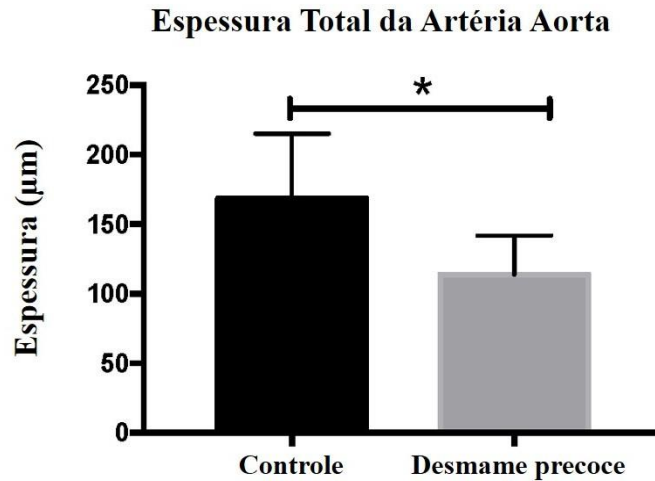


FIGURA 5 – Fotomicrografias da artéria aorta (porção ascendente) de ratos. Em “A” animais controle e “B” animais submetidos ao desmame precoce, com 100 dias de vida pós-natal. Observar a espessura da artéria em ambos os grupos. H.E. Aumento 100x.

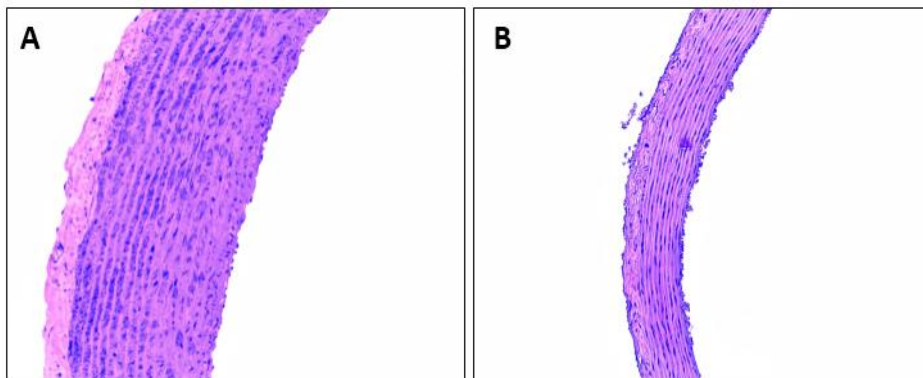
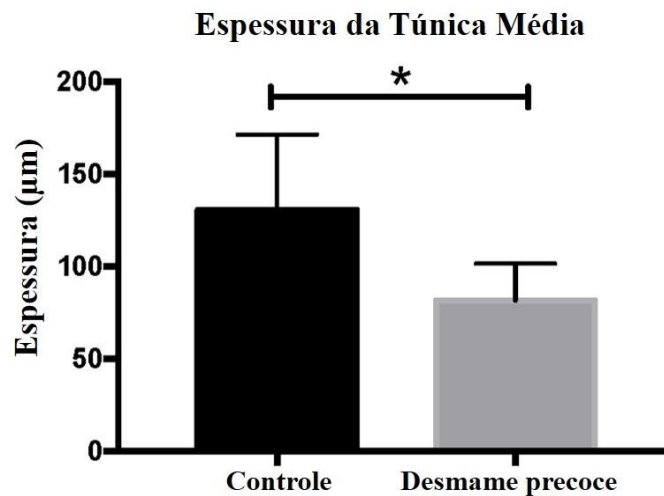


FIGURA 6 – Efeitos do desmame precoce sobre a túnica média da artéria aorta de ratos aos 100 dias. Mann-Whitney. * $\leq 0,05$.



4 DISCUSSÃO

Diversos estudos vêm sendo realizados na última década identificando as alterações promovidas pelo desmame precoce na vida adulta. O desmame precoce está associado com distúrbios nutricionais, tais como a obesidade infantil¹⁴, aumento nos níveis de triglicerídeos circulantes, hipotireoidismo, hiperleptinemia e resistência central a leptina e insulina^{15, 16,17, 18,19}. Em termos gerais, esses sintomas sugerem que animais desmamados precocemente apresentam alterações fisiológicas que os enquadram na síndrome metabólica. De fato, o aleitamento materno durante o período adequado, está associado com o menor risco de obesidade, uma vez que o leite materno causa hipoinsulinemia, o que diminui o armazenamento de gordura e evita a adipogênese precoce excessiva²⁰. Entretanto, embora estes estudos tenham verificado as alterações fisiológicas globais promovidas pelo desmame precoce, não está claro ainda quais são as consequências do desmame precoce sobre o sistema cardiovascular.

O desmame precoce é uma agressão perinatal que prejudica o aporte de nutrientes do lactente, forçando-o a modificar seu padrão alimentar de forma abrupta³. O período perinatal apresenta grande importância no desenvolvimento neurocomportamental e metabólico do animal^{21, 22}. Durante este período, diversos mecanismos celulares e moleculares ainda estão em curso. Devido a isso, as agressões durante a lactação podem provocar danos permanentes^{23, 24, 25}. Um dos sistemas que ainda está concluindo seu desenvolvimento durante a lactação é o sistema cardiovascular.

Embora o sistema cardiovascular inicie seu desenvolvimento durante o período fetal, ele continua a se modificar após o nascimento. Os cardiomiócitos fetais, diferentemente dos cardiomiócitos dos mamíferos adultos, apresentam alto potencial de proliferação, que vai se atenuando após o nascimento por inibidores do ciclo celular^{26, 27}. A proliferação celular e a hipertrofia dos cardiomiócitos são as responsáveis pelo aumento do tamanho do coração, tanto no período da gestação como nos primeiros dias após o nascimento²⁶. Durante a primeira e segunda semana de vida pós-natal, os cardiomiócitos podem sofrer mitose sem realizar a citocinese, formando desta forma células binucleadas²⁸. Os resultados dessa pesquisa sugerem que o desmame precoce foi capaz de promover a hiperplasia dos cardiomiócitos na parede ventricular nos ratos com 100 dias de vida. Uma vez que, o desmame precoce realizado em nosso estudo foi imposto no décimo quinto de vida, é provável que a mudança abrupta no padrão alimentar do lactente tenha agido como um estímulo agressor para o coração ainda em desenvolvimento.

Em termos gerais, há um consenso na literatura afirmando que as células musculares cardíacas em indivíduos adultos estacionam em G₀, não entrando em mitose. Entretanto, estudos apontam que os cardiomiócitos podem retornar a divisão celular caso o coração seja acometido por algum tipo de

insulto^{29, 30, 31}. Em humanos, a insuficiência cardíaca congestiva é uma agressão capaz de fazer com que os cardiomiócitos retomem o processo de divisão celular³². Essa constatação também pôde ser verificada em ratos, comprovando que agressões cardíacas podem fazer os cardiomiócitos entrem novamente em mitose²⁹. Dessa forma, é provável que o aumento no número de cardiomiócitos verificados em nosso estudo, pode ser a consequência do aumento no número de mitoses sofrida pelas células musculares cardíacas, considerando dessa forma, o desmame precoce como um insulto ao coração.

Ainda correlacionado nossos achados com outros tipos de agressões perinatal, é possível verificar que o ratos desnutridos durante o período perinatal apresentam o tamanho do coração reduzido, em relação a animais controle, no vigésimo primeiro dia de vida³³. Entretanto após a quarta semana de vida, pode-se notar o aumento da espessura do ventrículo esquerdo³⁴. O aumento da espessura ventricular esquerda, foi associado com o aumento da expressão de genes que codificam proteínas relacionadas com o metabolismo da glicose, sugerindo que o aumento ventricular é decorrente do maior uso da glicose pelas células cardíacas³⁴. Desta forma, é possível que o maior uso da glicose pelos cardiomiócitos observado em animais submetidos a desnutrição perinatal possa ser encontrado também nos animais desmamados precocemente, justificando o efeito hiperplásico obtido. Por outro lado, não foram encontrados na literatura estudos que correlacionassem a redução do volume nuclear com o aumento da pré-disposição de doenças cardiovasculares.

Já em relação a artéria aorta, levantou-se a hipótese de que o desmame precoce promoveria o aumento da espessura da parede arterial. Esta hipótese foi levantada baseada nos achados da literatura que utilizaram outros tipos de manipulações perinatal. Animais desmamados precocemente, por apresentarem alterações condizentes com a síndrome metabólica^{17,19}, são mais susceptíveis a desenvolver hipertensão arterial. A hipertensão arterial está diretamente associada com o aumento da espessura da parede arterial que, por sua vez, está diretamente relacionada com o envelhecimento^{35, 36, 37}. Aumento da espessura da parede da artéria aorta foi verificado em ratos submetidos a restrição de crescimento intrauterino^{37, 38}.

A restrição de crescimento intrauterino é caracterizada pela dificuldade fetal em alcançar seu tamanho normal, seja por fatores genéticos, seja por alterações no ambiente intrauterino³⁹. A principal causa da restrição de crescimento intrauterino é vascularização insuficiente da placenta, que acomete 75% dos casos^{40, 41}. Ratos submetidos a este tipo de insulto apresentam maior espessamento da parede arterial ao nascer³⁷, além de desenvolvem rigidez da aorta por redução da quantidade de fibras elásticas e aumento da deposição de fibras colágenas³⁸. O aumento da rigidez arterial está diretamente associado com a maior propensão ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares^{42, 43, 44}. Por tanto,

o aumento da espessura da artéria aorta pode estar relacionado com o aumento da rigidez vascular. Entretanto, nossos dados apontam para uma situação oposta: a redução da espessura arterial nos animais desmamados precocemente.

Em ratos submetidos a desnutrição proteica perinatal, também foi possível verificar a redução da espessura da artéria aorta⁴⁵. Essa redução na espessura vascular ocorreu concomitantemente com a redução na deposição de fibras elásticas neste vaso. Essas alterações sugerem que uma parede arterial menos espessa possa pré-dispor a hipertensão arterial e doenças cardiovasculares futuras através de alteração na complacência vascular e das propriedades elásticas. Com isso, acredita-se que as alterações observadas nesse estudo promoveram modificações semelhantes a estas verificadas através da desnutrição perinatal⁴⁵.

Desta forma, pôde-se constatar que o desmame precoce realizado no décimo quinto dia de vida promoveu alterações morfológicas e morfométricas em órgãos importantes do sistema cardiovascular, tanto aumentando o número de cardiomiócitos como reduzindo a espessura vascular da artéria aorta.

REFERÊNCIAS

- Weaver LT. Milk and the neonatal gut: comparative lessons to be learnt. *Equine veterinary journal*. 1986; 18 (6): 427-429. doi: 10.1111/j.2042-3306.1986.tb03677.x
- Kikusui T, Kiyokawa Y, Mori Y. Deprivation of mother–pup interaction by early weaning alters myelin formation in male, but not female, ICR mice. *Brain research*. 2007;1133, 115-122. doi: 10.1016/j.brainres.2006.11.031
- Oliveira LS, Silva LP, Silva AI, Magalhães CP, Souza SL, Castro RM . Effects of early weaning on the circadian rhythm and behavioral satiety sequence in rats. *Behavioural processes*. 2011; 86 (1): 119-124. doi: 10.1016/j.beproc.2010.10.001
- Souza SLD, Castro RMD, Nogueira MI. Comportamento alimentar neonatal. *Rev bras saúde matern infant*. 2003; 3 (3): 241-246. doi: 10.1590/S1519-38292003000300002
- Organização Mundial da Saúde (OMS). Administração da OMS. Disponível em: . Acesso em: 17. Jan.2014.
- Plaut SM, Davis JM. Effects of mother-litter separation on survival, growth, and brain amino acid levels. *Physiol Behav*. 1972; 8 (1): 43–51. doi: 10.1016/0031-9384(72)90128-X
- Cramer CP, Thiels E, Alberts JR. Weaning in rats: I. Maternal behavior. *Dev Psychobiol*. 1990; 23 (6): 479–493. doi: 10.1002/dev.420230604
- Younes-Rapozo V, Moura EG, Manhaes AC, Peixoto-Silva N, Oliveira E, Lisboa PC. Early weaning by maternal prolactin inhibition leads to higher neuropeptide Y and astrogliosis in the hypothalamus of the adult rat offspring. *British Journal of Nutrition*.2015; 113 (3): 536-545. doi: 10.1017/S0007114514003882
- Weaver LT, Laker MF, Nelson R, Lucas A. Milk feeding and changes in intestinal permeability and morphology in the newborn. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1987; 6 (3): 351-358. PMID: 3123630
- Weaver LT, Landymore-Lim L, Hudson GJ. The guinea pig as a model for the study of the effects of milk on growth and development. *Growth Dev Aging*. 1988; 52 (2): 91-96. PMID: 3203981
- Bivolarski BL, Vachkova EG. Morphological and functional events associated to weaning in rabbits. *Journal of animal physiology and animal nutrition*. 2014; 98 (1): 9-18. doi: 10.1111/jpn.12058
- Oliveira LDS, Souza SLD, Castro RM. Behavioral satiety sequence: an experimental model for studying feeding behavior. *Revista de Nutrição*. 2011; 24 (4): 619-628. doi: 10.1590/S1415-52732011000400010
- Silva MC, Arandas MJ, Lima-Junior NB, Aguiar-Júnior FC, Santos KR. Análise histomorfométrica dos cardiomiócitos e deposição de colágeno no músculo cardíaco de ratas ooforectomizadas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2016; 36 (3): 216-220. doi: 10.1590/S0100-736X2016000300011

Sloan S, Gildea A, Stewart M, Sneddon H, Iwaniec D. Early weaning is related to weight and rate of weight gain in infancy. *Child Care Health*. 2008; 34 (1): 59–64. doi: 10.1111/j.1365-2214.2007.00771.x

Bonomo IT, Lisboa PC, Passos MC, Alves SB, Reis AM, De Moura EG. Prolactin inhibition at the end of lactation programs for a central hypothyroidism in adult rat. *J Endocrinol*. 2008; 198 (2): 331-337. doi: 10.1677/JOE-07-0505

Bonomo IT, Lisboa PC, Pereira AR, Passos MC, De Moura EG. Prolactin inhibition in dams during lactation programs for overweight and leptin resistance in adult offspring. *J Endocrinol*. 2007; 192 (2): 339–344. doi: 10.1677/joe.1.06952

De Moura EG, Bonomo IT, Neto JFN, De Oliveira E, Trevenzoli IH, Reis AM, Passos AM, Lisboa PC. Maternal prolactin inhibition during lactation programs for metabolic syndrome in adult progeny. *J Physiol*. 2009; 587(20): 4919–4929. doi: 10.1113/jphysiol.2009.176289

Lima NDAS, Demoura EG, Passos MC, Neto FJN, Reis AM, De Oliveira E, Lisboa PC. Early weaning causes undernutrition for a short period and programmes some metabolic syndrome components and leptin resistance in adult rat offspring. *Br J Nutr*. 2011; 105 (9): 1405–1413. doi: 10.1017/S0007114510005064

Lima NS, De Moura EG, Franco JG, Pinheiro CR, Pazos-Moura CC, Cabanelas A, Carlos AS, Saba CCN, De Oliveira E, Lisboa PC. Developmental plasticity of endocrine disorders in obesity model primed by early weaning in dams. *Horm Metab Res*. 2013; 45 (1): 22-30. doi: 10.1055/s-0032-1323703

Oddy WH. Infant feeding and obesity risk in the child. *Breastfeed Rev*. 2012; 20 (2): 7–12. PMID: 22946146

Barker, DJ. The developmental origins of adult disease. *Eur J Epidemiol*. 2003; 18 (8): 733–736. doi: 10.1080/07315724.2004.10719428

Simmons RA. Developmental origins of adult disease. *Pediatr Clin North Am*. 2009; 56 (3): 449-466. doi: 10.1159/000273066

Kikusui T, Mori Y. Behavioural and neurochemical consequences of early weaning in rodents. *Journal of neuroendocrinology*. 2009; 21 (4): 427-431. doi: 10.1111/j.1365-2826.2009.01837.x

Younes-Rapozo V, De Moura EG, Lima NS, Barradas PC, Manhães AC, Oliveira E, Lisboa PC. Early weaning is associated with higher neuropeptide Y (NPY) and lower cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) expressions in the paraventricular nucleus (PVN) in adulthood. *British Journal of Nutrition*. 2012; 108 (12): 2286–229. doi: 10.1017/S0007114512000487

Pessanha CR, Boueri BFC, Costa LR, Ferreira MR, Melo HS, Abreu MDC, Pessoa LR, Da Silva PC, Pereira AD, Ribeiro DC, De Meneses JA, Da Costa CA, Boaventura GT. Brain development in male rats subjected to early weaning and treated with diet containing flour or flaxseed oil after 21 days until 60 days. *Journal of developmental origins of health and disease*. 2015; 6 (4): 268-271. doi: 10.1017/S2040174415001087

Ahuja P, Sdek P, Maclellan, WR. Cardiac myocyte cell cycle control in development, disease, and regeneration. *Physiol Rev.* 2007; 87 (2): 521–544.

Ikenishi A, Iwamoto OH, Yoshitome N, Tane S, Nakamura S, Obayashi K, Hayashi T, Takeuchi T. Cell cycle regulation in mouse heart during embryonic and postnatal stages. *Dev Growth Differ.* 2012; 54 (8): 731–738. doi: 10.1111/j.1440-169X.2012.01373.x

Soonpaa MH, Kim KK, Pajak L, Franklin M, Field LJ. Cardiomyocyte DNA synthesis and binucleation during murine development. *J Physiol.* 1996; 271 (5): 2183–2189. PMID: 8945939

Reiss K, Kajstura J, Zhang X, Li P, Szoke E, Olivetti G, Anversa P. Acute myocardial infarction leads to upregulation of the IGF-1 autocrine system, DNA replication, and nuclear mitotic division in the remaining viable cardiac myocytes. *Exp Cell Res.* 1994; 213 (2): 463-472. doi: 10.1006/excr.1994.1224

Beltrami CA, Di Loreto C, Finato N, Rocco M, Artico D, Cigola E, Gambert SR, Olivetti G, Kajstura J, Anversa P. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), DNA synthesis and mitosis in myocytes following cardiac transplantation in man. *J Mol Cell Cardiol.* 1997; 29 (2): 789-802. doi: 10.1006/jmcc.1997.0514

Liu Y, Cigola E, Cheng W, Kajstura J, Olivetti G, Hintze TH, Anversa P. Myocyte nuclear mitotic division and programmed myocyte cell death characterize the cardiac myopathy induced by rapid ventricular pacing in dogs. *Lab Invest.* 1995; 73 (6): 771-787. PMID: 8558838

Quaini F, Cigola E, Lagrasta C, Saccani G, Quaini E, Rossi C, Olivetti G, Anversa P. End-stage cardiac failure in humans is coupled with the induction of proliferating cell nuclear antigen and nuclear mitotic division in ventricular myocytes. *Circ Res.* 1994; 75 (6): 1050-1063. doi: 10.1161/01.RES.75.6.1050

Gama EF, Liberti EA, De-Souza RR. Effects of pre- and postnatal protein deprivation on atrial natriuretic peptide- (ANP-) granules of the right auricular cardiocytes. An ultrastructural morphometric study. *Eur J Nutr.* 2007; 46 (5): 245–250. doi: 10.1007/s00394-007-0652-0

Tappia PS, Guzman C, Dunn L, Aroutiounova N. Adverse cardiac remodeling due to maternal low protein diet is associated with alterations in expression of genes regulating glucose metabolism. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2013; 23 (2): 130-135. doi: 10.1016/j.numecd.2011.03.010

Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease. *Circulation.* 2003; 107 (1): 139–146. doi: 10.1161/01.CIR.0000048894.99865.02

Lakatta EG. The reality of aging viewed from the arterial wall. *Artery Res.* 2013; 7 (2): 73–80. doi: 10.1016/j.artres.2013.01.003

Skilton MR, Evans N, Griffiths KA, Harmer JA, Celermajer DS. Aortic wall thickness in newborns with intrauterine growth restriction. *Lancet.* 2005; 365 (9469): 1484–1486. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66419-7

Dodson RB, Miller TA, Powers K, Yang Y, Yu B, Albertine KH, Zinkhan EK. Intrauterine growth restriction influences vascular remodeling and stiffening in the weanling rat more than sex or diet. *J Physiol Heart Circ Physiol*. 2017; 312 (2): 250–264. doi: 10.1152/ajpheart.00610.2016

Battaglia FC, Lubchenco LO . A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr*. 1967; 71 (2): 159–163. doi: 10.1016/S0022-3476(67)80066-0

Creasy RK, Resnik R. Intrauterine growth restriction. In: *Maternal-Fetal Medicine: Principles and Practice*. Philadelphia: Saunders.2008: p. 635–650.

Neerhof MG. Causes of intrauterine growth restriction. *Clin Perinatol*. 1995; 22 (2): 375–385. PMID: 7671543

Kobs RW, Chesler NC. The mechanobiology of pulmonary vascular remodeling in the congenital absence of eNOS. *Biomech Model Mechanobiol*. 2006; 5 (4): 217–225. doi: 10.1007/s10237-006-0018-1

Safar ME, Levy BI, Struijker-Boudier H. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. *Circulation*. 2003; 107 (22): 2864–2869. doi: 10.1161/01.CIR.0000069826.36125.B4

Shadwick RE. Mechanical design in arteries. *J Exp Biol*. 1999; 202 (23): 3305–3313. PMID: 10562513

Skilton MR, Gosby AK, Wu BJ, Ho LM, Stocker R, Caterson ID, Celermajer DS. Maternal undernutrition reduces aortic wall thickness and elastin content in offspring rats without altering endothelial function. *Clinical Science*. 2006; 111 (4): 281-287. doi: 10.1042/CS20060036