

MARCLÊNIA EDUARDO RAMOS

**EFEITO PROTETOR DO CAFÉ SOBRE A
PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA
EM RATOS DESNUTRIDOS**

**Faculdade de Farmácia da UFMG
Belo Horizonte, MG
2007**

MARCLÊNIA EDUARDO RAMOS

**EFEITO PROTETOR DO CAFÉ SOBRE A
PRESSÃO ARTERIAL E FREQUÊNCIA CARDÍACA
EM RATOS DESNUTRIDOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Tasso Moraes e Santos

Co-orientador: Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior

**Faculdade de Farmácia da UFMG
Belo Horizonte, MG
2006**

ORIENTADA:

Marclênia Eduardo Ramos

ORIENTADOR:

Tasso Moraes e Santos, PhD

CO-ORIENTADOR:

Deoclécio Alves Chianca Júnior, PhD

LINHA DE PESQUISA:

Nutrição, Alimentação e Saúde.

ÁREA DE CONHECIMENTO

2.10.07.004-4 – Toxicologia

4.03.05.00-7 – Bromatologia

5.07.01.01-0 – Valor nutritivo de alimentos

4.05.00.00-4 – Nutrição

4.05.01.00-0 – Bioquímica da Nutrição

4.05.04.00-0 – Desnutrição e desenvolvimento fisiológico

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES:

Faculdade de Farmácia da UFMG

Instituto de Ciências Exatas e Biológicas – UFOP

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES.

Dedico este trabalho à minha família, meus amigos e aos meus professores da graduação que sempre me apoiaram e incentivaram.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter estado comigo nos momentos mais difíceis da minha vida, por ter me guiado até aqui, por estar sempre presente, por ter suprido todas as minhas necessidades, por habitar meu coração e estar sempre próximo quando menciono seu nome, por me deixar descansar em seus braços, por nos oferecer um coração cheio de amor, graças, misericórdia e perdão, por construir esperanças quando elas se desfazem, por ter entregado seu filho para morrer na cruz por todos nós e ainda por ser o guia do meu futuro. DEUS, MUITO OBRIGADA!

Aos meus avós, pais, irmãos, tios (as) e primos (as) pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Tasso Moraes e Santos, pelo exemplo de ser humano e filosofia de vida, pelos princípios e exemplo de pesquisador, pelos ensinamentos, orientação e acima de tudo pelo apoio e amizade. A esposa do meu orientador, Maria, pelo carinho.

Ao Prof. Dr. Márcio Flávio Dutra Moraes, exemplo de pesquisador, pelos ensinamentos e incentivo durante todo trabalho. Gratidão eterna!

Ao co-orientador Prof. Dr. Deoclécio Alves Chianca Júnior, pela ajuda, colaboração durante o trabalho realizado e pelos ensinamentos valiosos.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição Experimental, Renata Viana Abreu, Maria das Graças Torquato, Nívea Maria Pacheco, Vinícius Paganini, Wagner Miranda, Eliane Silva, Gustavo Rezende, Silmara Araújo, Renata Lacerda, Ricardo Dornas e Antônio Massensini pela colaboração durante a realização deste trabalho e convívio sempre agradável.

Aos amigos do NNC – Núcleo de Neurociências, (Vinícius Rosa Cota, Patrícia Maia e José Eustáquio), pela amizade, disposição, colaboração e pelos ensinamentos que foram essenciais.

Ao Zezé (José Roberto Silva) do Laboratório de Hipertensão por ter me ensinado os primeiros passos para se fazer uma cirurgia de canulação em ratos.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, pelo conhecimento transmitido.

Aos professores da graduação, em especial à Maria José Morato, Jomar Becker dos Passos, Eduardo Machado, Maria de Fátima, Ana Flávia Xavier, Rute Welasquez e Yane Mizubuti pelo incentivo na pesquisa científica e por acreditarem que eu seria capaz de chegar aqui.

Às secretárias Úrsula Regiane Martins e Marilene Beatriz de Souza por estarem sempre disponíveis.

À Maria Beatriz Abreu Glória, pelo exemplo de mulher e de coordenação que foi realizada no Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

À veterinária Maria Adelaide Fernandes responsável pelo biotério da Faculdade de Farmácia e ao José Batista Viturino, funcionário do biotério, pela disponibilidade, alegria transmitida e auxílio na manutenção dos animais utilizados.

Aos meus amigos (as) por terem me ensinado a valorizar as amizades, em especial a Vanessa Oliveira, Daniella Perdigão, Flávia Almeida, Daniella Fernanda, Michelle Bueno, Ana Cristina Meyer, Mônica Silva e Priscilla Hollerbach.

A Dona Eunice Botelho, Gil Neves e Rosânia Maria por sempre acreditarem na minha capacidade e pelo incentivo.

Aos órgãos institucionais financiadores: FAPEMIG, CAPES, CNPq e PRPQ-UFMG.

Aos animais utilizados em prol do desenvolvimento da ciência.

A todos que, de diferentes maneiras, acreditaram, incentivaram e auxiliaram na realização deste trabalho.

Quando um sonho se desfaz, DEUS reconstrói... Quando as forças acabam, DEUS renova.... Quando você diz: Não vou conseguir... DEUS diz: Não temas Eu estou contigo!

Novo testamento Salmos e Provérbios

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 Efeitos da desnutrição no metabolismo.....	18
2.2 Desnutrição, sistema cardiovascular e pressão arterial.....	19
2.3 Mecanismos de controle de pressão arterial e frequência cardíaca.....	22
2.4 Estimativa da variabilidade da pressão arterial e frequência cardíaca.....	24
2.5 Café e seus constituintes.....	26
2.6 Cafeína.....	28
2.7 Alimentos funcionais.....	29
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 Modelo Experimental.....	31
3.2 Caracterização do café.....	33
3.3 Confecção e implantação das cânulas arteriais.....	33
3.4 Registro da pressão arterial e aquisição de dados.....	34
3.5 Análise dos parâmetros bioquímicos.....	35
3.6 Avaliação do consumo de ração e peso corporal.....	35
3.7 Análise estatística.....	36
4 RESULTADOS	37
4.1 Consumo diário de ração e efeito da restrição de alimentos sobre a massa corporal.....	37
4.2 Efeito da restrição de alimentos sobre os parâmetros bioquímicos.....	39
4.3 Estimativa da variabilidade da pressão arterial e níveis basais.....	40
4.4 Estimativa da variabilidade da frequência cardíaca e níveis basais.....	44
4.5 Razão entre as bandas de baixa frequência e alta frequência da análise espectral.....	47
5 DISCUSSÃO.....	49
6 CONCLUSÕES.....	54
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
8 APÊNDICE.....	63

LISTA DE TABELAS

1	Composição química das dietas (g/100g de ração).....	32
2	Concentração de colesterol, HDL, triglicerídeos (mg/dL) dos animais, normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	40
3	Consumo de ração dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	63
4	Peso aos 120 dias dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	63
5	Evolução do peso corporal dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	63
6	Pressão arterial média dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	64
7	Freqüência cardíaca dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	64
8	Largura média da base de PAM no domínio do tempo dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	64
9	Desvio padrão dos valores de PAM dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	65
10	Largura média da base de FC no domínio do tempo dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	65
11	Desvio padrão dos valores de FC dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	66
12	Valores da integral das bandas de BF e de AF individuais dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	66
13	Razão entre as bandas de baixa freqüência e alta freqüência da análise espectral da série temporal dos intervalos entre batimentos cardíacos dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.....	66
14	Somatória e normalização da freqüência de classe da amostra de PAM de um animal normonutrido.....	67
15	Média da freqüência de classe dos valores de PAM do grupo normonutrido.	68

LISTA DE FIGURAS

1	Consumo diário médio de ração por grupos de ratos controles e experimentais.....	37
2	Efeito da desnutrição e da dieta suplementada com café sobre o peso corporal dos animais aos 120 dias de vida.....	38
3	Evolução do peso corporal dos grupos.....	39
4	Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Normonutridos e Desnutridos recuperados.....	40
5	Níveis basais de pressão arterial media dos grupos.....	41
6	Largura média das bases dos histogramas individuais de PAM dos grupos..	42
7	Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Normonutridos e Desnutridos.....	42
8	Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Normonutridos e Normonutrido café.....	43
9	Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Desnutridos e Desnutridos café.....	43
10	Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Desnutridos recuperado e Desnutridos recuperado café.....	43
11	Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Normonutrido e Desnutrido.....	44
12	Níveis basais de frequência cardíaca dos grupos.....	45
13	Largura média das bases dos histogramas individuais de FC dos grupos.....	45
14	Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Normonutrido e Normonutrido café.....	46
15	Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Desnutrido e Desnutrido café.....	46
16	Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Desnutrido recuperado e Desnutrido recuperado café.....	47
17	Razão entre as bandas de baixa frequência e alta frequência da análise espectral da série temporal dos intervalos entre batimentos cardíacos.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Alta frequência
BF	Baixa frequência
CA	Ácido caféico
DESN	Desnutrido controle
DCAF	Desnutrido café
DREC	Desnutrido recuperado controle
DRECAF	Desnutrido recuperado café
FA	Ácido ferrúlico
FC	Frequência cardíaca
FRP	Fluxo renal plasmático
GCE	Extrato solúvel em água de café verde
Hz	Hertz
NORM	Normonutrido controle
NCAF	Normonutrido café
PA	Pressão arterial
PAP	Pressão arterial pulsátil
QRS	Complexo QRS
RFG	Ritmo de filtração glomerular
SNS	Sistema nervoso simpático
SRA	Sistema renina angiotensina
VFC	Variabilidade da frequência cardíaca
VPAM	Variabilidade da pressão arterial média
VPA	Variabilidade da pressão arterial
TG	Triglicerídeos
HDL	Lipoproteína de alta densidade
SRH	Ratos espontaneamente hipertensos
5-CQA	Ácido 5-cafeoilquínico

RESUMO

O café constitui uma bebida de grande popularidade, que é consumida mundialmente, com aroma e sabor característicos. Numerosos estudos concernentes à sua segurança e às implicações na saúde têm sido realizados. O sistema cardiovascular pode ser afetado pela desnutrição e estudos indicam que alterações na ingestão de proteínas da dieta podem afetar os níveis de pressão arterial em humanos e em animais experimentais. O presente estudo teve como objetivo verificar se o café exerce uma função protetora no sistema cardiovascular em animais desnutridos e recuperados nutricionalmente. Para isso, o tipo de desnutrição marasmática foi imposto aos animais e nos quais pressão arterial, frequência cardíaca, variabilidade da pressão e da frequência, colesterol total, HDL e triglicérides foram avaliados. Seis grupos de ratos Wistar foram utilizados: **NORM** (grupo normonutrido controle) recebeu ração de biotério para ratos, enriquecida com ração para cães; **NCAF** (grupo normonutrido café) foi alimentado com dieta do grupo normonutrido controle, acrescida extrato aquoso de café; **DESN** (grupo desnutrido controle) foi alimentado com a quantidade de dieta correspondente a 60% da ração consumida pelo grupo normonutrido controle; **DCAF** (grupo desnutrido café) recebeu a mesma dieta fornecida ao grupo desnutrido controle, acrescida de extrato aquoso de café; **DREC** (grupo desnutrido recuperado controle) foi alimentado com a quantidade de dieta correspondente a 60% da ração consumida pelo grupo normonutrido controle e a partir dos 60 dias foi alimentado *ad libitum*; **DRECAF** (grupo desnutrido recuperado café) recebeu a mesma dieta do grupo desnutrido recuperado, contendo extrato aquoso de café, a partir dos 60 dias foi alimentado *ad libitum*. Aos 120 dias de vida os animais passaram por uma cirurgia de canulação para posterior registro da pressão arterial. Os resultados indicaram que o modelo de restrição alimentar foi capaz de reduzir o ganho de peso dos animais. Encontrou-se que os animais desnutridos e recuperados apresentaram aumento significativo na pressão arterial quando comparados aos animais normonutridos ($121,65 \pm 5,46$ mmHg e $120,98 \pm 3,34$ mmHg x $112,95 \pm 4,93$ mmHg, respectivamente). Verificou-se a mesma observação para frequência cardíaca entre os desnutridos e os normonutridos ($384,30 \pm 36,58$ bpm x $352,62 \pm 34,04$ bpm). A ingestão de café reverteu o efeito deletério da desnutrição sobre a pressão arterial e a frequência cardíaca durante o período experimental e durante o período de desenvolvimento do sistema cardiovascular. Sugere-se, portanto, que a ingestão de café foi capaz de proteger o

organismo do efeito adverso da desnutrição neonatal na pressão arterial e frequência cardíaca. Observou-se que os animais normonutridos com ou sem café apresentaram menor variabilidade da pressão em relação aos grupos que foram recuperados com ou sem café e estes quando comparados aos animais desnutridos com ou sem café apresentaram maior variação. Verificou-se a mesma observação para a frequência, mas somente para os animais desnutridos em relação aos normonutridos. Os níveis de colesterol, HDL e triglicerídeos apresentaram-se dentro da faixa de normalidade. Os dados indicam que o café exerce função anti-hipertensiva em animais desnutridos, corroborando outros estudos que o apontam como alimento funcional.

Palavras-chave: desnutrição; café; pressão arterial média; frequência cardíaca.

ABSTRACT

Coffee is very popular drink, which is consumed due to its characteristic flavor and taste. Several studies related to safety and health benefits have been performed. The cardiovascular system can be affected by malnutrition and studies indicate that alterations in dietary protein intake could affect the levels of blood pressure in human and experimental animals. The goal of the present study was to verify the protector function that coffee can exert on the cardiovascular system in wellnourished, malnourished and nutritionally recovered rats. The marasmic type malnutrition was imposed to the animals and blood pressure base line and variability, heart rate, total cholesterol, HDL and triglycerides were evaluated. Six groups of 10 Wistar rats were used: NORM (wellnourished control group) received rat lab chow diet, enriched with dog ration; NCAF (wellnourished coffee group) fed the same wellnourished control diet supplemented with coffee; DESN (malnourished control group) fed 60% of the diet given to NORM; DCAF (malnourished coffee group) fed 60% of the diet given to NCAF; DREC (nutritionally recovered control group) fed 60% of the diet given to NORM up to 60 days of life and then fed lab chow diet *ad libitum*; DRECAF (nutritionally recovered control coffee group) fed 60% of the diet given to NCAF up to 60 days of life and then fed lab chow diet *ad libitum*. At 120 days of life the animals were submitted to surgery for femoral cannulation for blood pressure record. The results indicate that food restriction model used decreased body weight of the animals. It was found that the malnourished and nutritionally recovered rats had increased blood pressure when compared to wellnourished control ($121,65 \pm 5,46$ mmHg e $120,98 \pm 3,34$ mmHg x $112,95 \pm 4,93$ mmHg, respectively). The same observation holds for cardiac frequency between malnourished and wellnourished rats ($384,30 \pm 36,58$ bpm x $352,62 \pm 34,04$ bpm). Coffee ingestion corrected the malnutrition effect, during the experimental period, when the cardiovascular system is being developed. It can be suggested, therefore, that coffee ingestion was able to protect the organism from the adverse effect on the cardiovascular system of the neonatal malnutrition. Wellnourished rats with or without coffee supplementation show less pressure variability compared to malnourished and nutritionally recovered rats supplemented or not with coffee. The same observation holds for heart rate, however, only for malnourished animals. The levels of total cholesterol, HDL and triglycerides were inside the physiological range for all groups.

The data indicate that coffee ingestion protects the cardiovascular system and, therefore, can be considered a functional food.

Key words: malnutrition; coffee; median blood pressure; heart frequency

1- INTRODUÇÃO

A alimentação adequada e equilibrada é de grande importância para o desenvolvimento fisiológico do ser humano, contudo, grande parte da população mundial tem deficiência alimentar.

A restrição alimentar afeta o organismo de diferentes maneiras, principalmente, durante a sua fase de crescimento e desenvolvimento, ocasionando seqüelas em vários órgãos e sistemas como, por exemplo, elevação da pressão arterial média e aumento da frequência cardíaca no sistema cardiovascular. A intensidade desses efeitos é dependente da quantidade e qualidade do alimento ingerido e do período da vida do indivíduo (WINICK e NOBLE, 1966; MASORO, 1989). Em alguns trabalhos observou-se que a deficiência protéica na dieta pode afetar os níveis de pressão arterial (PA) em humanos e em animais experimentais (ENGEN e SWENSON, 1969; FERNANDEZ-REPOLLET e cols., 1989). OLIVEIRA e cols. (2004), utilizando um modelo de desnutrição protéica em ratos, observaram peso corporal, concentração de albumina no plasma, proteína totais reduzidos, mas com hipertensão e acelerada frequência cardíaca (FC) em ratos que receberam esta dieta.

O café constitui uma bebida de grande popularidade, que é consumida mundialmente, com aroma e sabor característicos (PINTO, 2002). Em vista disso, numerosos estudos concernentes à sua segurança e às implicações na saúde têm sido realizados. Muitas pesquisas têm demonstrado que a cafeína, um dos constituintes do café, provoca várias respostas celulares e farmacológicas num largo espectro de sistemas biológicos, como estimulação do sistema nervoso central e do músculo cardíaco, o aumento da diurese e o relaxamento do músculo liso. Além da cafeína, o café contém uma série de outras substâncias, como polímeros fenólicos, ácidos clorogênicos, lipídeos, terpenos que possuem diferentes efeitos biológicos, como ação antioxidante, antimutagênica, antibiótica, antihipercolesterolêmica e antihipertensiva, (SAKAMOTO e cols., 2001).

Os ácidos clorogênicos constituem os principais compostos fenólicos do café, os quais são importantes para o sabor e aroma da bebida. A fração absorvida do ácido clorogênico e do ácido caféico são suficientes para exercer ação protetora e antioxidante (LARANJINHA e cols., 1994; STADLER e cols., 1994; BORN e cols., 1996; DAGLIA e cols., 2000), provocar alterações na circulação sanguínea e inibir a oxidação

de LDL *in vitro*, protegendo assim o organismo contra doenças cardiovasculares (OLTHOF e cols., 2001) e contra efeitos inibitórios *in vitro* e *in vivo* induzidos por produtos carcinogênicos (TANAKA e cols., 1993; KASAI e cols., 2000). A fração não absorvida, no cólon, inibe a formação de compostos mutagênicos N-nitrosos (nitrosaminas) exercendo assim efeito anticancerígeno. A trigonelina é a provável fonte do ácido nicotínico (niacina), importante vitamina para o ser humano presente no café e permitindo sua classificação como alimento, devido ao seu valor nutricional (CLARKE e MACRAE, 1989). Um grande número de componentes do café tem sido identificado como sendo potencialmente responsável pela sua quimioproteção. Estas ações protetoras do café conferem-lhe a qualificação de alimento funcional.

Há, entretanto, estudos epidemiológicos que contradizem os efeitos benéficos da ingestão do extrato do café torrado, isto é, bebidas do café (TANAKA e cols., 1998; NURMINEN e cols., 1999). Esses estudos indicam que o café torrado não afeta a pressão sanguínea em indivíduos hipertensos. Em trabalho feito por SUZUKI e cols. (2002) também foi observado que uma única ingestão oral do extrato do café torrado teve pouco efeito na pressão sanguínea em ratos espontaneamente hipertensos, e que o efeito hipotensivo do extrato de café verde nesses ratos não foi afetado por adição de cafeína.

Considerando que no Brasil o tipo de desnutrição predominante é a marasmática (restrição alimentar), o presente estudo teve como objetivo verificar, a exemplo da deficiência protéica, se esse tipo de desnutrição altera parâmetros relacionados à pressão arterial média (PAM) e à FC. Constatado o efeito, verificar-se-á se a ingestão de café exerce uma ação moduladora no sistema cardiovascular em animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados nutricionalmente após o período de desenvolvimento do sistema cardiovascular.

O presente estudo indica que os animais desnutridos e recuperados apresentaram aumento significativo na PA e na FC, e que a ingestão de café foi capaz de proteger o organismo desse efeito adverso da desnutrição neonatal.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- Efeitos da desnutrição no metabolismo

A desnutrição é a doença mais importante nos países em desenvolvimento devido à alta prevalência e estar relacionada às taxas de mortalidade infantil, prejuízo no crescimento físico e inadequado desenvolvimento econômico e social (SHILS e cols., 2003). De acordo com Organização Mundial de Saúde, mais de 30% da população infantil mundial é desnutrida. Dentre as 12 milhões de mortes de menores de cinco anos registradas a cada ano nos países em desenvolvimento, cerca de sete milhões podem ser diretamente atribuídas à desnutrição (UNICEF, 2005).

BROWN e POLLITT (1996) divulgam que aproximadamente 195 milhões de crianças menores de cinco anos apresentam algum grau de desnutrição. A desnutrição pode trazer vários problemas de saúde que se expressam pela perda de peso, baixa estatura, baixa resistência às infecções, podendo levar até a morte. Principalmente até os dois anos de vida, a desnutrição pode acarretar as mais severas seqüelas, fase na qual há um crescimento acelerado do corpo e onde o cérebro atinge aproximadamente 80% do seu tamanho adulto.

O alimento é um pré-requisito para existência do ser humano. A restrição alimentar voluntária é muito utilizada, hoje em dia, por razões de estética ou saúde, porém, grande parte da população mundial é forçada a praticar restrição alimentar por necessidade econômica (HASHMI e cols., 1986). Estima-se que, no mundo, mais de um terço das crianças menores de cinco anos sofram de desnutrição grave ou moderada. Cerca de 43% das crianças em países em desenvolvimento sofreram desnutrição em algum momento de suas vidas (ONÍS e cols., 1993).

Nos países subdesenvolvidos, a desnutrição precoce da criança é um dos problemas de saúde dos mais importantes (OLIVEIRA e cols., 2004). A desnutrição cedo na vida produz um impacto severo no desenvolvimento do corpo, tendo por resultado uma taxa reduzida da síntese da proteína na maioria dos tecidos do corpo (KELLER e cols., 1982; PEDROSA e MORAES-SANTOS, 1987). A desnutrição ocasiona seqüelas em vários órgãos e sistemas dependendo dos moldes, quantidades e períodos da vida utilizados. A restrição alimentar precoce, quando ocorre durante o período de desenvolvimento do animal, pode ocasionar efeitos irreversíveis. Quando

esta restrição é imposta no período de divisão celular, os animais não alcançam os níveis normais de peso corporal e de tamanho de alguns órgãos, mesmo após uma recuperação nutricional (WINICK e NOBLE, 1966). De maneira geral, a desnutrição é responsável por efeitos adversos na homeostase de vários sistemas fisiológicos.

A desnutrição pode ser definida como um estado patológico de diferentes graus de intensidade e variadas manifestações clínicas. Além das formas graves de desnutrição, como marasmo e kwashiorkor, têm-se também suas formas intermediárias ou moderadas. Marasmo é uma deficiência crônica de energia e de proteína, em estados avançados é caracterizado por perda de massa muscular e ausência de gordura subcutânea. Já o kwashiorkor está associado com a deficiência crônica de proteínas com ingestão apropriada de energia que leva a um quadro de hipoalbuminemia, edema e fígado gorduroso e com alterações bioquímicas e fisiológicas mais intensas do que no marasmo. No Brasil a principal deficiência nutricional é do tipo marasmática que é caracterizada pela falta de calorias (DUTRA-DE OLIVEIRA, 1998; CASTIGLIA, 1996).

Existem poucas referências sobre os efeitos da desnutrição protéico-calórica no processo de regulação do sistema cardiovascular. Alguns estudos mostram uma relação entre desnutrição intra-uterina e distúrbios cardiovasculares, como hipertensão (LANGLEY-EVANS e JACKSON, 1996).

2.2- Desnutrição, sistema cardiovascular e pressão arterial.

Paralelamente à desnutrição, a hipertensão arterial constitui um grave problema de saúde pública em praticamente todos os países e representa um dos mais elevados itens de custo médico-social, tendo em vista sua participação como fator de risco para algumas situações de elevada morbi-mortalidade, como a doença cérebro vascular, vasculopatias periféricas e insuficiência renal crônica (JCN 7 EXPRESS, 2003).

Em 1998, foram registrados 930 mil óbitos no Brasil, sendo que as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 27% dessas mortes (FREITAS e cols., 2002). Também pode observar-se um aumento do número de internações por doenças cardiovasculares pelo Sistema Único de Saúde (SUS), representando a principal causa de gastos em assistência médica no país (MONDINI e MONTEIRO, 1997; BATISTA e cols., 2002). Tendo em vista a classificação da hipertensão como problema de saúde pública, é importante ressaltar que ainda se sabe pouco sobre os mecanismos que

desencadeiam a hipertensão arterial. Em menos de 5% dos hipertensos é possível identificar uma causa básica que seja responsável pelo aumento da PA.

Durante a gravidez, o feto em formação depende de sua mãe para todas as exigências nutricionais. As variações na nutrição materna podem refletir alterações na saúde e no bem estar fetal. As mudanças podem permanecer na vida adulta e resultar em risco aumentado para doenças cardiovasculares e diabetes (Mc ARDLE e cols., 2006).

A hipótese de programação nutricional tem sido bem estudada e mostra que a desnutrição intra-uterina e continuada nos primeiros anos de vida, causa alterações metabólicas permanentes (FERNANDES e cols., 2003). A hipótese básica da programação pré-natal é que os eventos que ocorrem durante algum período da vida intra-uterina têm conseqüências deletérias em longo prazo. Propõe-se que o feto responde a algum estímulo potencial prejudicial alterando um ou mais aspectos do desenvolvimento fisiológico / morfológico. Entretanto essas mudanças promovem prejuízos futuros e predispõem o indivíduo ao risco aumentado de doenças cardiovasculares/metabólicas na vida adulta (GOFREY e BARKER, 2001; MORLEY e DWYER, 2001; GILMAN, 2002). De acordo com WINTOURA e cols. (2003), uma dieta restrita em proteína, o uso de glicocorticóides sintéticos ou naturais em determinados períodos críticos, a deficiência suave da vitamina A, a glicose sanguínea elevada, e uma alteração no alelo do gen GDNF (envolvido no desenvolvimento dos néfrons) estão associados com uma redução de 20% a 40% no número total de néfrons no adulto e conseqüente desenvolvimento da hipertensão. Alterações no eixo central adrenal/pituitária/hipotalâmico/hipocampal, e alteração na expressão do receptor de angiotensinogênio e da angiotensina, também estão envolvidas na hipertensão.

A prevalência de hipertensão arterial tem aumentado entre adolescentes desnutridos e os mecanismos envolvidos na gênese da hipertensão parecem ser conseqüências da desnutrição em fases iniciais da vida, suportando a hipótese de programação (FERNANDES e cols., 2003).

De acordo com trabalho realizado por ALMEIDA e cols. (2005), a restrição protéica, 50% em relação ao grupo controle, imposta às mães no período gestacional, resultou em prole com microalbuminúria, menor taxa de filtração glomerular, possivelmente devido ao número de glomérulos reduzidos, com conseqüente hipertensão. Como conclusão, a restrição alimentar no período de desenvolvimento fetal promove alteração na glomerulogênese, disfunção renal e conseqüente hipertensão no animal adulto.

LANGLEY-EVANS e cols. (1997) observaram que a desnutrição materna promove diminuição da atividade da 11 β HSD (11 β hidroxisteróide desidrogenase) promovendo aumento da exposição fetal aos glicocorticóides, levando a hipertensão.

Baixos crescimentos fetais levam às alterações na estrutura vascular, incluindo perda da elasticidade na parede vascular e alterações nos hormônios glicocorticóides, ocasionando alterações na pressão sangüínea (MARTYN e cols., 1995).

A associação entre baixo peso ao nascer e aumento da PA na infância e vida adulta tem sido fortemente demonstrada em estudos epidemiológicos realizados em diferentes países (LAW e SHIELL, 1996). Outros estudos mostraram uma relação entre desnutrição intra-uterina e distúrbios cardiovasculares como a hipertensão e aumento na incidência de doenças cardiovasculares (ENGEN e SWENSON, 1969; VIART, 1977; FERNANDEZ-REPOLLET e cols., 1989; LANGLEY-EVANS e JACKSON, 1996; TONKISS e cols., 1998;; HAWKINS e cols., 2000;). Trabalhos recentes mostraram que quanto menor o peso ao nascimento maior a PA sistólica na vida adulta e ainda, em pessoas com desnutrição no primeiro ano de vida, a taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares foi maior do que naquelas com baixo peso ao nascer; revelando que a desnutrição na infância parece ser um importante prognóstico de doenças cardiovasculares (BARKER, 1995; SAWAYA e cols., 2003). Estes achados foram confirmados em diferentes países, sem distinção de classes sociais, independentemente de influências como obesidade e fumo na vida adulta, mostrando que o estilo de vida apenas amplifica este risco (VALDEZ e cols., 1994; BARKER, 1997). Desta forma, estudos sobre as conseqüências da desnutrição na homeostase do organismo são de fundamental importância para a elaboração e direcionamento de políticas sociais destinadas ao combate da desnutrição infantil no país.

A importância do sistema renina angiotensina (SRA) sobre a regulação da PA está bem estabelecida e, a atividade elevada deste sistema pode ser um dos contribuintes para as alterações da PAM e FC (BENABE e MARTINEZ-MALDONADO, 1998; CONTRERAS e cols., 2002). Modelos clínicos e experimentais de desnutrição protéica têm demonstrado uma diminuição do ritmo de filtração glomerular (RFG) e fluxo renal plasmático (FRP), mostrando assim que a hemodinâmica renal pode estar alterada em conseqüência da desnutrição (BENABE e MARTINEZ-MALDONADO, 1998). Foi observado que animais submetidos à desnutrição apresentaram aumento na expressão do mRNA que codifica a renina no córtex e medula renal, maior atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) e aumento na síntese de receptores AT1 nos glomérulos e região tubular, sugerindo portanto maior atividade do SRA (BENABE

e cols., 1993; MARTINEZ-MALDONADO e BENABE, 1993). Observou-se também uma diminuição na produção de prostaglandinas e bradicinina que somada à maior sensibilidade local para angiotensina II poderia causar vasoconstrição da artéria aferente e alterar a hemodinâmica renal diminuindo o RFG e FRP (BENABE e MARTINEZ-MALDONADO, 1998). Diante dos dados, sugere-se uma importante participação do SRA na regulação cardiovascular em animais desnutridos.

Foi observado em animais, submetidos a uma restrição protéica, um aumento na resistência vascular renal e valores elevados de norepinefrina e epinefrina plasmáticas, podendo apresentar alterações na hemodinâmica renal e, com isso, interferir na regulação da PA (BENABE e MARTINEZ-MALDONADO, 1998). A aceleração do processo de “*turnover*” de norepinefrina em animais desnutridos tem demonstrado que a composição da dieta pode contribuir para alterações na atividade do sistema nervoso simpático (SNS) (YOUNG e cols., 1985).

TROPIA e cols. (2001) observaram maior ganho na curva do barorreflexo e maior responsividade do reflexo Bezold-Jarisch, utilizando um bloqueador α 1-adrenérgico específico (Prasozin), e verificaram um aumento do tônus simpático vasomotor em ratos desnutridos, sugerindo que estes animais poderiam apresentar um quadro de hiperatividade simpática. O barorreflexo é considerado um importante mecanismo de controle cardiovascular, cuja função está relacionada a uma redução da variabilidade da PA, por conseguinte, alterações extremas da PA são amenizadas pelo seu adequado funcionamento. OLIVEIRA e cols. (2004), utilizando o mesmo modelo de desnutrição em ratos, observaram animais com peso corporal, concentração de albumina no plasma e proteína totais reduzidos quando comparados com o grupo controle e hipertensão e FC aumentada em ratos que receberam dieta restrita em proteína (6%).

2.3- Mecanismos de controle de pressão arterial e frequência cardíaca

Para que a PA permaneça na faixa fisiológica de distribuição normal, existem alguns sistemas que visam esse controle.

O organismo controla temporalmente a PA por meio de barorreceptores, receptores cardiopulmonares, quimiorreceptores e resposta isquêmica do sistema nervoso central com mecanismos que atuam em curto prazo, ou seja, mecanismos

reflexos. Já os mecanismos de controle a médio e longo prazo, como por exemplo, relaxamento sob tensão, transferência transcapilar de fluidos, sistema renina-angiotensina-aldosterona, vasopressina e peptídeo natriurético atrial atuam em seguida aos mecanismos reflexos, numa escala temporal.

Os mecanismos de controle da PA que atuam em curto prazo corrigem mudanças na PA e no volume sanguíneos, momento-a-momento, via aferência e eferência neural. Redes neurais situadas no tronco cerebral, na base do cérebro, funcionam a todo o momento, controlando, a FC, a força de contração do coração e o tônus vascular de grande parte dos vasos (CAMPAGNOLE-SANTOS e HAIBARA, 2001).

Na parede da artéria aorta, e também nas artérias carótidas, existe um conjunto de células que excitam com a distensão dessas grandes e importantes artérias. A cada aumento na pressão arterial no interior dessas artérias, maior a distensão na parede das mesmas e, conseqüentemente, maior é a excitação dos tais receptores. Esses receptores são denominados baroreceptores e enviam sinais nervosos inibitórios ao centro vasomotor reduzindo a atividade deste e, conseqüentemente, reduzindo a PA. Quando a pressão naquelas importantes artérias aumenta, os baroreceptores aórticos e carotídeos se tornam mais excitados e, com isso, inibem mais intensamente, o centro vasomotor diminuindo a PA. Por outro lado, quando a pressão naquelas artérias diminui, os baroreceptores se tornam menos excitados e, com isso, inibem menos intensamente o centro vasomotor, o que provoca um aumento na PA (GUYTON, 1992).

O mecanismo renal pode ser subdividido em dois: hemodinâmico e hormonal. No hemodinâmico, um aumento na PA provoca também um aumento na pressão arterial nos capilares glomerulares, no néfron. Isto faz com que haja um aumento na filtração glomerular, o que aumenta o volume de filtrado e, conseqüentemente, o volume de urina. O aumento na diurese faz com que se reduza o volume do compartimento extracelular. Reduzindo tal compartimento, reduz-se também o volume sanguíneo e, conseqüentemente, o débito cardíaco. Tudo isso acaba levando a uma redução da PA. Já no humoral, uma redução na PA tem como conseqüência uma redução no fluxo sanguíneo renal e uma redução na filtração glomerular com redução no volume de filtrado. Isso faz com que as células justaglomerulares, localizadas na parede das arteríolas aferentes e eferentes no néfron, liberem uma maior quantidade de renina. Esta age na proteína plasmática chamada angiotensinogênio transformando-a em angiotensina-I. A angiotensina-I é então transformada em angiotensina-II por ação enzimática. A angiotensina-II é um potente vasoconstritor: provoca um aumento

na resistência vascular e, conseqüentemente, aumento na PA; além disso, a angiotensina-II também faz com que a glândula supra-renal libere maior quantidade de um hormônio chamado aldosterona na circulação. A aldosterona atua principalmente no túbulo contornado distal do néfron fazendo com que no mesmo ocorra uma maior reabsorção de sal e água. Isso acaba provocando um aumento no volume sanguíneo e, conseqüentemente, um aumento no débito cardíaco e na PA (GUYTON, 1992).

O desvio do fluido capilar é o mais simples de todos os mecanismos: pelos numerosos capilares existentes nos tecidos, o sangue flui constantemente graças a uma pressão arterial à qual é submetido. Os capilares são fenestrados e, portanto, moléculas pequenas, como a água, passam, com grande facilidade e rapidez, tanto de dentro para fora como de fora para dentro pela parede dos capilares. A pressão arterial, no interior dos capilares, força constantemente a saída de água para fora dos capilares. Felizmente, há uma pressão oncótica (ou pressão coloidosmótica), exercida por colóides em suspensão no plasma (como proteínas plasmáticas) que força, também constantemente, a entrada de água para dentro dos capilares. No equilíbrio a mesma quantidade de água que sai, também entra. Mas quando ocorre um aumento ou redução anormal na pressão arterial no interior dos capilares, observamos também um aumento ou uma redução mais acentuada na saída de água através da parede dos mesmos capilares. Isso faz com que o volume sanguíneo fique mais reduzido ou mais aumentado, dependendo do caso, o que certamente influi na PA, reduzindo-a ou aumentando-a (GUYTON, 1992).

2.4- Estimativa da Variabilidade da pressão arterial e da freqüência cardíaca

O coração não tem os seus batimentos regulares com intervalos fixos e, o ritmo sinusal apresenta certo grau de variação que é esperado e comum em indivíduos sadios (APPEL e cols., 1989). Alterações da FC e da PA ocorrem com o exercício físico e mental, respiração, contração muscular e graus variáveis de estimulação dos barorreceptores arteriais (HAINSWORTH e cols., 1970). Essa variação é provocada por modificação no tônus autonômico, a modulação vagal ou parassimpática diminuindo a FC e a simpática aumentando-a.

A variabilidade da frequência cardíaca (VFC) é definida como a variação dos intervalos temporais entre batimentos cardíacos sucessivos em ritmo sinusal. A variabilidade da pressão arterial (VPA) representa a variação dos valores de pressão, em mmHg, ao longo do tempo. A natureza do sinal de ECG permite uma resolução muito melhor para determinar um evento de batimento cardíaco, uma vez que o complexo QRS apresenta um pico com ponto máximo definido por R mais bem caracterizado do que o valor sistólico de uma onda de pressão arterial pulsátil (PAP). Contudo, utilizando-se de uma frequência de amostragem para a PAP suficientemente alta, determinar os intervalos entre batimentos através do ECG ou da PAP são metodologias igualmente aceitáveis para o estudo da VFC (MONTANO e cols, 2000; DIAS DA SILVA e cols, 2006).

A VFC pode ser analisada através de uma série de métodos, sendo que um dos mais simples é a análise no domínio do tempo. As chamadas medidas no domínio do tempo são índices obtidos de um registro contínuo, no qual a FC instantânea ou os intervalos R-R são analisados por meio de cálculos aritméticos, estatísticos ou geométricos, por exemplo, histograma R-R. Em geral, esse método é ideal para análise de registros de longa duração (STEIN e KLEIGER, 1999; MALLIANI, 2000).

A análise da VFC nos permite avaliar o controle autonômico sobre a função cardíaca, permitindo o reconhecimento e a caracterização de situações nas quais doenças possam afetar tal controle e, assim, auxiliar no diagnóstico e prognóstico de tais situações clínicas (AKSELROD e cols., 1981; MALLIANI, 1991; STEIN e KLEIGER, 1999).

Utilizamos a análise VFC com o intuito de quantificar a modulação simpátovagal sobre o funcionamento cardíaco. A literatura tem favorecido a análise da VFC no domínio da frequência se o intuito é quantificar o equilíbrio simpático/parassimpático (MALLIANI, 1991). Se tomarmos a série temporal obtida a partir dos intervalos entre os batimentos cardíacos, e nesta série temporal efetuarmos uma análise espectral, as componentes oscilatórias podem ser associadas a componentes distintas do sistema neurovegetativo. A energia contida na faixa espectral de 0 a 0,75 hertz (Hz) corresponde a baixa frequência (BF) é indicativo da atuação simpática enquanto a energia contida na faixa de 0,75 a 2,5 Hz a alta frequência (AF) é indicativo da atuação parassimpática. A relação entre a BF e a AF é indicativa do equilíbrio simpátovagal na modulação do ritmo cardíaco (MALLIANI, 1999).

2.5- Café e seus constituintes

O cafeeiro pertence à família botânica *Rubiaceae* que contém cerca de 500 gêneros e mais de 6000 espécies, sendo que as duas mais importantes economicamente são a *Coffea arabica* (Café Arábica) representando mais de 70% da produção mundial, e a *Coffea canephora* (Café Robusta). As outras duas espécies que crescem numa escala menor são a *Coffea liberica* (Café Liberica) e *Coffea dewevrei* (Café Excelsa).

Estima-se que o café seja conhecido há mais de mil anos no Oriente Médio, principalmente na região de Kafa que deu origem à denominação “Café”. Entretanto, o primeiro registro comprovado de sua existência ocorreu por volta do século XV, no ano 1400 d.C. Nessa época, o café foi descoberto por pastores etíopes que observaram que cabras tornavam-se mais espertas e resistentes quando comiam uma pequena cereja, o fruto do café. Os árabes vizinhos ao Oriente médio, foram os primeiros a cultivar o café e a usá-lo como bebida, por isso o nome científico *Coffea arabica*.

O café só chegou ao Brasil em 1727 sendo cultivado no Vale da Paraíba em São Paulo. O clima e as terras férteis da região fizeram do Brasil o maior produtor mundial a partir do final do século XIX (“International Coffee Organization” – ICO, 2005).

Atualmente, o café tem grande importância na economia mundial. Seu mercado internacional movimentava anualmente recursos na ordem de 15 bilhões de dólares. O café é a bebida mais consumida no mundo e o segundo maior mercado depois do petróleo. Pelo fato deste alto consumo mundial, a partir de anos mais recentes, as pesquisas relacionadas às atividades biológicas do café verde e especialmente do café torrado foram intensamente estimuladas (ABIC, 2005). O consumo *per capita* no país aumenta de 5,14 quilos para 5,28 quilos por ano. O consumo de café no Brasil (torrado, moído e solúvel) nos 12 meses terminados em abril atingiu 15,95 milhões de sacas de 60 quilos, quantidade 3% superior à registrada em igual período de 2005, segundo a ABIC (entidade que representa os torrefadores). A entidade mantém, para 2006 (ano fechado), a previsão de consumo de 16,5 milhões de sacas, dentro da meta de longo prazo que pretende alcançar 21 milhões de sacas em 2010. O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café e o segundo maior consumidor, atrás apenas dos EUA (ABIC, 2006).

Durante a torrefação, no processo de preparo, os grãos são aquecidos a 200-240°C por 10 -15 min. O processo de torrefação dá origem às mudanças que conferem ao café gosto e aroma agradáveis, mas também conduz a mudanças profundas na

composição química das substâncias e atividades biológicas do café, gerando derivados da reação de Maillard, caramelização de carboidratos e pirólises (CLARKE e MACRAE, 1989).

Em ordem de abundância, os valores dos constituintes solúveis em água presente no café são: polímeros fenólicos 8%, polissacarídeos 6%, ácidos clorogênicos 4%, minerais 3%, cafeína 1%, ácidos orgânicos 0,5%, açúcares 0,3%, lipídeos 0,2%, e aroma 0,1%. Os ácidos clorogênicos constituem os principais compostos fenólicos do café, os quais são altamente significativos para o sabor e aroma da bebida. A ingestão de ácidos clorogênicos estimula a secreção de ácido clorídrico no estômago (ARNAUD, 1988). Um grande número de componentes do café tem sido identificado como sendo potencialmente responsável pela sua quimioproteção. Entre outros, têm sido considerados como bons candidatos, a cafeína e polifenóis, incluindo os ácidos clorogênicos e seus produtos de degradação (CAVIN, 2002).

Existem muitos estudos epidemiológicos a respeito dos efeitos do extrato do café torrado, isto é, bebidas do café (TANAKA e cols., 1998; NURMINEN e cols., 1999). Estes estudos indicaram que o café torrado não afeta a pressão sanguínea em indivíduos hipertensos. Em estudo feito por SUZUKI e cols. (2002), foram observados efeitos do extrato solúvel em água de café verde (GCE) na pressão sanguínea que foram investigados usando ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Houve uma redução dose dependente na pressão sanguínea após uma única ingestão ou ingestão em longo prazo de GCE. Uma única ingestão oral do ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), o componente principal de GCE, diminuiu as pressões sanguíneas, sugerindo que 5-CQA está envolvido no efeito hipotensivo de GCE em SHR. Os aumentos significativos no ácido caféico (CA) ou no ácido ferúlico (FA) foram detectados no plasma após a ingestão oral de 5-CQA em SHR. Dos dois componentes, o FA teve um efeito depressor mais forte do que o CA. A ação depressora de FA sugere que o efeito hipotensivo do FA em SHR pode ser mediado por receptores muscarínicos de acetilcolina. Estes achados indicam que a ingestão oral de GCE ou de 5-CQA diminui a pressão sanguínea em SHR, e que o FA, um metabólito de 5-CQA, é um candidato componente hipotensivo. Estes resultados sugeriram que as diferenças nos efeitos hipotensivos de extrato de café verde e do extrato do café torrado poderiam ser explicadas por diferenças nas mudanças estruturais em ácidos clorogênicos, ou nos outros produtos torrados de café verdes. CLIFFORD, (1985), ARNAUD (1988), e VIANI (1988), sugeriram que pode haver algumas mudanças nas estruturas químicas de ácidos clorogênicos, tais como a migração de grupos, hidrólises ou da fragmentação

fenólica e polimerização durante a torra do café. Além, da perda de aminoácidos livres, as diminuições em sacarídeos livres (particularmente sacarose), em trigonelina, na formação da melanoidina, pigmento marrom pela reação de Maillard dos aminoácidos e da sacarose, e na produção do peróxido de hidrogênio são características dos grãos de café torrados. Os efeitos hipotensivos diferentes de café torrados e de café verde são atribuídos às diferenças em seus componentes. Os efeitos pressores dos componentes de café torrados requerem investigação adicional.

2.6- Cafeína

A principal ação da cafeína no organismo humano é caracterizada pela propriedade diurética. A cafeína excita o sistema nervoso central e age sobre o sistema muscular circular, principalmente sobre o músculo cardíaco. Em pequenas doses, ela diminui a fadiga, sendo prejudicial se for ingerida em excesso. Uma concentração elevada de cafeína pode afetar os rins, fígado e sistema nervoso. Por outro lado, a trigonelina possui uma baixa toxicidade comparada com a cafeína, atuando principalmente no sistema nervoso central, na secreção da bile e no intestino (SALDAÑA e cols., 1997).

A cafeína antagoniza os efeitos da adenosina, substância química do cérebro (neurotransmissor) causadora do sono e de alteração na microcirculação, melhorando o fluxo sanguíneo. Os ácidos clorogênicos são polifenóis com ação antioxidante que no processo de torra forma quinídeos, os quais possuem um potente efeito antagonista opióide, isto é, bloqueiam no sistema límbico o desejo excessivo de autogratificação que leva o indivíduo insatisfeito a se deprimir e a consumir drogas como nicotina, álcool e mesmo as ilegais. Adicionalmente, os quinídeos inibem a recaptação da adenosina (a qual atua por mais tempo), agindo assim de forma protetora contra os efeitos da cafeína nas células nervosas e melhorando a microcirculação (ABIC, 2005).

Em estudo realizado por ROBERTSON e cols. (1984), concluiu-se que a administração prolongada da cafeína, 250mg/dia em pacientes hipertensos, não se observou associação com a elevação significativa na pressão sanguínea, com os níveis de catecolamina do plasma, ou com a atividade da renina no plasma nesses pacientes.

2.7- Alimentos funcionais

Inúmeros fatores afetam a qualidade da vida moderna, de forma que a população deve conscientizar-se da importância de alimentos contendo substâncias que auxiliam a promoção da saúde, trazendo com isso uma melhora no estado nutricional.

“Os alimentos funcionais fazem parte de uma nova concepção de alimentos, lançada pelo Japão na década de 80, através de um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida” (MORAES e COLLA, 2006).

De acordo com SOUZA e cols. (2003), os alimentos funcionais devem apresentar propriedades benéficas além das nutricionais básicas, sendo apresentados na forma de alimentos comuns. São consumidos em dietas convencionais, mas demonstram capacidade de regular funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias. CÂNDIDO e CAMPOS (2005) destacam que alimentos funcionais são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis.

O Comitê de Alimentos e Nutrição do Instituto de Medicina da FNB (Federação Náutica de Brasília) define alimentos funcionais como qualquer alimento ou ingrediente que possa proporcionar um benefício à saúde, além dos nutrientes tradicionais que eles contêm (HASLER, 1998).

A definição de que o alimento funcional pode ser classificado como alimento é aceita nos EUA, Europa e também no Brasil. Nessa perspectiva, o alimento funcional deve apresentar primeiramente as funções nutricional e sensorial, sendo a funcionalidade a função terciária do alimento KWAK e JUKES, 2001.

No Brasil, o Ministério da Saúde, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os Alimentos Funcionais nas seguintes resoluções: ANVISA/MS 16/99; ANVISA/MS 17/99; ANVISA/MS 19/99.

Os alimentos funcionais são considerados promotores de saúde por estarem associados à diminuição dos riscos de algumas doenças crônicas, uma vez que são alimentos naturais ou preparados, contendo uma ou mais substâncias funcionais. Deve ressaltar-se a importância destes compostos no aumento da expectativa de vida da população, uma vez que o crescente aparecimento de doenças crônicas tais como a

obesidade, a aterosclerose, a hipertensão, a osteoporose, o diabetes e o câncer têm ocasionado preocupação com a alimentação, por parte da população e dos órgãos públicos da saúde.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- MODELO EXPERIMENTAL

O protocolo experimental está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal conforme projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG) sob o protocolo nº 134/05.

Animais

Ratos da raça Wistar, da colônia do Laboratório de Nutrição Experimental da Faculdade de Farmácia da UFMG, foram acasalados e, por volta do 18º dia de prenhez, determinada por esfregaço vaginal, as fêmeas foram transferidas para gaiolas individuais e divididas aleatoriamente em quatro grupos: um grupo normonutrido formado por três fêmeas que recebeu dieta composta por ração de biotério (Labina, PR, Brasil) e ração para cães (Bonzo Mix Carnes - SP, Brasil); um grupo normonutrido, composto por três fêmeas, que recebeu a ração anterior acrescida de extrato aquoso de café; um grupo desnutrido, composto por quatro fêmeas, que recebeu 60% da ração consumida pelo grupo normonutrido e um grupo desnutrido, composto por quatro fêmeas, que recebeu dieta anterior contendo extrato aquoso de café. Todas as dietas experimentais foram oferecidas a partir do dia do nascimento dos filhotes. O número de filhotes por fêmea foi fixado em oito, sendo que somente os machos foram mantidos. Após o desmame (aos 21 dias de vida) os filhotes foram separados, e manteve-se a mesma dieta oferecida para a respectiva fêmea matriz, obtendo-se uma totalidade de seis grupos distintos:

NORM: (grupo normonutrido controle) recebeu ração de biotério para ratos (Labina) enriquecida com ração para cães (Bonzo);

NCAF: (grupo normonutrido café) foi alimentado com dieta do grupo normonutrido controle, acrescida extrato aquoso de café;

DESN: (grupo desnutrido controle) foi alimentado com a quantidade de dieta correspondente a 60% da ração consumida pelo grupo normonutrido controle;

DCAF: (grupo desnutrido café) recebeu a mesma dieta fornecida ao grupo desnutrido controle, acrescida de extrato aquoso de café;

DREC: (grupo desnutrido recuperado controle) foi alimentado com a quantidade de dieta correspondente a 60% da ração consumida pelo grupo normonutrido controle e a partir dos 60 dias foi alimentado *ad libitum*;

DRECAF: (grupo desnutrido recuperado café) recebeu a mesma dieta do grupo desnutrido recuperado, contendo extrato aquoso de café, a partir dos 60 dias foi alimentado *ad libitum*.

Todos os animais receberam água *ad libitum* e foram pesados semanalmente.

Aos 120 dias após o nascimento, os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para implantação de um cateter na artéria femoral, sob anestesia, para medida da pressão arterial.

Preparo das dietas

O preparo da dieta foi por adaptação da técnica utilizada por PAOLINELLI (2002). As rações (Labina® e Bonzo®) foram previamente moídas e misturadas numa proporção de 3:1, respectivamente. A cada 90g desta mistura foram adicionados 100mL de solução contendo 4% de gelatina em pó e 1% de amido de milho, previamente dissolvidos em água quente, recebendo o nome de dieta controle. A dieta suplementada com café teve como base a dieta controle, porém a essa foi adicionado 100mL de extrato aquoso de café (8g de café torrado para 100mL de água a 90°C) em 100g da dieta controle. Depois de adequadamente homogeneizada, a massa resultante foi cortada em pequenos pedaços e secada a 60°C em estufa com circulação forçada de ar (NOVA ÉTICA, modelo 420D, Vargem Grande Paulista, SP, Brasil).

Composição química da dieta

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

Nutrientes	Controle	Controle Café	Desnutrido	Desnutrido café
Proteína	23,22	23,09	13,93	13,85
Carboidrato	45,37	45,79	27,22	27,47
Lipídeo	4,39	4,51	2,64	2,71
Teor calórico	313,87 Kcal	316,11 Kcal	188,31 Kcal	189,67 Kcal

*A composição química foi determinada através dos valores retirados dos rótulos dos produtos utilizados.

3.2- CARACTERIZAÇÃO DO CAFÉ

O café utilizado foi da espécie *Coffea arábica*, torrado a uma temperatura de 160°C em um tempo aproximado de 13 minutos e foi comparada a torra no colorímetro da marca AGTRON da SCAA na classificação 45 ideal para consumo. A amostra utilizada foi do tipo exportação, grão sem defeito, granulação média e de processo de preparo natural de bebida mole. A extração foi feita de acordo com VITORINO e cols. (2001) com algumas modificações. Um volume de 100mL de água destilada (90°C), aquecida em chapa elétrica, foi vertido lentamente sobre a amostra do café moído (8g) e a suspensão obtida foi agitada por 2 minutos. A amostra foi resfriada em água à temperatura ambiente por 10 minutos. O extrato foi então centrifugado (centrífuga refrigerada hitachi modelo CR-21, cidade Hitachinaka, Japão) a 27 g por 10 minutos a 8°C. E o sobrenadante foi utilizado no preparo da ração com café.

3.3- CONFECÇÃO E IMPLANTAÇÃO DAS CÂNULAS ARTERIAIS

Para a confecção das cânulas foram utilizados tubos de polietileno PE-50 (CPL) soldados a tubos de polietileno PE-10 (Becton Dickinson and Company, MD, USA). Antes do implante, o interior das cânulas foi lavado e preenchido com solução salina injetável a 0,9% (Sanobiol – Laboratório Sanobiol Ltda) contendo heparina sódica 25000UI/5mL (Liquemine – Roche) diluída 1:40. A extremidade PE-50 de cada cânula foi obstruída com pino de metal. Depois de anestesiados por via intra-peritoneal com Ketamina (5,7mg/100g de peso corporal) e Xilazina (0,86mg/100g de peso corporal), os animais foram submetidos a uma incisão na face ventral da pata traseira esquerda onde a artéria femoral foi dissecada e exposta. A artéria femoral foi cateterizada com PE-10 e as porções PE-50 foram transpassadas por sob a pele do dorso onde as extremidades destas cânulas foram exteriorizadas e fixadas próximo ao pescoço. Após a cirurgia, os animais foram acondicionados em gaiolas individuais mantidas na sala de experimentos durante 24 horas para recuperação. Durante este período continuaram recebendo água e ração até o momento do registro.

3.4- REGISTRO DA PRESSÃO ARTERIAL E AQUISIÇÃO DE DADOS

Antes de iniciar o registro, foi administrada salina heparinizada (20:1) na cânula implantada na artéria femoral com o intuito de impedir a formação de coágulos durante o experimento. A cânula arterial foi, então, conectada a um transdutor de pressão ligado a um amplificador. Os dados foram coletados com a utilização de um sistema de aquisição digital de sinais (frequência de amostragem 1 kHz, resolução 10 bits, marca *AKILAH da Kananda Comércio de Software e Produções Ltda, Belo Horizonte, MG, Brasil*). O software criava os registros de PA numa frequência amostral de 1000 Hertz. Depois de preparados, os animais passaram por um período de estabilização e, com os parâmetros cardiovasculares, PA estável, iniciaram-se os experimentos propriamente ditos. Cada experimento teve duração de 60 minutos, com isto, tivemos uma amostra de 3,6 milhões de valores de PA para cada animal (1000 Hz = 1000 pontos x 60 segundos x 60 minutos). Os registros que apresentaram artefatos foram corrigidos de forma que pudéssemos eliminar a interferência de ruídos sobre os parâmetros analisados. Em seguida, os registros de PA foram processados no *software AcqKnowledge for Windows®* (Biopac Systems, Inc.) para obtenção dos valores FC e PAM.

Para estimativa da variabilidade da PAM, utilizaram-se os dados de 60 minutos de cada registro, em intervalos de 10 minutos. Estes intervalos receberam um tratamento matemático no *software AcqKnowledge for Windows®* (Biopac Systems, Inc.) de forma a se obterem as curvas de distribuição de probabilidades com amplitude de 1 mmHg e 100 classes que variam de 80 a 180 mmHg para a PAM.

Após a obtenção das curvas de distribuição de probabilidade, as frequências de classe foram transferidas para uma tabela do Microsoft Excel feita para cada animal, onde fizemos a somatória e normalização da amostra (Tabela 11 / Apêndice).

Em seguida, os valores de frequência de classe normalizados de cada animal foram transferidos para uma outra tabela do Microsoft Excel (Tabela 12 / Apêndice) para que pudesse ser feito uma curva de distribuição de probabilidade relativa à PAM dos grupos.

A estimativa da variabilidade da PAM pode ser feita a partir do cálculo da largura média das bases das curvas individuais de distribuição de probabilidade dos grupos. Para este cálculo, tomamos como ponto de referência em cada curva aquele que representa a média dos valores e, a partir deste ponto, somaram-se as frequências de classe normalizadas até encontrarmos 95% dos valores dispersos em torno do ponto

de referência (Tabela 11). É importante ressaltar que para cada valor somado à direita do ponto de referência, somou-se também outro valor à esquerda até totalizar 95% dos valores. O mesmo procedimento foi utilizado para o cálculo da variabilidade da FC, porém, utilizou-se uma amplitude de 5 bpm e 50 classes que variam de 250 a 500 bpm.

Outra maneira de se obter a variabilidade da pressão e da frequência é pela análise do desvio padrão dos registros desses parâmetros. Esse método também foi utilizado nesse trabalho.

Para a estimativa da VFC no domínio da frequência utilizamos o registro da FC, transformado pela FFT (Transformada Rápida de Fourier) utilizando apenas as faixas de frequência correspondentes aos componentes de baixa frequência (BF) e de alta frequência (AF), representativos das modulações simpáticas e vagal, respectivamente. As faixas utilizadas foram: 0,2 a 0,75 Hz (BF) e 0,75 a 2,5 Hz (AF), de acordo com os trabalhos de MONTANO e cols. (2002). Para a análise estatística, comparamos a relação entre os componentes de BF e AF entre grupos.

3.5- ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Após os registros, os ratos foram deixados em jejum por um período de 12 horas, para coleta de sangue. Uma amostra de 2,0 mL de sangue de cada animal foi coletada e centrifugada a 3500 rpm por 15 minutos. O plasma foi separado e armazenado a 4°C para posterior avaliação dos níveis de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL) e de triglicerídeos (TG). Para avaliação destes parâmetros bioquímicos foram utilizados kits comercialmente disponíveis (031/064/024 respectivamente, Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil).

3.6- AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE RAÇÃO E PESO CORPORAL

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais que possuíam bebedouros de vidro e recipientes de aço para fornecimento de água de ração, respectivamente. Diariamente pesava-se a ração administrada e a sobra para avaliação da quantidade de ração ingerida por animal. Desta forma podia-se obter a quantidade de ração consumida pelo grupo controle para o cálculo dos 60% a serem

administrados aos grupos desnutridos. Os animais foram pesados semanalmente e tanto para o peso dos animais quanto para o das rações usou-se a balança digital SARTORIUS BP 2100 (*Made in Germany*).

3.7- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizado teste de normalidade em todas as variáveis estudadas, para a escolha do teste estatístico. Quando a distribuição dos dados apresenta-se 'normal' (sobre uma Curva de Gauss), foi realizado o teste análise de variância ANOVA complementado pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. Quando os dados não apresentaram distribuição normal foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal – Wallis complementado pelo teste de comparações múltiplas de Dunn's. Para comparação de duas médias usou-se o teste *t* de *Student*. Foi admitido um nível de significância (*p*) inferior a 5%, conferindo ao estudo uma confiabilidade de 95%. Para a análise dos dados foi utilizado o software Sigma Stat 2.03. Os dados foram apresentados como média, erro padrão da média e mediana.

4- RESULTADOS

4.1- CONSUMO DIÁRIO DE RAÇÃO E EFEITO DA RESTRIÇÃO DE ALIMENTOS SOBRE A MASSA CORPORAL

O consumo diário de ração dos grupos normonutridos, desnutridos e dos grupos desnutridos recuperados está representado na Figura 1. Nenhuma diferença significativa foi observada nos grupos que ingeriram dieta contendo café quando comparados com os grupos que não receberam a suplementação com café. Durante todo o período de vida, o consumo de ração dos grupos desnutridos apresentou-se significativamente menor que dos grupos normonutridos ($p < 0,05$). Os valores individuais podem ser observados na tabela 3 do apêndice.

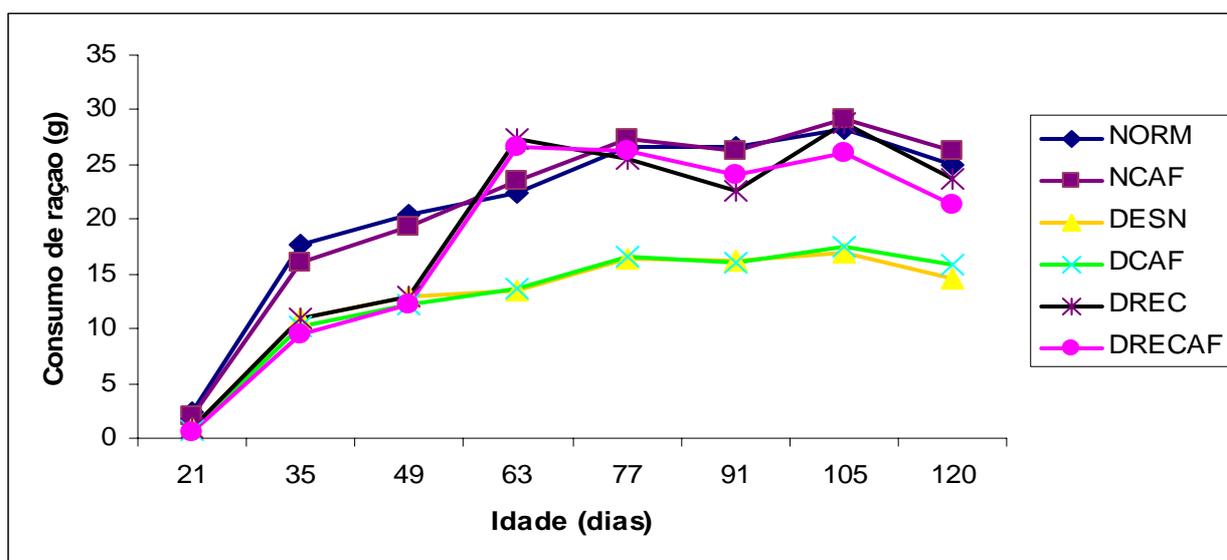


Figura 1 – Consumo diário médio de ração por grupos de ratos controles e experimentais. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. O consumo de ração dos grupos desnutridos apresentou-se significativamente menor que dos grupos normonutridos. Nenhuma diferença significativa ($p < 0,05$ – Teste *t* de *Student*) foi observada no consumo de ração entre os grupos suplementados ou não com café.

Os resultados dos efeitos da restrição de alimentos, da ingestão de café e da posterior recuperação nutricional sobre o peso corporal dos ratos estão mostrados na Figura 2 e os valores individuais podem ser observados na tabela 4 do apêndice.

O modelo de restrição de alimentos utilizado no presente estudo não alterou o peso ao nascer (tabela 5 do apêndice).

A restrição protéico-calórica (40%) imposta fez com que os animais desnutridos ao final dos 120 dias apresentassem redução de peso estatisticamente significativo ($p < 0,001$) quando comparados aos animais que receberam dieta controle (normonutridos) durante o mesmo período de tempo. Os animais que foram recuperados a partir dos 60 dias também apresentaram peso inferior ($p < 0,001$) em relação aos animais normonutridos. Nos grupos normonutridos e normonutridos café os animais apesar de não apresentarem diferença na ingestão de ração (tabela 3) apresentaram diferença significativa nos pesos corporais entre aqueles que ingeriram café dos que não ingeriram.

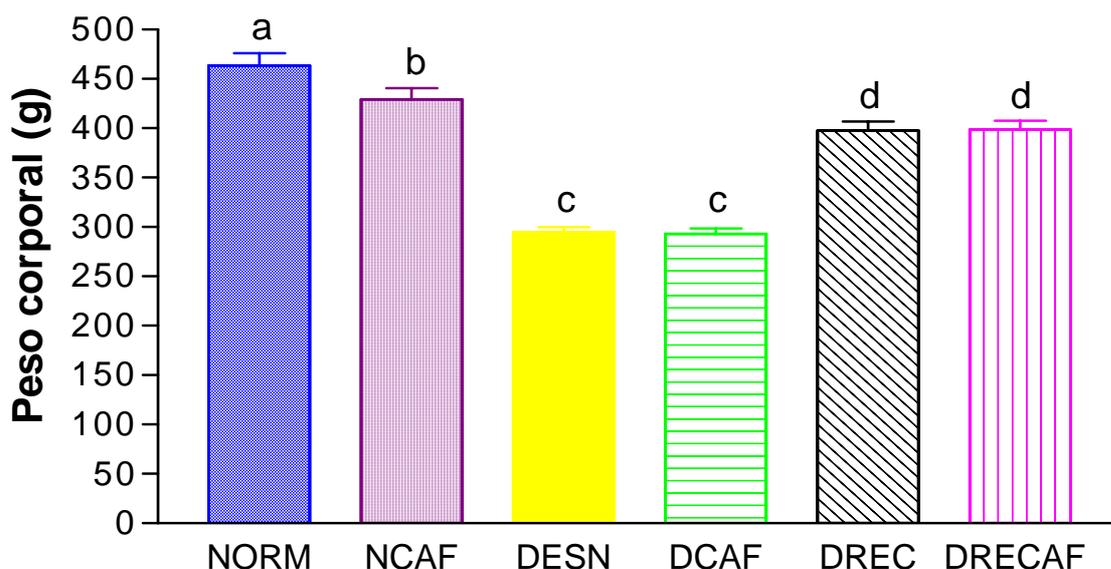


Figura 2 – Efeito da desnutrição e da dieta suplementada com café sobre o peso corporal dos animais aos 120 dias de vida. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. Letras sobrescritas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Duncan ($p < 0,001$) em animais da mesma idade. Os resultados são expressos como média \pm EPM.

A figura 3 mostra a evolução do peso corporal dos grupos, desde o dia do nascimento até os 120 dias de vida. Os valores individuais podem ser observados na tabela 5 do apêndice.

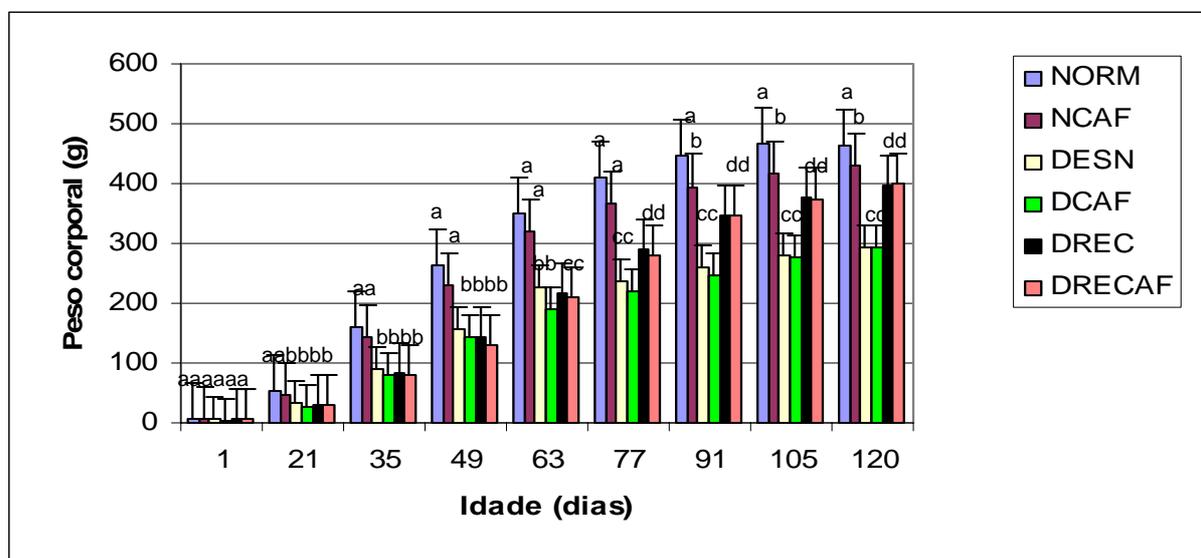


Figura 3 – Evolução do peso corporal dos grupos. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. Letras sobrescritas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste *t* de Student ($p < 0,05$) quando comparado entre os animais da mesma idade. Os resultados são expressos como média \pm EPM.

4.2- EFEITO DA RESTRIÇÃO DE ALIMENTOS SOBRE OS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

A Tabela 2 mostra a concentração média de colesterol, HDL e triglicerídeos (mg/dL) dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

Para os três parâmetros os valores encontrados estiveram dentro da faixa de normalidade, e mesmo dentro da faixa os valores de TG apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos.

Tabela 2 – Concentração de colesterol, HDL e triglicerídeos (mg/dL) dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
Concentração (mg/dL)						
Colesterol total	119,05±5,64	95,44 ±3,73	96,95 ±4,15	130,82±6,36	112,16 ±11,17	123,76 ± 7,15
HDL	60,91±2,25	59,17±4,16	51,73±5,65	53,85±4,24	62,34±6,21	53,82±5,44
TG	84,36±8,86 ^a	105,89±7,83 ^b	45,00±3,44 ^c	47,84±7,59 ^c	77,98±5,04 ^d	83,27±9,43 ^{ad}

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística com $p < 0,001$ segundo o teste estatístico ANOVA/Duncan para os triglicerídeos. Os dados estão apresentados como média e E.P.M. Para o colesterol e HDL não ocorreu diferença estatística entre os grupos.

4-3- ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE DA PRESSÃO ARTERIAL E NÍVEIS BASAIS.

A figura 4 mostra os histogramas individuais da PAM dos animais do grupo desnutrido recuperado e do normonutrido. Observa-se maior dispersão no grupo desnutrido recuperado. Para os demais grupos ver as figuras 7, 8, 9 e 10. Quanto à estimativa da variabilidade da pressão, realizada pelo método de análise do desvio padrão do registro da pressão, pode-se verificar os valores no apêndice (Tabela 9).

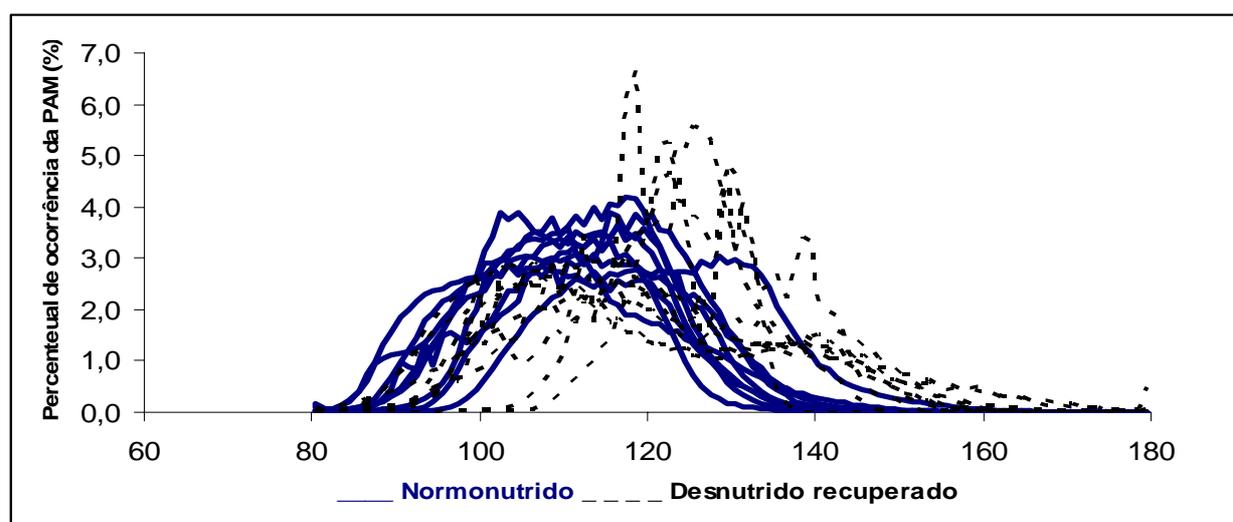


Figura 4 – Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Normonutridos e Desnutridos recuperados.

Os níveis basais de PAM do grupo desnutrido ($121,65 \pm 1,73$ mmHg), apresentaram um aumento significativo em relação ao grupo normonutrido ($112,95 \pm 1,56$ mmHg). Os animais do grupo desnutrido que receberam dieta contendo café, quando comparados aos normonutridos apresentaram mesmos valores, porém valores significativamente menores em relação aos animais desnutridos que não receberam dieta com café ($114,61 \pm 2,85$ mmHg; $121,65 \pm 1,73$ mmHg, respectivamente). Estes resultados podem ser observados na figura 5 e também na Tabela 6 do apêndice.

Quanto aos desnutridos recuperados, à recuperação nutricional a partir dos 60 dias de vida não foi capaz de alterar os valores de PAM.

Os animais do grupo normonutrido que receberam a dieta com café não apresentaram alterações dos níveis basais de PAM quando comparados aos animais normonutridos que não receberam café ($113,36 \pm 1,95$ mmHg; $112,95 \pm 1,56$ mmHg, respectivamente).

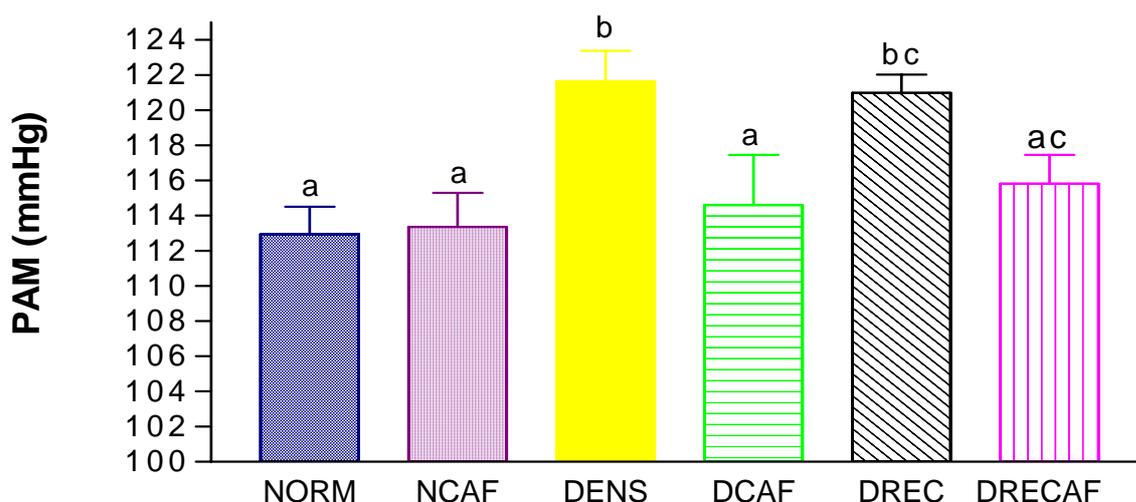


Figura 5 – Níveis basais de pressão arterial média dos grupos. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. Letras sobrescritas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Duncan ($p < 0,003$) em animais da mesma idade. Os resultados são expressos como média \pm EPM.

A figura 6 mostra a largura média da base dos histogramas de PAM dos grupos e observa-se que os grupos normonutridos com ou sem café ($36,6 \pm 2,5$ mmHg; $39,2 \pm 2,0$ mmHg respectivamente) apresentaram menor variabilidade em relação aos grupos que foram recuperados com ou sem café ($55,6 \pm 4,51$ mmHg; $56,0 \pm 5,14$ mmHg

respectivamente) e estes quando comparados aos animais desnutridos com ou sem café ($45,8 \pm 2,46$ mmHg; $40,6 \pm 4,47$ mmHg, respectivamente) apresentaram maior variação da PAM. Pode-se observar a dispersão dos valores nas Figuras 4, 7, 8 e 9 e os valores individuais na Tabela 8 do apêndice.

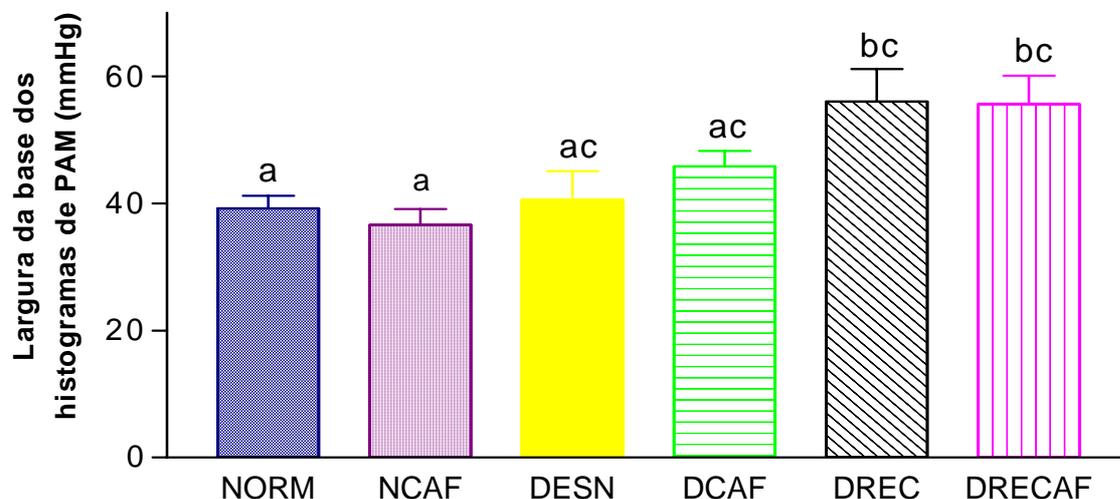


FIGURA 6 – Largura média das bases dos histogramas individuais de PAM dos grupos. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. Letras sobrescritas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Os resultados são expressos como média \pm EPM.

As figuras 7, 8, 9 e 10 representam os histogramas individuais de PAM dos demais grupos.

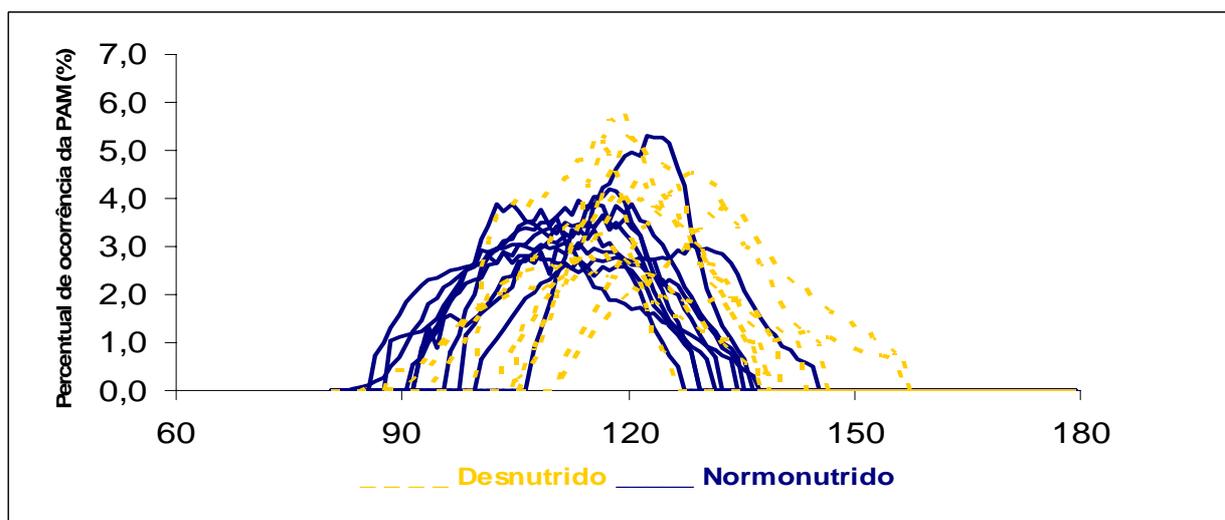


Figura 7 – Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Normonutridos e Desnutridos.

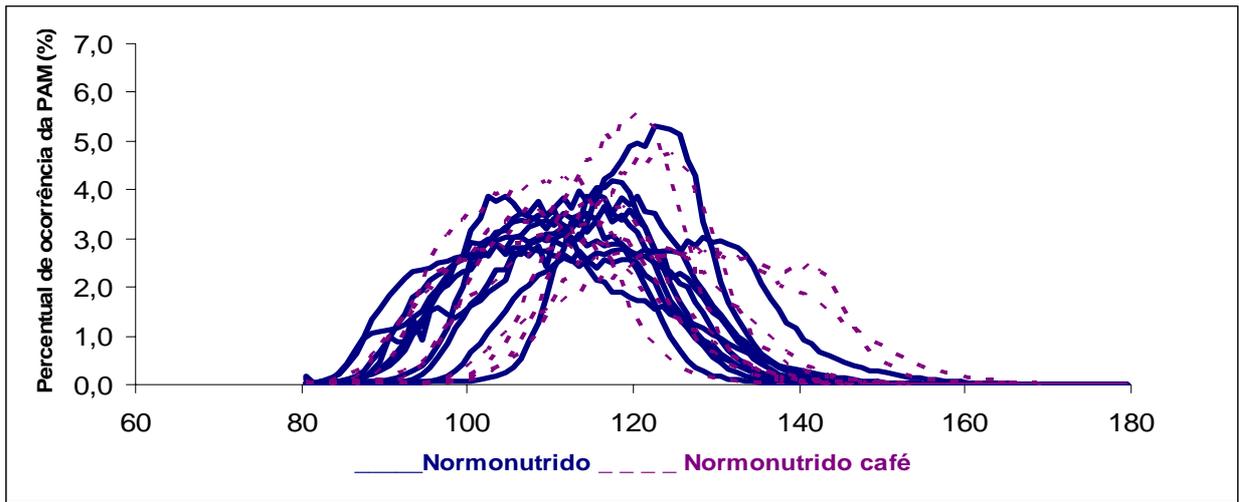


Figura 8 – Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Normonutrido e Normonutrido café.

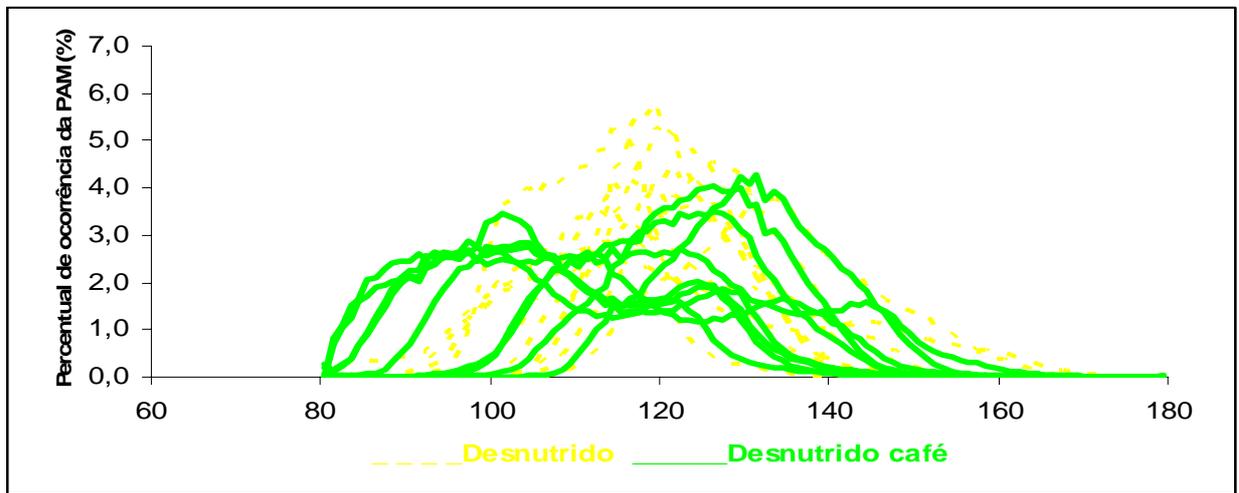


Figura 9 – Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Desnutrido e Desnutrido café.

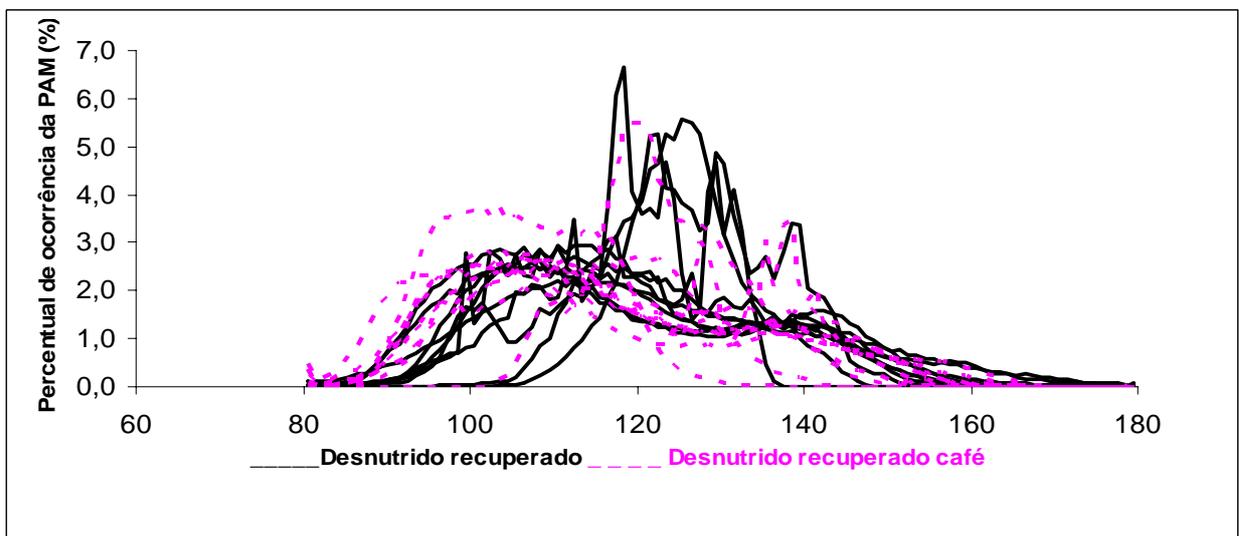


Figura 10 – Histogramas individuais de PAM dos animais dos grupos Desnutrido recuperado e Desnutrido recuperado café.

4-4- ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE DA FREQUENCIA CARDÍACA E NÍVEIS BASAIS.

A figura 11 mostra os histogramas individuais da FC dos animais dos grupos desnutrido e normonutrido. Observa-se maior dispersão no grupo desnutrido. Para os demais grupos ver as figuras 14,15 e 16. Quanto à estimativa da variabilidade da frequência, realizada pelo método de análise do desvio padrão do registro da frequência, pode-se verificar os valores no apêndice (Tabela 11).

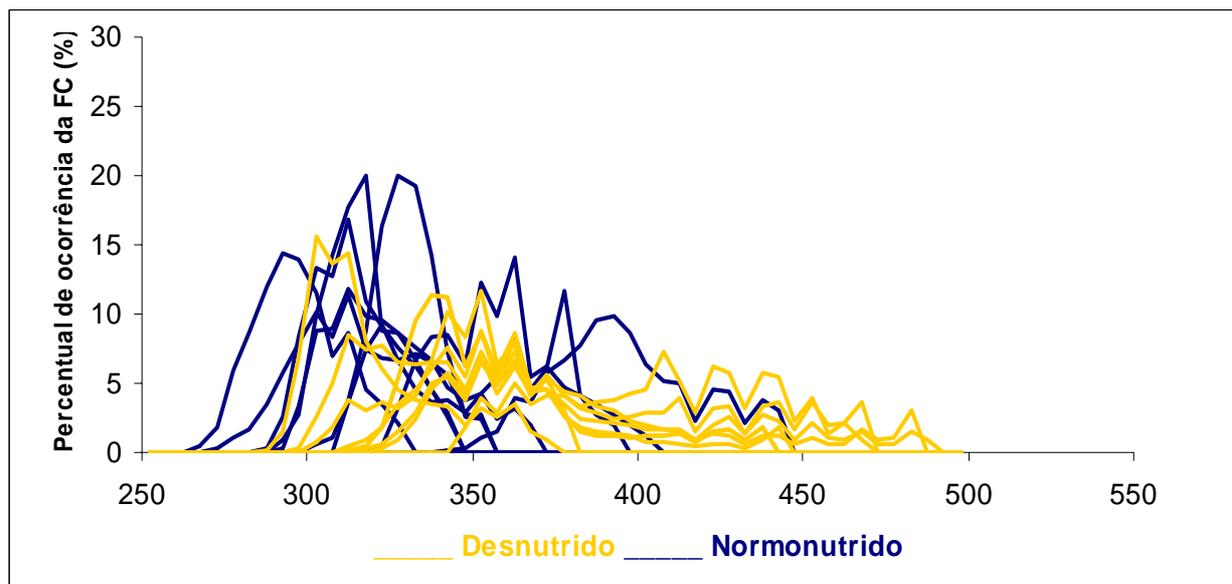


Figura 11 – Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Normonutrido e Desnutrido.

Os níveis basais de FC do grupo desnutrido ($384,30 \pm 11,57$ bpm) apresentaram um aumento significativo em relação ao grupo normonutrido ($352,62 \pm 10,76$ bpm). Os animais do grupo desnutrido que receberam dieta contendo café, apresentaram valores significativamente menores nos níveis basais de FC em relação aos animais desnutridos que não receberam dieta com café ($353,25 \pm 6,93$ bpm; $384,30 \pm 11,57$ bpm, respectivamente), em relação aos normonutridos os desnutridos café apresentaram mesmos valores. Estes resultados podem ser observados na figura 12 e também na Tabela 7 do apêndice.

Quanto aos desnutridos recuperados, a recuperação nutricional a partir dos 60 dias de vida não foi capaz de reduzir os valores de FC.

Não houve nenhuma alteração significativa dos valores entre os animais controles que receberam dieta com ou sem café ($354,24 \pm 6,38$ bpm; $352,62 \pm 10,76$ bpm).

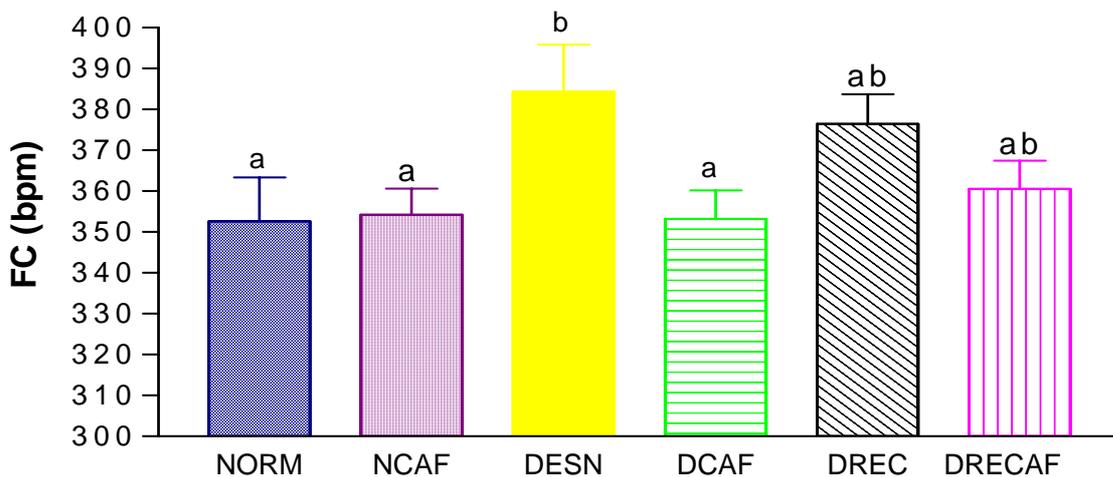


Figura 12 – Níveis basais de freqüência cardíaca dos grupos. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. Letras sobrescritas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Duncan ($p = 0,042$) em animais da mesma idade. Os resultados são expressos como média \pm EPM.

O gráfico de coluna mostrados na Figura 13 representa a largura média da base dos histogramas individuais de FC dos grupos.

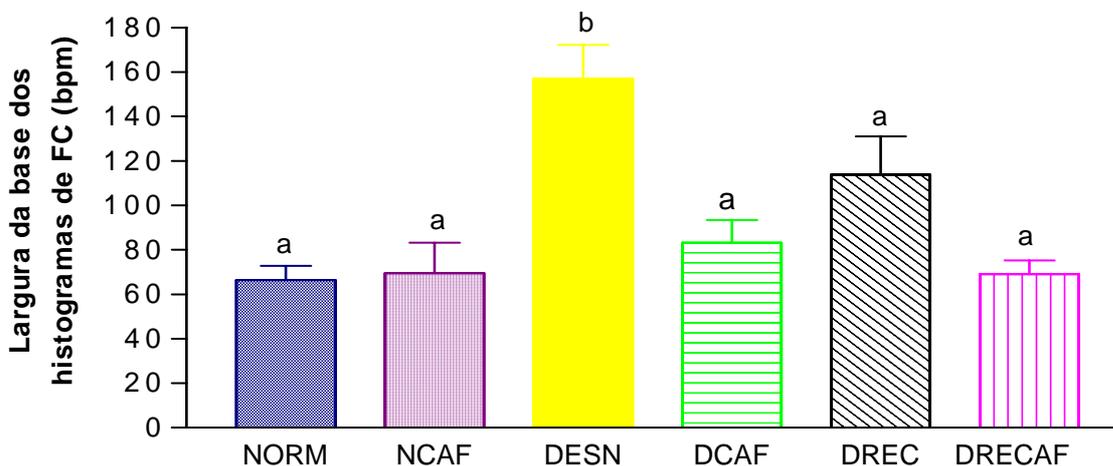


Figura 13 – Largura média das bases dos histogramas individuais de FC dos grupos. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. Letras sobrescritas distintas indicam diferenças estatisticamente significativas pelo teste de Duncan ($p < 0,05$). Os resultados são expressos como média \pm EPM.

Os resultados mostraram que a largura média da base dos histogramas de FC do grupo desnutrido ($157,00 \pm 15,06$ bpm), apresentou um aumento significativo em relação ao grupo normonutrido ($66,30 \pm 6,46$ bpm). O que pode também ser observado na Figura 11 pela dispersão dos valores. Os valores individuais da largura média da base podem ser observados no apêndice na Tabela 10.

As figuras 14, 15 e 16 representam os histogramas individuais de FC dos demais grupos.

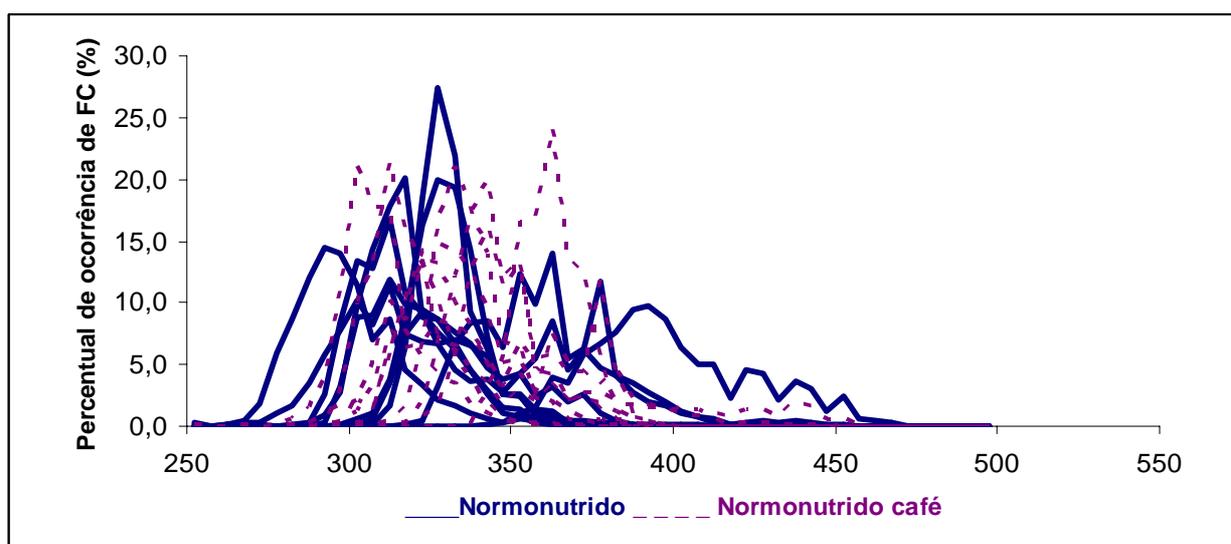


Figura 14 – Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Normonutrido e Normonutrido café.

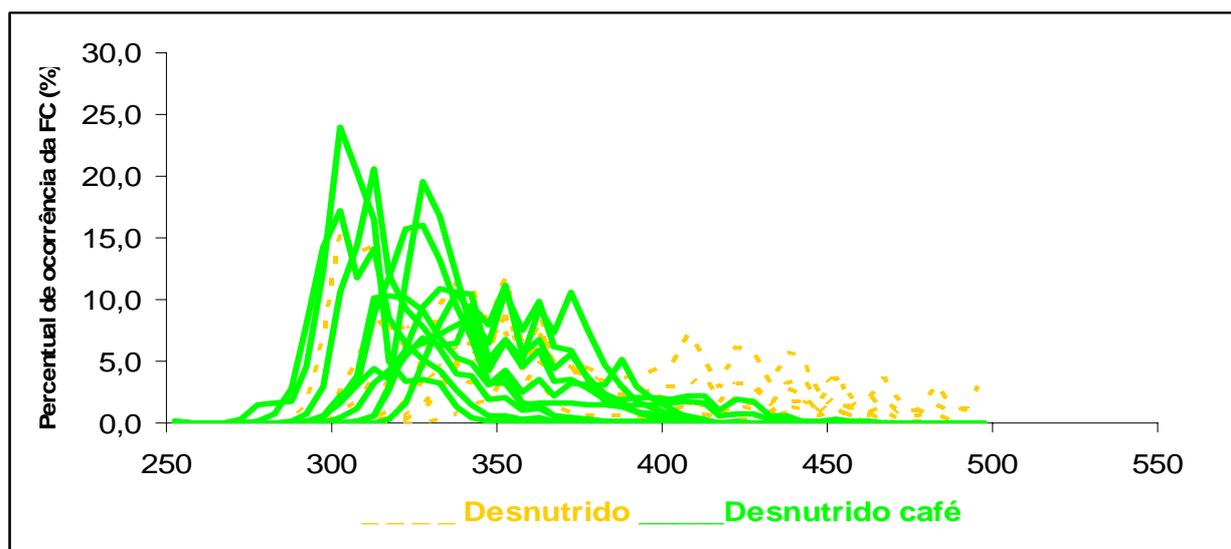


Figura 15 – Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Desnutrido e Desnutrido café.

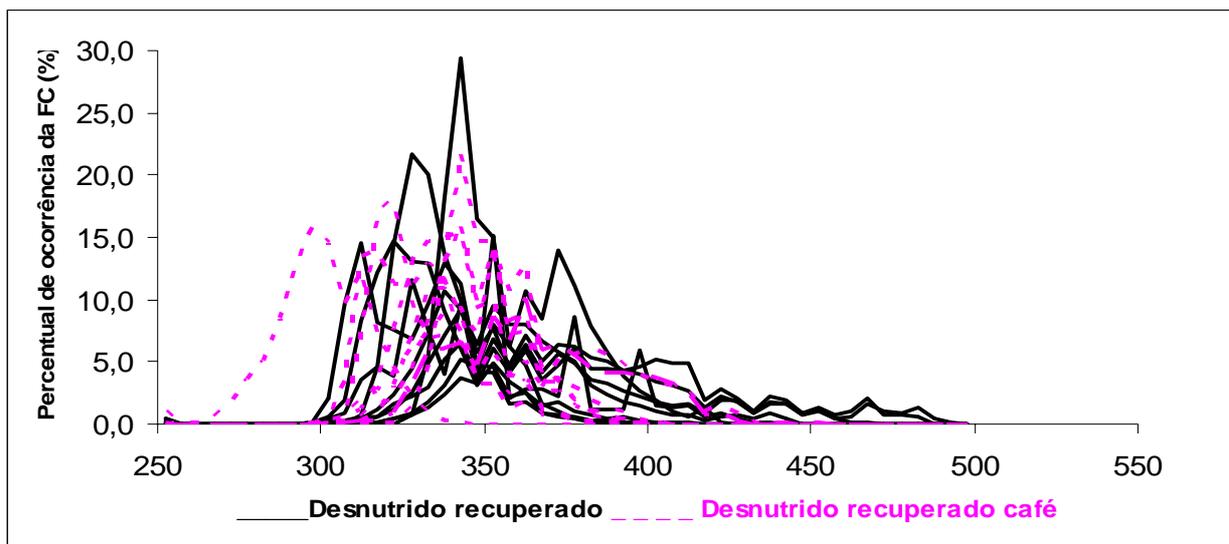


Figura 16 – Histogramas individuais de FC dos animais dos grupos Desnutrido recuperado e Desnutrido recuperado café.

4-5- RAZÃO ENTRE AS BANDAS DE BAIXA FREQUENCIA E ALTA FREQUENCIA DA ANÁLISE ESPECTRAL

A figura 17 mostra o gráfico de barras referente à comparação entre os componentes BF e AF dos seis grupos. Em virtude de a análise dos dados não ter apresentado distribuição normal, os dados foram mostrados como mediana e não houve diferença estatística entre os respectivos componentes. Para os valores individuais da integral das bandas de BF e de AF ver Tabela 12 no apêndice. Para os valores individuais da relação BF/AF ver Tabela 13.

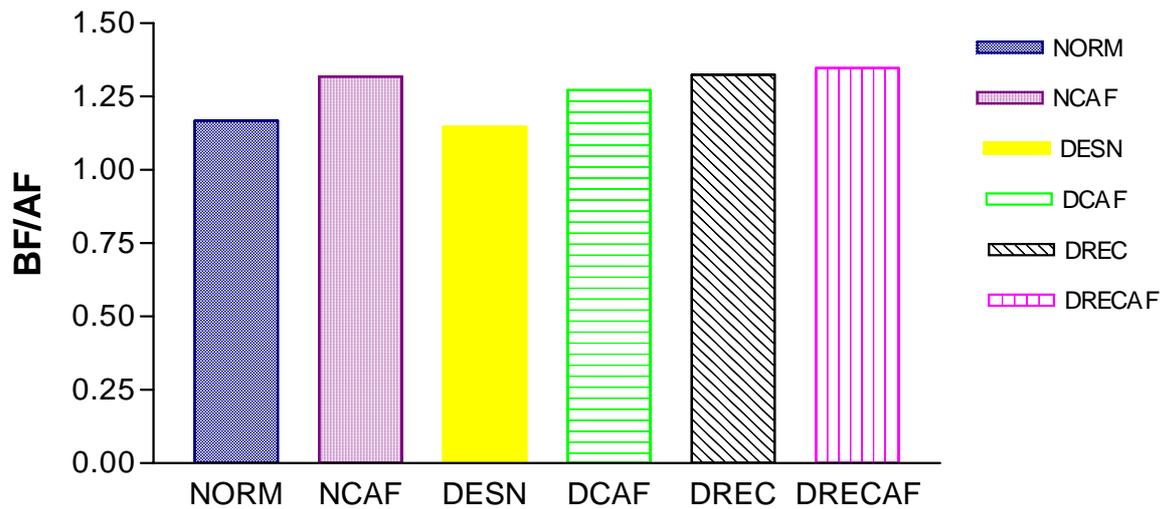


Figura 17 – Razão entre as bandas de Baixa Freqüência (BF) e Alta Freqüência (AF) da análise espectral da série temporal dos intervalos entre batimentos cardíacos. NORM representa o grupo normonutrido (controle) que recebeu alimentação *ad libitum*; DESN representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle; NCAF indica o grupo normonutrido que recebeu ração suplementada com café e DCAF, o grupo desnutrido que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café. DREC representa o grupo que recebeu uma dieta correspondente a 60% do consumo médio do grupo controle e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. E DRECAF o grupo desnutrido recuperado que recebeu 60% do consumo médio do grupo controle com ração suplementada com café e a partir dos 60 dias recebeu dieta *ad libitum*. Não houve diferença estatística entre os grupos. Kruskal – Wallis/Dunn's. Os resultados são expressos como mediana.

5- DISCUSSÃO

Experimentos em animais são fundamentais para o melhor entendimento das alterações que a desnutrição pode causar no organismo, haja vista que, em humanos, estudos sobre esses efeitos derivam com mais freqüência das observações epidemiológicas do que das averiguações experimentais. A escolha do rato como animal para experimentos é devido ao fato de serem animais de fácil manuseio, respondem com facilidade aos modelos de desnutrição tanto protéica como calórica e a presença de ciclo reprodutivo curto (NÓBREGA, 1986).

A desnutrição pode ser induzida durante a gestação, diminuindo o teor protéico e/ou calórico da dieta das fêmeas grávidas (TONKISS e cols., 1998); durante a amamentação, aumentando o número de filhotes por ninhadas e produzindo uma competição pelo leite materno (BELMAR, 1996), ou então, fornecendo uma dieta deficiente em proteínas e/ou calorias às fêmeas que estão amamentando (PEDROSA e MORAES-SANTOS, 1987). Em nossos experimentos, no dia de nascimento, ou seja, no início do período de amamentação, o teor de calorias e proteínas da dieta oferecida ao grupo desnutrido, foi de 60% em relação ao grupo normonutrido.

Essa restrição alimentar imposta aos animais no primeiro dia de vida até o sacrifício foi efetiva em promover a desnutrição, quando avaliada pelo ganho de peso. O peso dos animais não foi afetado ao nascimento. O modelo foi suficiente para verificar alterações nos sistema cardiovascular. Sabe-se que este modelo de desnutrição, que é imposta na fase de crescimento e desenvolvimento dos órgãos, provoca a redução no número de células, afetando a massa do organismo e alterando a multiplicação celular, podendo ocasionar seqüelas irreversíveis no animal (WINICK e NOBLE, 1966).

Nossos resultados mostraram que para o consumo de ração nenhuma diferença significativa foi observada nos grupos que ingeriram dieta contendo café quando comparados com os grupos que não receberam a suplementação com café. É importante ressaltar, que a quantidade de calorias da dieta oferecida ao grupo desnutrido (Tabela 1) é menor que a quantidade de calorias ofertada ao grupo normonutrido, com isso a quantidade de carboidratos, proteínas, lipídeos e os micronutrientes é menor, favorecendo assim, o desenvolvimento de um quadro de desnutrição não só protéica, mas calórica no geral nos animais que ingeriram esta

dieta. Tem sido relatado um aumento da termogênese em ratos submetidos à desnutrição, com isto, foi sugerido que os animais desnutridos apresentaram um aumento do metabolismo basal em relação aos animais que receberam dieta *ad libitum* (YOUNG e cols., 1985). Apesar de os animais do grupo normonutrido terem ingerido a mesma quantidade de ração em relação ao grupo normonutrido café, o peso final desses animais aos 120 dias de vida foi menor do que aqueles que não receberam café, o que pode ser explicado pelo aumento do metabolismo nesses animais provocado pela cafeína presente no café.

A restrição protéico-calórica (40%) imposta fez com que os animais desnutridos ao final dos 120 dias apresentassem redução de peso estatisticamente significativo ($p < 0,001$) quando comparados aos animais que receberam dieta controle (normonutridos) durante o mesmo período de tempo. Os animais que foram recuperados a partir dos 60 dias, aos 120 dias de vida também apresentaram peso inferior ($p < 0,001$) em relação aos animais normonutridos.

As doses de café e cafeína utilizadas neste modelo experimental foram elevadas em comparação ao consumo humano diário. O consumo estimado diário de cafeína em humanos que bebem de 2 a 4 xícaras de café é de aproximadamente 4 mg cafeína/kg de peso corporal e para fortes consumidores de café, a quantidade pode chegar a 15 mg/kg TURESKY e cols., (2003). Contudo, é importante salientar que o metabolismo dos humanos é mais lento quando comparado ao dos ratos.

Outros fatores importantes avaliados em nosso trabalho foram os parâmetros bioquímicos: colesterol total, HDL e triglicerídeos. Nossos resultados mostraram que em todos os grupos os valores encontrados dos três parâmetros estavam dentro dos valores de normalidade, apesar de, mesmo dentro da faixa normal, houve diferenças estatísticas entre os grupos que consumiram café na dieta quando comparados com os que não consumiram café e também entre os grupos desnutridos e normonutridos, como no caso dos triglicerídeos (Tabela 2). Neste caso, o aumento sem significado fisiológico, pois está na faixa normal de concentração, é esperado uma vez que a cafeína contida no café seria suficiente para inibir a fosfodiesterase e conseqüentemente aumentar o teor de glicose que seria substrato para a síntese hepática de triglicerídeos.

O café é uma bebida que não constitui fator de risco para aumento dos níveis de lipoproteínas sanguíneas.

Nos animais desnutridos provavelmente ocorreu o mesmo mecanismo, contudo, a deficiência calórica da dieta impediu o aumento sérico de triglicérides como observado nos animais normonutridos.

Os teores plasmáticos de albumina, glicose e proteína total não se alteram com o modelo de desnutrição adotada neste estudo (ESCRIVA e cols., 1991; GONZALEZ-BARRANCO e cols., 2003).

A desnutrição em fases iniciais da vida produz um impacto severo no organismo que pode levar a uma série de alterações fisiológicas, inclusive distúrbios cardiovasculares (KELLER e cols., 1982). Diversas evidências experimentais suportam a idéia de que a deficiência de proteínas pode afetar a atividade do sistema nervoso neuro-vegetativo, possibilitando alterações na atividade simpática e, por conseguinte, na PA (YOUNG e cols., 1985; ENGEN e SWENSON, 1969; FERNANDEZ-REPOLLET e cols., 1989; HAWKINS e cols., 2000;). Em animais submetidos a uma restrição protéica foi relatado um aumento da atividade simpática após observação de uma aceleração no processo de “*turnover*” de norepinefrina mostrando que a composição da dieta poderia contribuir para alterações na atividade do sistema nervoso simpático (YOUNG e cols., 1985).

À semelhança da desnutrição protéica (OLIVEIRA e cols., 2004), o modelo de restrição alimentar utilizada no presente estudo também promoveu aumento da pressão arterial e da frequência cardíaca nos animais desnutridos. Ambos efeitos, provocados por programação fisiológica causados pela desnutrição neonatal, foram corrigidos pelo consumo do café a partir do nascimento, admitindo uma possível secreção de produtos do café ou de metabólitos com atividade funcional. Este efeito da desnutrição parece ocasionar alterações no desenvolvimento fisiológico uma vez que, após este período, o animal nutricionalmente recuperado continuou com a pressão e a frequência cardíaca elevadas. Ambas alterações foram corrigidas pela ingestão de café. Isto permite concluir que o café age como um alimento funcional.

É possível que o efeito protetor do café não se dê com o uso da cafeína, pois a quantidade ingerida provavelmente não foi capaz de exercer efeito no sistema cardiovascular e ainda outros componentes do café, como os ácidos clorogênicos, sobrepuseram aos efeitos da cafeína.

Em nosso trabalho o resultado chave foi à ação benéfica do café em uma alteração provocada pela desnutrição.

O consumo de café não afeta a PAM ou FC em animais normonutridos, mas corrige as alterações cardiovasculares decorrentes da desnutrição protéico-calórica.

Um efeito semelhante é observado em pacientes hipertensos tratados com inibidores de ECA, por exemplo, captopril; onde a droga não afeta a pressão arterial de pacientes normotensos (VIBERT e cols, 1994; SILVA FRANCO, 1998).

Nossos resultados confirmam o efeito da desnutrição sobre os parâmetros cardiovasculares estudados (TROPIA e cols, 2001; OLIVEIRA e cols., 2004). O animal desnutrido apresenta um aumento significativo da pressão arterial (figura 5), que é revertido pelo consumo do café, sem, contudo, alterar a VPAM (figura 6). Isto significa que a variabilidade em torno do novo ponto de equilíbrio estabelecido pela reprogramação de regulação fisiológica é uma alteração plástica do organismo. A desnutrição aumenta tanto a FC basal (figura 12) quanto a VFC (figura 13), efeitos estes, novamente, revertidos pelo consumo de café. Isto significa que a nova programação do sistema leva a uma labilidade na regulação e que é protegida pelo consumo do café, utilizado como um alimento. Do ponto de vista clínico esta labilidade pode resultar em mais riscos de alterações cardiovasculares em animais que sofreram desnutrição neonatal e não tiveram a proteção conferida pelo consumo do café. Em síntese, os efeitos da desnutrição sobre as variáveis estudadas do sistema cardiovascular são revertidos pelo café, sugerindo o café como possível alimento funcional. Nesse trabalho utilizamos dois métodos para a estimativa da variabilidade da pressão e da frequência e pode-se verificar que os resultados foram os mesmos (Figura 6 x Tabela 9; Figura 13 x tabela 11, respectivamente).

Outros trabalhos sugerem a elevação da pressão causada pela desnutrição como consequência do aumento do tônus vasomotor periférico (TROPIA e cols., 2001), o que de certa forma é corroborado pelo fato de não termos observado diferenças na alteração da relação BF/AF (figura 17) sobre a modulação do ritmo cardíaco. É importante ressaltar que o consumo de café não afeta a PAM ou FC em animais normonutridos, mas corrige as alterações cardiovasculares decorrentes da desnutrição protéico-calórica. Este fato sugere que o café tem seu efeito nas alterações iniciadas pela desnutrição e não em alvos independentes, mas compensatórios (hipotensores e bradicárdicos). Para uma melhor compreensão de como o café é capaz de agir como alimento funcional, revertendo os efeitos da desnutrição, torna-se necessário especular sobre como a desnutrição pode afetar o sistema cardiovascular. A desnutrição neonatal é capaz de causar alterações plásticas nos diversos órgãos e sistemas do organismo, algumas das quais positivas para a manutenção da vida enquanto outras podem ser potencialmente desvantajosas. A restrição alimentar neonatal tem um importante efeito na diminuição de síntese protéica, que por sua vez é de crucial importância em

períodos críticos do desenvolvimento (MORGAN e WINICK, 1985). Um processo de má formação dos sistemas de controle envolvidos na homeostase cardiovascular, como decorrência da desnutrição, poderia explicar alguns dos resultados encontrados. Desta forma, uma vez que o café não restitui à normalidade os parâmetros bioquímicos-metabólicos, talvez seu efeito seja protegendo as alterações plásticas necessárias à constituição dos sistemas de controle cardiovasculares. Admitindo esta hipótese, a retirada do suplemento com café após a fase adulta não deveria afetar mais o sistema cardiovascular, uma vez que o sistema já está desenvolvido. De forma análoga, se o suplemento alimentar for dado depois da fase de maturação, seu efeito de reverter à ação da desnutrição no sistema cardiovascular seria comprometido. Estes protocolos devem ser cuidadosamente elaborados para responder à importante questão de que o café age na fase crítica do desenvolvimento como agente estabilizador.

Uma potenciação do sistema renina-angiotensina agindo sobre o sistema vasomotor poderia ser uma resposta compensatória ao estresse causado pela restrição alimentar neonatal.

Os resultados obtidos, aumento da VFC, estão de acordo com dados de OLIVEIRA et al (2004) e TROPIA e cols. (2001), no qual, observou-se que os ratos desnutridos apresentaram maior sensibilidade dos reflexos cardíacos e aumento do tônus simpático vasomotor.

A metodologia de registro e análise dos parâmetros cardiovasculares adotadas nestes experimentos mostrou-se adequada e eficiente para determinar os níveis basais e VPAM e VFC em nosso modelo experimental. A utilização de um tempo de registro de 60 minutos determinou tal eficácia de análise e conseqüentemente redução do desvio padrão, permitindo, portanto, detectar possíveis diferenças nos parâmetros estudados. A avaliação das curvas de distribuição de probabilidade além de nos mostrar o percentual de ocorrência de cada valor da PAM e FC durante todo tempo de registro, possibilitou também uma avaliação precisa da variabilidade dos parâmetros cardiovasculares, PA e FC.

6- CONCLUSÕES

De modo geral, a desnutrição, seja do tipo kwashiorkor ou marasmática, principalmente neonatal, promove aumento nos níveis de pressão arterial e de frequência cardíaca devido às alterações que ocorrem no organismo nos vários mecanismos de controle. No que se refere ao café, como importante alimento funcional, observou-se que o seu consumo exerce uma ação protetora, no sentido de evitar esse aumento nesses parâmetros. Em síntese o resultado chave foi à ação benéfica do café em uma alteração provocada pela desnutrição.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Disponível em: <<http://www.anvisa.org.br>> Acesso em: 12/01/2007.
- AKSELROD, S.; GORDON, D.; UBEI, F.A.; SHANNON, D.C.; BARGER, A.C.; COHEN, R.J. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science*, 213: 220-222, 1981
- ALMEIDA, J.R., MANDARIM-DE-LACERDA, C.A. Maternal gestational protein-calorie restriction decreases the number of glomeruli and causes glomerular hypertrophy in adult hypertensive rats. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 192: 945-951, 2005.
- APPEL M.L., BERGER R.D., SAUL J.P., SMITH J.M. & COHEN R.J. Beat to beat variability in cardiovascular variables: noise or music? *J.Am.Coll.Cardiol.* 14: 1139-1148, 1989.
- ARNAUD M.J. CLARKKE, R.J. & MACRAE, R. (Ed.) Coffee: The Metabolism of Coffee Constituents. London and New York, *Elsevier Applied Science*, 3: 41-43, 1988.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>> Acesso em: 04/11/2006.
- BARKER D.J. Fetal Origins of coronary Heart Disease. *BMJ* 311: 174, 1995 (Abstract)
- BARKER D.J. Fetal Nutrition and Cardiovascular Disease in Later Life. *Brasilica* 53: 96-108, 1997.(Abstract)
- BATISTA J.F., TAVARES A. & KOHLMANN Jr. Estudo Transversal sobre o Controle da Pressão Arterial no Serviço de Nefrologia da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP. *Arq Bras Cardiologia* 79: 117-122, 2002.
- BELMAR J.C.P.H.A.&S.-M.R. Malnutrition early in life impairs alpha-2 adrenoreceptor regulation of noradrenaline release in the rat cerebral cortex. *Nutrition Research* 16: 1734, 1996.
- BENABE J.E., WANG S., WILCOX J.N. & MARTINEZ-MALDONADO M. Modulation of ANG II receptor and its mRNA in normal rat by low-protein feeding. *Am J Physiol Renal Physiol* 265: F660-F669, 1993.
- BENABE J.E.; MARTÍNEZ MALDONADO M. The impact of malnutrition on kidney function. *Miner Electrolyte Metab*, 24(1): 20-26, 1998.

- BORN M, CARRUPT PA, ZINI R, *et al*: Electrochemical behaviour and antioxidant activity of some natural polyphenols. *Helv Chim Acta*, 79: 1147–1158, 1996.
- BROWN, J.L.; POLLITT,E. Malnutrition, poverty and intellectual development. *Scientific American*, 274: 2, 1996.
- CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; HAIBARA, A. S. Reflexos cardiovasculares e hipertensão arterial. *Rev. Bras. Hipertensão*, Brasil, 08: 30-40, 2001.
- CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais. Uma revisão. *Boletim da SBCTA*. 29(2): 193-203, 2005.
- CAVIN, C.; HOLZHAUSER, D.; SCHARF, G.; CONSTABLE, A.; HUBER, W.W.; SCHILTER, B. Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food and Chem. Toxicol.*, 40: 1155-1163, 2002.
- CLARKE, R.J. e MACRAE, R.(Ed.) Coffee: chemistry. 2. ed. New York: *Elsevier*, p.305, 1989.
- CASTIGLIA, P. T. Protein-energy malnutrition (Kwashiorkor and marasmus). *J Pediatr Health Care*, 10: 28-30, 1996.
- CONTRERAS.F, CABRERA J. & VELASCO M. Functional Aspects of the reninangiotensin-adoosterone System and Angiotensin II Receptor AT1 Blockers in Arterial Hypertensio. *International Congress Series* 87-98, 2002.
- CLIFFORD M. C. CLARKKE, R.J. & MACRAE, R. (Ed.) Coffee: Chemistry. London and New York, *Elsevier Applied Science*, 1: 153-202, 1985.
- DAGLIA, M.; PAPETTI,A.; GREGOTTI,C.; BERTE,F.; GAZZANI,G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *J. Agric. Food. Chem.*, 48:1449-1454, 2000.
- DIAS DA SILVA, V. J. ; SALGADO, H. C. ; FAZAN JUNIOR, R. . Variabilidade da pressão arterial: mecanismos e aplicações clínicas. In: Décio Mion Júnior, Fernando Nobre, Marco Antônio Mota Gomes. (Org.). MRPA: Monitorização Residencial da Pressão Arterial. Barueri: Manole Ltda., 11-27, 2006.
- DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E. e MARCHINI, J.S. Ciências Nutricionais. SARVIER: São Paulo, 1998.
- ENGEN, R.L. and SWENSON, M.J. Influence of diet on indirect systolic blood pressure of rats. *Journal of Nutrition*, 97: 19-24, 1969.
- ESCRIVA F., KERGOAT M., BAILBE D., PASCUAL-LEONE A.M. & PORTHA B. Increased insulin action in the rat after protein malnutrition early in life. *Diabetologia* 34: 559-564, 1991.

- FERNANDES M.T., SESSO R., MARTINS P.A. & SAWAYA A.L. Increased blood pressure in adolescents of low socioeconomic status with short stature. *Pediatr.Nephrol.* 18: 435-439, 2003.
- FERNANDEZ-REPOLLET, E., VAN LOON, P. and MARTINEZ-MALDONADO, M. Renal and systemic effects of short-term high protein feeding in normal rats. *American Journal of Medical Science*, 297: 348-354, 1989.
- FREITAS J.B., TAVARES A. & RIBEIRO A.B. Estudo Transvesal sobre o Controle da Pressão Arterial no Serviço de Nefrologia da Escola Paulista de medicina - UNIFESP. *Arq Bras Cardiologia* 79: 17-122, 2002.(Abstract)
- FUNDO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A INFÂNCIA. Disponível em: <<http://www.unicef.org.br>> Acesso em: 17 de julho de 2005.
- GILMAN, M.W. Epidemiological challenges in studying the fetal origins of adult chronic disease. *Int J. Epidemiol*, 31: 294-299, 2002.
- GODFREY, K.M. e BARKER, D.J. Fetal programming and adult health. *Public Health Nutr*, 4: 611-624, 2001.
- GONZALEZ-BARRANCO J., RIOS-TORRES J.M., CASTILLO-MARTINEZ L., LOPEZALVARENGA J.C., AGUILAR-SALINAS C.A., BOUCHARD C., DEPRES J.P. & TREMBLAY A. Effect of malnutrition during the first year of life on adult plasma insulin and glucose tolerance. *Metabolism* 52: 1005-1011, 2003.
- GUYTON, A.C. Tratado de Fisiologia Médica. 8 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1992.
- HAINSWORTH R., LEDSOME J.R. & CARSWELL F. Reflex responses from aortic baroreceptors. *Am.J.Physiol* 218: 423-429, 1970.
- HAWKINS, P., STEYN, C., OZAKI, T., SAITO, T., NOAKES, D.E. and HANSON, M.A. Effect of maternal undernutrition in early gestation on ovine fetal blood pressure and cardiovascular reflexes. *American Journal of Physiology*, 279: 340-348, 2000.
- HASHMI, R.S.; SIDDIQUI, A.M.; KACHOLE, M.S.; PAWAR, S.S. Alterations in hepatic microsomal mixed-function oxidase system during different levels of food restriction in adult male and female rats. *J. Nutr.*, 116: 682-688, 1986.
- HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease in: developing new food products for a changing prevention and health promotion. *Food Technology*. 52(2): 57-62, 1998.
- INTERNATION COFFEE ORAGANIZATION. The story of coffee. Disponível em: <<http://www.ico.org>> Acesso em: 11 de julho de 2005.

- JNC 7 EXPRESS (2003). (SEVENTH REPORT OF THE JOINT NATIONAL COMMITTEE ON PREVENTION, DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE). Disponível em: < <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/hypertension/express.pdf> > Acesso em: 05 de agosto de 2005. 34 p.
- KASAI H, FUKADA S, YAMAIZUMI Z, SUGIE S, MORI H: Action of chlorogenic acid in vegetables and fruits as an inhibitor of 8-hydroxydeoxyguanosine formation *in vitro* and in a rat carcinogenesis model. *Food Chem Toxicol* , 38: 467–471, 2000.
- KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control*. 12: 99-107, 2001.
- KELLER, E.A., MUNARO, N.I. and ORSINGHER, O.A. “Perinatal undernutrition reduces alpha and beta adrenergic receptor binding in adult rat brain”, *Science* 215: 1269–1270, 1982.
- LANGLEY-EVANS S. & JACKSON A. Intrauterine programming of hypertension: nutrient-hormone interactions. *Nutr.Rev.* 54: 163-169, 1996.
- LANGLEY-EVANS S.C.; PHILLIPS, G.J.; JACKSON, A.A. Fetal exposure to a maternal low protein diet alters the susceptibility of young adult rats sulfur dioxide-induced lung injury. *J. Nutr*, 127: 202, 1997.
- LARANJINHA JA, ALMEIDA LM, MADEIRA VM: Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. *Biochem Pharmacol* , 48: 487–494, 1994.
- LAW C.M. & SHIELL A.W. Is blood pressure inversely related to birth weight? The strength of evidence from a systematic review of the literature. *J.Hypertens.* 14: 935-941, 1996.
- Mc ARDLE, H.J., ANDERSEN, H.S., JONES, H. and GAMBLING L. Fetal Programming: Causes and Consequences as Revealed by Studies of Dietary Manipulation in Rats – A Review. *Placenta*, 27(Supplement 1): 56-60, 2006.
- MALLIANI, A. The autonomic nervous system: a Sherringtonian revision of its integrated properties in the control of circulation. *J. Auton. Nerv. Syst.* 64:158-161, 1991.
- MALLIANI, A. The pattern of sympathovagal balance explored in the frequency domain. *News Physiological Science* 14:111-17, 1999.
- MALLIANI, A. Heart rate variability: from bench to bedside. *European Journal of Internal Medicine* 16:12-20.
- MARTINEZ-MALDONADO M. & BENABE J.E. Renal Renin, Angiotensinogen, and ANG I-Converting-enzyme Gene Expression: Influence of Dietary Protein. *Am J Physiol (Renal Fluid Electrolyte Physiol)* 264: F981-F988,1993.

- MARTINS C.D.D., OLIVEIRA E.L., CARDOSO L.M., CHIANCA JUNIOR D.A., SILVA M.E. & MOREAIS M.F.D. Intrinsic Heart Rate in Awaked Rats Submitted to Low Protein Diet. *XXI Congress of the Latin American Association of Physiological Sciences* 1, 120(Abstract), 2003.
- MARTYN, C.N.; MEADE, T.W.; STIRLING Y.; BARKER, D.J.P. Plasma concentrations of fibrinogen and factor VII in adult life and their relation to intra-uterine growth. *Br J Haematol*, 89: 142-146, 1995.
- MASORO, E.J. Mini review: Food restriction in rodents: as evaluation of its role in the study of aging. *J. Gerontol. Biol. Sci*, 43(3): 59-64, 1989.
- MONDINI L. & MONTEIRO C.A. The stage of nutrition transition in different Brazilian regions. *Arch. Latinoam. Nutr.* 47: 17-21, 1997.
- MONTANO, N.; COGLIATI, C.; DIAS DA SILVA, V.J.; GNECCHI-RUSCONE, T.; MASSIMINI, M. PORTA, A. MALLIANI, A. Effects of Spinal Section and of Positive-Feedback Excitatory Reflex on Sympathetic and Heart Rate Variability. *Hypertension*, 36: 1029, 2000.
- MONTANO e cols. Intravenous amiodarone modifies autonomic balance and increases baroreflex sensitivity in conscious rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 95:88-96, 2002.
- MORGAN, B.L.G.; WINICK, M. Pathological effects of malnutrition on the Central Nervous System. In: SIDRANSKY, H. (Ed.) *Nutritional pathology; pathobiochemistry of dietary imbalances*. New York: Marcel Dekker, 1985. 400p.
- MORAES F. P. e COLLA L. M. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Revista Eletrônica de Farmácia* 3(2): 99-112, 2006.
- MORLEY R. e DWYER, T. Fetal origins of adult disease? *Clin. Exp. Pharmacol Physiol*, 28: 962-966, 2001.
- NÓBREGA F.J. T.S.S.Q.&.T.C.E.P. Repercussões da desnutrição protéico calórica no sistema nervoso central. In Panamed Ed. Anonymouspp. 325-339, 1986.
- NURMINEN ML, NIITTYNEN L, KORPELA R, VAPAATALO H: Coffee, caffeine and blood pressure: a critical review. *Eur J Clin Nutr*, 53: 831-839, 1999.
- OLIVEIRA, E. L.; CARDOSO, L. M.; PEDROSA, M. L.; SILVA, M. E.; DUN, N. J.; COLOMBARI, E.; MORAES, M. F. D. and CHIANCA-JR, D. A. A low protein diet causes an increase in the basal levels and variability of mean arterial pressure and heart rate in Fisher rats. *Nutritional neuroscience*, 7(4): 201-205, 2004.

- OLTHOF, M. R.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Human Nutrition and Metabolism. *J. Nutr.* 131: 66-71, 2001.
- ONÍS, M., MONTEIRO, C., CLUGSTON, G. The worldwide magnitude of protein-energy malnutrition: an overview from the WHO Global Database on Child Growth. *Bulletin of World Health Organization*, Geneve, (71)6: 703-712, 1993.
- PAOLINELLI, S. T. Ação da cúrcuma com alimento funcional sobre o sistema de biotransformação de xenobióticos induzidos pela desnutrição. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG. 2002, 73p. (Dissertação de mestrado em Ciência de Alimentos).
- PEDROSA, M.L. and MORAES-SANTOS, T. "Neuronal protein biosynthesis by neonatally malnourished and nutritionally recovered rats", *Braz. J. Med. Biol. Res*, 20: 331–338, 1987.
- PINTO, N.A.V.D. Avaliação química e sensorial de diferentes padrões de bebida do café arábica cru e torrado. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002, 92p. (Tese de doutorado em Ciência dos Alimentos).
- ROBERTSON, D.; HOLLISTER, A. S.; KINCAID, D.; WORKMAN, R. GOLDBERG, M. R.; TUNG, C.S and SMITH, B. Caffeine and hypertension. *The American Journal of Medicine*, 77(1): 54-60, 1984.
- SALDAÑA, Marleny D. A., MAZZAFERA, Paulo and MOHAMED, Rahoma S. Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com CO₂ supercrítico. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 17(4): 371-376,1997.
- SAKAMOTO, W.; NISHIHARA, J.; FUJIE, K.; IZUKA, T.; HANDA, H.; OZAKI, M.; YUKAMA, S. Effect of Coffee Consumption on Bone Metabolism. *Bone*, 28: 332–336, 2001.
- SAWAYA A.L., MARTINS P., HOFFMAN D. & ROBERTS S.B. The link between childhood undernutrition and risk of chronic diseases in adulthood: a case study of Brazil. *Nutr.Rev.* 61: 168-175, 2003.
- SILVA FRANCO R.J. da. Proteção renal durante o tratamento com inibidores da enzima conversora de angiotensina. *HiperAtivo*, 5(2): 110-119, 1998.
- SHILLS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE M. and ROSS, A. C. Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença. 9 ed. Manole: São Paulo, 2003.
- SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. *Boletim da SBCTA*. 37(2): 127-135, 2003.

- STADLER, R. H.; TURESKY, R. J.; MULLER, O.; MARKOVIE, J.; LEONG-MORGENTHALER, P. The inhibitory effects of coffee on radical-mediated oxidation and mutagenicity. *Mutation Research*, 308: 177-190, 1994.
- STEIN, P.K.; KLEIGER, M.D. Insights from the study of heart rate variability. *Annu. Rev. Med.* 50: 249-61, 1999.
- SUZUKI, A.; KAGAWA, D.; OCHIAI, R.; TOKIMITSU, I. and SAITO, I. Green coffee bean extract and its metabolites have a hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 25(1): 99-107, 2002.
- TANAKA T, KOJIMA T, KAWAMORI T, *et al*: Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolics caffeic, ellagic, chlorogenic and ferulic acids. *Carcinogenesis* , 14: 1321–1325, 1993.
- TANAKA K, TOKUNAGA S, KONO S, *et al*: Coffee consumption and decreased serum gamma-glutamyltransferase and aminotransferase activities among male alcohol drinkers. *Int J Epidemiol*, 27: 438–443, 1998.
- TONKISS J., TRZCINSKA M., GALLER J.R., RUIZ-OPAZO N. & HERRERA V.L. Prenatal malnutrition-induced changes in blood pressure: dissociation of stress and nonstress responses using radiotelemetry. *Hypertension* 32: 108-114, 1998.
- TROPIA, F.C.; CARDOSO, L.M.; PEDROSA, M.L.; SILVA, M.E.; HAIBARA, A.S.; MORAES, M.F. and CHIANCA, D.A., JR. "Effects of low-protein diet on the baroreflex and Bezold-Jarisch reflex in conscious rats", *Nutr. Neurosci.* 4: 99–107, 2001.
- TURESKY, R. J.; RICHOSZ J.; CONSTABLE, A.; CURTIS, K. D.; DINGLEY, K. H.; TURTELTAUB, K. W. The effects of coffee on enzymes involved in metabolism of the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine in rats. *Chem. Biol. Interact.*, 145: 251-265, 2003
- VALDEZ R., ATHENS M.A., THOMPSON G.H., BRADSHAW B.S. & STERN M.P. Birthweight and adult health outcomes in a biethnic population in the USA. *Diabetologia*, 37: 624-631, 1994.
- VIANI R. CLARKKE, R.J. & MACRAE, R. (Ed.) Coffee: Physiologically Active Substances in Coffee. London and New York, *Elsevier Applied Science*, 3: 1–31, 1988.
- VIART, P. Hemodynamic changes in severe protein-calorie malnutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*, 30: 344-348, 1977.

- VIBERTI G.C., MOGENSEN C.E., GROOP L.C., PAULS J.F. Effect of captopril on progression to clinical proteinúria in patients with insulin dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. *JAMA* 271: 275-279,1994.
- VITORINO, M. D.; FRANÇA, A.S.; OLIVEIRA, L.S; BORGES, M.L.A. Metodologia de obtenção de extrato de café visando a dosagem de compostos não voláteis. *Revista Brasileira de Armazenamento*. V. Especial café, 3: 17-24, 2001.
- YOUNG, J.B., KAUFMAN, L.N., SAVILLE, M.E. and LADSBERG, L. Increased sympathetic nervous system activity in rats fed a low protein diet. *American Journal of Physiology*, 248: 627-637, 1985.
- WINICK, M.; NOBLE, A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages, *J. Nutr.*, 89: 300-306, 1966.
- WINTOURA, E.M.; JOHNSON, K; KOUKOLAS, I.; MORITZ, K.; TERSTEEG, M.; DODIC, M. Programming the cardiovascular system, kidney and the brain – A Review. *Placenta* v.24 Suppl A, Trofoblast Research, 17: S65-S71, 2003.

8-APÊNDICE

Tabela 3 - Consumo de ração dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

DIAS/GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
21	2,45	1,95	1,00	0,80	1,00	0,60
35	17,62	16,00	10,89	10,20	10,90	9,50
49	20,37	19,39	13,00	12,20	13,00	12,20
63	22,51	23,50	13,50	13,70	27,32	26,67
77	26,69	27,31	16,40	16,50	25,44	26,27
91	26,63	26,20	16,30	16,00	22,53	24,04
105	28,32	29,11	17,00	17,50	28,84	25,98
120	25,00	26,20	14,60	15,80	23,64	21,37
MÉDIA	21,20	21,21	12,84	12,84	19,08	18,33
DESVIO	2,96	3,15	1,84	1,92	3,45	3,44
E.P.M.	7,01	7,45	4,35	4,55	8,16	8,13

Tabela 4 - Peso aos 120 dias de vida dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
	480	420	313	288	380	368
	492	390	313	279	382	442
Peso	456	469	322	323	371	398
aos	500	396	280	288	425	374
120	363	431	279	275	344	391
dias	494	482	290	292	416	362
(g)	467	430	285	277	413	392
	446	481	284	315	423	451
	451	398	296	291	390	405
	486	395	286	305	433	402
MÉDIA	463,5	429,2	294,8	293,3	397,7	398,5
DESVIO	40,1	36,4	15,6	16,2	28,7	29,2
E.P.M.	12,7	11,5	4,9	5,1	9,1	9,2

Tabela 5 - Evolução do peso corporal dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

DIAS/GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
1	6,90	6,30	6,30	4,60	6,30	6,30
21	52,20	46,30	33,80	27,30	31,40	29,00
35	158,90	141,90	89,10	80,90	83,50	80,20
49	264,10	2290	156,90	1430	141,70	130,40
63	351,30	318,40	225,40	191,60	216,70	210,10
77	408,80	366,50	237,10	220,60	288,40	281,10
91	448,30	394,50	260,80	247,00	345,40	345,40
105	467,70	416,90	281,10	276,20	377,10	374,80
120	463,50	429,20	294,80	293,30	397,70	398,50

Tabela 6 - Pressão arterial média dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
Pressão arterial média (mmHg)	107,86	104,13	130,34	107,62	121,08	111,99
	114,18	112,06	119,79	125,01	125,47	106,01
	106,39	106,71	122,38	125,54	121,62	113,75
	114,88	120,99	113,43	124,97	121,63	120,06
	111,66	109,64	121,16	107,90	123,75	113,93
	120,65	117,44	123,51	103,38	118,79	117,29
	112,75	122,15	113,88	115,34	114,99	117,23
	107,90	109,58	128,40	104,11	125,02	122,73
	112,65	118,70	119,44	121,67	117,16	122,45
120,58	112,19	124,19	110,53	120,31	112,86	
MÉDIA	112,95	113,36	121,65	114,61	120,98	115,83
DESVIO	4,93	6,16	5,46	9,02	3,34	5,18
E.P.M.	1,56	1,95	1,73	2,85	1,06	1,64

Tabela 7 - Frequência cardíaca dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
Frequência cardíaca (bpm)	330,76	363,21	397,02	345,00	408,27	356,74
	331,25	321,98	418,32	365,14	350,08	311,54
	427,05	348,83	422,17	364,82	378,98	346,06
	308,29	365,95	346,73	378,62	391,98	386,08
	376,58	374,33	435,07	322,42	399,94	365,84
	352,75	330,71	384,13	359,96	365,64	371,53
	347,10	351,24	337,33	367,39	350,21	389,10
	342,92	367,13	404,21	318,77	372,23	367,29
	329,47	335,13	338,85	376,95	400,56	358,95
	380,06	383,84	359,17	333,39	346,28	352,22
MÉDIA	352,62	354,24	384,30	353,25	376,42	360,54
DESVIO	34,04	20,17	36,58	21,93	23,15	22,01
E.P.M.	10,76	6,38	11,57	6,93	7,32	6,96

Tabela 8 - Largura média da base de PAM no domínio do tempo dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
Largura da Base (mmHg)	50,00	24,00	44,00	51,00	76,00	40,00
	44,00	38,00	34,00	36,00	32,00	32,00
	38,00	30,00	30,00	54,00	56,00	54,00
	36,00	32,00	50,00	36,00	40,00	72,00
	38,00	40,00	32,00	51,00	32,00	63,00
	28,00	28,00	34,00	44,00	56,00	66,00
	32,00	50,00	26,00	58,00	64,00	69,00
	42,00	40,00	34,00	48,00	74,00	38,00
	40,00	42,00	48,00	38,00	68,00	56,00
	44,00	42,00	74,00	42,00	62,00	66,00
MÉDIA	39,2	36,60	40,60	45,80	56,00	55,60
DESVIO	6,34	7,89	14,14	7,79	16,25	14,27
E.P.M.	2,00	2,50	4,47	2,46	5,14	4,51

Tabela 9 - Desvio padrão dos valores de PAM dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
Desvio padrão dos valores de PAM	12,40	5,92	11,60	14,46	19,46	12,48
	11,27	10,03	9,08	11,22	8,24	9,04
	9,65	8,76	7,87	13,89	14,90	14,72
	9,85	8,27	22,78	9,52	9,94	17,78
	10,88	10,88	8,01	13,59	12,10	16,50
	7,91	10,37	9,33	9,52	14,66	17,45
	8,94	14,43	7,54	14,82	16,78	18,18
	11,90	10,72	9,06	13,89	19,78	9,65
	11,24	11,41	13,26	10,41	17,65	16,81
	12,20	12,06	18,41	9,75	16,33	22,29
MÉDIA	10,62^a	10,29^a	11,69^{a,c}	12,11^{a,c}	14,98^{b,c}	15,49^{b,c}
DESVIO	1,48	2,30	5,11	2,21	3,86	4,09
E.P.M.	0,47	0,73	1,62	0,70	1,22	1,29

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística com $p < 0,05$ segundo o teste estatístico ANOVA/Duncan.

Tabela 10 - Largura média da base de FC no domínio do tempo dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
Largura da Base (bpm)	53,00	50,00	180,00	60,00	180,00	50,00
	50,00	50,00	180,00	80,00	168,00	50,00
	100,00	50,00	210,00	132,00	100,00	60,00
	60,00	110,00	110,00	70,00	70,00	100,00
	90,00	60,00	120,00	60,00	200,00	80,00
	40,00	40,00	170,00	110,00	40,00	60,00
	50,00	80,00	170,00	70,00	80,00	100,00
	90,00	175,00	230,00	50,00	110,00	60,00
	60,00	50,00	120,00	140,00	130,00	50,00
	70,00	30,00	80,00	60,00	60,00	80,00
MÉDIA	66,30	69,50	157,00	83,20	113,80	69,00
DESVIO	20,42	43,36	47,62	32,32	54,39	19,69
E.P.M.	6,46	13,71	15,06	10,22	17,20	6,23

Tabela 11 - Desvio padrão dos valores de FC dos valores da integral das bandas de BF e de AF individuais.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
Desvio padrão dos valores de FC	25,07	14,79	61,34	18,69	60,80	15,03
	16,36	15,60	53,09	27,08	19,05	16,33
	31,74	15,88	56,76	35,10	29,86	18,79
	20,01	33,69	34,38	24,04	25,43	35,49
	34,05	19,32	40,63	18,32	49,29	26,75
	20,29	12,99	39,89	33,79	11,14	17,48
	14,92	24,39	22,94	24,57	22,42	30,86
	23,98	46,87	56,49	14,34	35,84	19,04
	17,78	14,55	32,12	36,55	39,06	15,45
23,26	11,12	28,46	19,26	20,88	18,95	
MÉDIA	22,75^a	20,92^a	42,61^b	25,17^a	31,38^a	21,42^a
DESVIO	5,98	10,68	12,76	7,41	14,33	6,72
E.P.M.	1,80	3,22	3,84	2,23	4,32	2,03

Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística com $p < 0,05$ segundo o teste estatístico ANOVA/Duncan.

Tabela 12 - Valores da integral das bandas de BF e de AF individuais dos grupos normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados.

GRUPOS	NORM BF	NORM AF	NCAF BF	NCAF AF	DESN BF	DESN AF	DCAF BF	DCAF AF	DREC BF	DREC AF	DRECAF BF	DRECAF AF
Valores da integral	0,0060	0,0068	0,0053	0,0053	0,0066	0,0078	0,0146	0,0101	0,0156	0,0177	0,0082	0,0072
	0,0105	0,0080	0,0069	0,0052	0,0095	0,0077	0,0087	0,0077	0,0075	0,0058	0,0064	0,0118
	0,0038	0,0044	0,0075	0,0071	0,0101	0,0073	0,0123	0,0115	0,0090	0,0085	0,0141	0,0085
	0,0079	0,0059	0,0074	0,0059	0,0093	0,0123	0,0177	0,0124	0,0010	0,0007	0,0166	0,0104
	0,0071	0,0062	0,0079	0,0058	0,0094	0,0064	0,0113	0,0106	0,0076	0,0033	0,0205	0,0140
	0,0180	0,0231	0,0082	0,0055	0,0124	0,0088	0,0088	0,0071	0,0105	0,0096	0,0188	0,0134
	0,0082	0,0061	0,0101	0,0087	0,0077	0,0076	0,0120	0,0080	0,0126	0,0100	0,0156	0,0096
	0,0115	0,0102	0,0099	0,0066	0,0118	0,0086	0,0087	0,0073	0,0197	0,0157	0,0055	0,0029
	0,0128	0,0092	0,0084	0,0050	0,0093	0,0088	0,0090	0,0072	0,0194	0,0148	0,0130	0,0087
	0,0118	0,0081	0,0110	0,0084	0,0091	0,0099	0,0157	0,0112	0,0108	0,0083	0,0156	0,0232
Mediana	0,0093	0,0074	0,0080	0,0058	0,0094	0,0082	0,0117	0,0091	0,0106	0,0090	0,0148	0,0099

Tabela 13 - Razão entre as bandas de Baixa frequência e Alta frequência da análise espectral da série temporal dos intervalos entre batimentos cardíacos dos animais normonutridos, desnutridos e desnutridos recuperados no domínio da frequência.

GRUPOS	NORM	NCAF	DESN	DCAF	DREC	DRECAF
(BF/AF)	0,886095	1,013283	0,874479	1,158727	0,75469	1,535369
	1,314931	1,338491	0,982398	1,362474	0,72104	1,889596
	0,875862	1,062147	0,824615	1,288052	0,640203	2,011943
	1,350427	1,251273	1,079242	1,1594	0,930863	1,24551
	1,148148	1,367418	0,839647	1,628563	0,515576	3,158727
	0,780952	1,478261	0,528291	2,798193	0,188797	14,82114
	1,348684	1,165517	1,157155	1,007226	1,148853	0,876724
	1,127576	1,493939	0,754767	1,979339	0,381323	5,190717
	1,387622	1,695565	0,818384	2,071846	0,395002	5,24515
	1,462112	1,311005	1,11526	1,175514	0,948742	1,239024
MEDIANA	1,232	1,325	1,145	1,241	1,275	1,476

HISTOGRAMA PAM							Somatório	Normalização (%)	Média Ponderada		
PAM	Intervalo 1	Intervalo 2	Intervalo 3	Intervalo 4	Intervalo 5	Intervalo 6					
7	0	0	0	0	0	0	0	0,0	80,5		
81-82	0	0	0	0	0	0	0	0,0	81,5		
82-83	0	0	0	0	0	0	0	0,0	82,5		
83-84	0	0	0	0	0	0	0	0,0	83,5		
84-85	0	0	0	0	0	0	0	0,0	84,5		
85-86	7	0	0	0	0	0	7	0,0	85,5		
86-87	14	3	0	0	0	0	23	0,0	86,5		
87-88	32	35	0	0	0	0	67	0,0	87,5		
88-89	40	42	0	0	0	0	82	0,0	88,5		
89-90	25	61	0	0	0	0	86	0,0	89,5		
90-91	40	78	0	0	0	0	118	0,0	90,5		
91-92	82	125	0	0	0	0	207	0,0	91,5		
92-93	108	178	0	0	0	0	286	0,0	92,5		
93-94	157	213	0	0	0	26	396	0,0	93,5		
94-95	240	296	0	8	13	22	579	0,0	94,5		
95-96	415	390	0	8	26	35	874	0,0	95,5		
96-97	592	465	0	26	23	34	1140	0,0	96,5		
97-98	959	558	4	28	44	31	1624	0,0	97,5		
98-99	1753	899	50	53	56	67	2878	0,1	98,5		
99-100	2623	1056	75	89	77	99	4019	0,1	99,5		
100-101	3961	1544	74	114	119	140	5952	0,2	100,5		
101-102	5126	2001	126	125	157	195	7730	0,2	101,5		
102-103	6696	2751	170	180	156	323	10276	0,3	102,5		
103-104	8097	3967	256	265	175	346	13106	0,4	103,5		
104-105	10184	5092	309	448	284	542	16859	0,5	104,5		
105-106	11571	6374	429	749	524	655	20302	0,6	105,5		
106-107	12637	7592	781	1622	1049	917	24598	0,7	106,5		
107-108	12920	8329	1392	3007	2295	1714	29657	0,8	107,5		
108-109	14101	9925	2523	5698	4510	3725	40492	1,1	108,5		
109-110	13949	10815	4088	7956	7057	6655	50520	1,4	109,5		
110-111	14769	12038	6520	10137	9571	10134	63169	1,8	110,5		
111-112	15559	13425	9644	12698	12276	13141	77003	2,1	111,5		
112-113	14734	12959	11250	13308	12555	14866	79672	2,2	112,5		
113-114	16067	14332	14143	15102	14264	17289	91197	2,5	113,5		
114-115	15107	13614	14316	14344	13729	16206	87316	2,4	114,5		
115-116	16143	14576	15787	15246	14711	16937	93400	2,6	115,5		
116-117	16052	14773	15835	15012	14690	16423	92785	2,6	116,5		
117-118	16545	15500	16387	15349	15579	16655	96015	2,7	117,5		
118-119	16856	15752	16629	15558	16064	16704	97563	2,7	118,5		
119-120	16824	15806	16200	15304	16003	16128	96265	2,7	119,5		
120-121	16521	15550	15541	15006	15808	15768	94194	2,6	120,5		
121-122	16999	16123	15828	15514	16181	16170	96815	2,7	121,5		
122-123	16621	15593	15381	15081	15861	15662	94199	2,6	122,5		
123-124	16840	15655	15433	15167	16072	15848	95015	2,6	123,5		
124-125	17078	15607	15501	15259	15905	15871	95221	2,6	124,5		
125-126	16770	15108	14941	14885	15476	15406	92586	2,6	125,5		
126-127	17978	16035	15867	15748	16242	16409	98279	2,7	126,5		
127-128	17420	15262	15097	14995	15380	15563	93597	2,6	127,5		
128-129	18470	16144	15803	15535	16046	16460	98458	2,7	128,5		
129-130	17291	15259	14999	14717	15102	15664	93032	2,6	129,5		
130-131	17773	15635	15245	14907	15350	15935	94845	2,6	130,5		
131-132	16932	15373	14964	14589	14959	15640	92457	2,6	131,5		
132-133	16620	15360	15095	14666	15075	15847	92663	2,6	132,5		
133-134	15994	15784	15305	14960	15314	16043	93400	2,6	133,5		
134-135	14729	15751	15234	14941	15380	16154	92189	2,6	134,5		
135-136	13045	14900	14937	14698	15068	15723	88371	2,5	135,5		
136-137	11209	14458	14839	14719	15325	15690	86240	2,4	136,5		
137-138	9596	13825	15200	15081	15810	16213	85725	2,4	137,5		
138-139	7937	12843	15311	15404	15980	16350	83825	2,3	138,5		
139-140	7053	12442	16715	16799	17883	18160	89052	2,5	139,5		
140-141	5544	11492	16302	16500	17384	17782	85004	2,4	140,5		
141-142	4944	11697	18175	18442	18474	19439	91171	2,5	141,5		
142-143	3875	10375	17260	17374	16789	17434	83107	2,3	142,5		
143-144	3552	9785	17518	16746	15724	14964	78289	2,2	143,5		
144-145	2856	8626	16731	14323	13081	11563	67180	1,9	144,5		
145-146	2405	7544	14516	11678	9939	7969	54051	1,5	145,5		
146-147	1961	6118	11941	8856	7964	5039	41879	1,2	146,5		
147-148	1493	5361	8886	6676	5869	3155	31440	0,9	147,5		
148-149	1361	4564	6598	4848	4866	2136	24373	0,7	148,5		
149-150	1028	3924	5000	3756	4129	1564	19401	0,5	149,5		
150-151	813	3074	3673	2981	3313	1216	15070	0,4	150,5		
151-152	594	2534	2209	2420	2619	898	11274	0,3	151,5		
152-153	419	1936	1545	1902	2155	747	8704	0,2	152,5		
153-154	323	1379	991	1569	1723	683	6668	0,2	153,5		
154-155	335	1102	656	1361	1506	707	5667	0,2	154,5		
155-156	218	780	500	1130	1063	588	4279	0,1	155,5		
156-157	175	599	532	1073	1053	544	3976	0,1	156,5		
157-158	112	401	468	799	661	468	2909	0,1	157,5		
158-159	104	316	478	663	470	509	2540	0,1	158,5		
159-160	77	200	378	592	331	414	1992	0,1	159,5		
160-161	78	160	331	444	223	382	1618	0,0	160,5		
161-162	51	110	331	333	164	370	1359	0,0	161,5		
162-163	4	75	333	196	127	281	1016	0,0	162,5		
163-164	0	43	247	172	131	272	865	0,0	163,5		
164-165	0	21	240	108	105	220	694	0,0	164,5		
165-166	0	35	148	52	55	119	409	0,0	165,5		
166-167	0	0	109	2	55	84	250	0,0	166,5		
167-168	0	0	76	0	36	53	165	0,0	167,5		
168-169	0	0	62	0	6	14	82	0,0	168,5		
169-170	0	0	45	0	0	9	54	0,0	169,5		
170-171	0	0	25	0	0	0	25	0,0	170,5		
171-172	0	0	0	0	0	0	0	0,0	171,5		
172-173	0	0	0	0	0	0	0	0,0	172,5		
173-174	0	0	0	0	0	0	0	0,0	173,5		
174-175	0	0	0	0	0	0	0	0,0	174,5		
175-176	0	0	0	0	0	0	0	0,0	175,5		
176-177	0	0	0	0	0	0	0	0,0	176,5		
177-178	0	0	0	0	0	0	0	0,0	177,5		
178-179	0	0	0	0	0	0	0	0,0	178,5		
179-180	0	0	0	0	0	0	0	0,0	179,5		
Somatório	600183	600528	600528	600001	600209	600468	Total	3601917	Total	127,5	

L A R G U R A
D A
B A S E

Tabela 14 – Somatória e normalização da frequência de classe da amostra de PAM de um animal normonutrido.

HISTOGRAMA PAM											
PAM	NORM1	NORM2	NORM3	NORM4	NORM5	NORM6	NORM7	NORM8	NORM9	NORM10	MEDIA
80,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
81,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
82,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
83,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
84,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
85,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
86,5	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0	0,1
87,5	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,1
88,5	0,5	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,0	0,0	0,3
89,5	0,7	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	0,0	0,0	0,3
90,5	1,0	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,0	0,0	0,4
91,5	1,2	0,0	1,2	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,5	0,0	0,5
92,5	1,5	0,9	1,2	0,0	0,9	0,0	0,0	2,2	0,7	0,0	0,7
93,5	1,8	1,4	1,4	0,0	1,1	0,0	0,0	2,3	1,0	0,0	0,9
94,5	1,9	0,9	1,5	0,0	1,3	0,0	0,0	2,4	1,2	0,0	0,9
95,5	2,2	1,5	1,8	0,0	1,6	0,0	0,0	2,4	1,6	0,0	1,1
96,5	2,2	1,6	2,0	0,0	1,9	0,0	0,8	2,5	1,9	0,0	1,3
97,5	2,4	1,4	2,2	0,0	2,1	0,0	1,2	2,5	2,1	0,0	1,4
98,5	2,5	1,4	2,5	1,2	2,2	0,0	1,7	2,6	2,5	0,0	1,6
99,5	2,6	1,5	2,6	1,4	2,3	0,0	2,0	2,6	2,6	0,0	1,8
100,5	2,6	1,6	3,2	1,7	2,4	0,0	2,6	2,7	2,9	0,7	2,0
101,5	2,8	1,7	3,4	1,8	2,6	0,0	2,8	2,8	2,9	0,8	2,2
102,5	2,9	1,9	3,9	2,1	2,7	0,0	3,0	2,6	3,0	1,1	2,3
103,5	3,1	2,0	3,7	2,4	2,9	0,0	3,1	2,9	3,0	1,3	2,4
104,5	3,2	2,2	3,9	2,4	2,8	0,0	3,2	2,7	3,0	1,5	2,5
105,5	3,4	2,6	3,7	2,7	3,0	0,0	3,4	2,8	3,0	1,7	2,6
106,5	3,5	2,8	3,5	2,7	3,1	0,0	3,4	2,8	3,0	1,9	2,7
107,5	3,5	2,7	3,5	2,9	3,2	0,9	3,3	2,8	2,9	2,0	2,8
108,5	3,8	2,9	3,4	3,0	3,3	1,3	3,5	2,7	3,0	2,2	2,9
109,5	3,4	2,4	3,2	3,1	3,4	1,8	3,5	2,7	2,9	2,3	2,9
110,5	3,6	3,0	3,4	3,1	3,3	2,4	3,6	2,6	3,0	2,5	3,0
111,5	3,1	2,9	3,3	3,2	3,5	2,8	3,8	2,7	3,1	2,6	3,1
112,5	3,0	3,0	3,2	3,2	3,4	3,3	3,6	2,6	2,9	2,5	3,1
113,5	2,7	3,0	3,4	3,4	3,5	3,3	4,0	2,4	3,1	2,7	3,1
114,5	2,4	3,3	3,1	3,4	3,5	3,9	3,8	2,6	2,8	2,6	3,1
115,5	2,2	3,9	3,4	3,4	3,4	3,8	4,0	2,4	3,0	2,7	3,2
116,5	2,1	3,8	3,0	3,6	3,7	4,2	4,0	2,6	2,9	2,7	3,3
117,5	1,9	3,5	3,1	3,5	3,4	4,3	4,2	2,5	2,9	2,7	3,2
118,5	1,9	3,4	2,9	3,8	3,5	4,6	4,2	2,6	2,9	2,8	3,3
119,5	1,8	3,6	2,6	3,7	3,3	4,9	3,9	2,6	2,7	2,7	3,2
120,5	1,7	3,4	2,4	3,9	3,1	5,0	3,5	2,5	2,6	2,7	3,1
121,5	1,7	3,2	2,0	3,5	2,8	4,9	3,2	2,3	2,6	2,8	2,9
122,5	1,6	2,7	1,7	3,5	2,5	5,3	2,8	2,1	2,5	2,7	2,7
123,5	1,6	2,7	1,3	3,2	2,1	5,3	2,4	1,8	2,4	2,7	2,6
124,5	1,4	2,2	1,0	3,0	1,7	5,3	2,1	1,6	2,3	2,8	2,3
125,5	1,4	2,3	0,7	2,8	1,5	5,1	1,7	1,3	2,1	2,7	2,2
126,5	1,3	2,2	0,5	2,5	1,3	4,6	1,4	1,1	2,0	2,9	2,0
127,5	1,2	2,0	0,0	2,2	1,1	4,3	1,0	1,0	1,7	2,8	1,7
128,5	1,2	1,8	0,0	2,0	0,9	3,3	0,8	0,8	1,5	3,0	1,5
129,5	1,0	1,5	0,0	1,6	0,8	2,7	0,0	0,0	1,1	2,9	1,2
130,5	0,9	1,4	0,0	1,4	0,6	2,1	0,0	0,0	0,9	3,0	1,0
131,5	0,8	1,2	0,0	1,2	0,0	1,7	0,0	0,0	0,7	2,9	0,9
132,5	0,7	0,9	0,0	1,0	0,0	1,4	0,0	0,0	0,0	2,8	0,7
133,5	0,7	0,8	0,0	0,9	0,0	1,1	0,0	0,0	0,0	2,7	0,6
134,5	0,0	0,5	0,0	0,7	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	2,4	0,4
135,5	0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,0	2,1	0,3
136,5	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,8	0,2
137,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,2
138,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,1
139,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	0,1
140,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	0,1
141,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,1
142,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	0,1
143,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,1
144,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,1
145,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
146,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
147,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
148,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
149,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
150,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
151,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
152,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
153,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
154,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
155,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
156,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
157,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
158,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
159,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
160,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
161,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
162,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
163,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
164,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
165,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
166,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
167,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
168,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
169,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
170,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
171,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
172,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
173,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
174,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
175,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
176,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
177,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
178,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
179,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 15 – Média da frequência de classe dos valores de PAM do grupo normonutrido.