

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

NATHALIA CAROLINE DE OLIVEIRA MELO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA AGUDA E EFICÁCIA
FARMACOLÓGICA DA NIMESULIDA NA PROLE DE RATAS
ALIMENTADAS COM DIETA OCIDENTALIZADA**

RECIFE – PE

2018

NATHALIA CAROLINE DE OLIVEIRA MELO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA AGUDA E EFICÁCIA
FARMACOLÓGICA DA NIMESULIDA NA PROLE DE RATAS
ALIMENTADAS COM DIETA OCIDENTALIZADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Área de concentração de Bases Experimentais da Nutrição.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Elizabeth do Nascimento

Co-orientadora (a): Prof^a Dr^a M^a Bernadete de Souza Maia

RECIFE – PE

2018

Catálogo na Fonte Bibliotecária:
Mônica Uchôa, CRB4-1010

M528r Melo, Nathalia Caroline de Oliveira.

Avaliação da resposta inflamatória aguda e eficácia farmacológica da nimesulida na prole de ratas alimentadas com dieta ocidentalizada / Nathalia Caroline de Oliveira Melo.– 2018.

95 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Elizabeth do Nascimento.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2018.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2018-272)

NATHALIA CAROLINE DE OLIVEIRA MELO

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA AGUDA E EFICÁCIA
FARMACOLÓGICA DA NIMESULIDA NA PROLE DE RATAS ALIMENTADAS COM
DIETA OCIDENTALIZADA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Área de concentração de Bases Experimentais da Nutrição.

Dissertação aprovada em 27/02/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Geórgia de Souza Ferreira Soares (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dr^a Maria Goretti Pessoa de Araújo Burgos (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a Dr^a Denise Sandrelly Cavalcanti de Lima (Examinador Externo)
Dpto. de Nutrição do Hospital das Clínicas de Pernambuco/UFPE

Dedico este trabalho ao meu filho, Gregório, razão de toda a entrega em meus projetos de vida e que a cada dia me motiva a ser uma pessoa e profissional melhor.

AGRADECIMENTOS

Por meio deste registro, venho mais uma vez agradecer ao meu marido, Marlo. Através de seu companheirismo e incentivo me fez adentrar na área científica, me fazendo descobrir um novo amor (pela ciência) e nova meta de vida profissional. Agradeço não só por sua torcida, mas por todo o suporte e compreensão dados durante o desenvolvimento desse trabalho, ao abdicar de alguns momentos em família, ao tolerar minhas ausências e reclamações, ir comigo a UFPE durante os finais de semana e a noite e, principalmente, por cuidar tão bem do nosso filho... Sem você isso não seria possível!

Aos meus familiares (mãe, pai e irmão), não tenho palavras que expressem o quanto sou grata por todo apoio ao longo desses 28 anos. Vocês sempre acreditaram em mim e estiveram comigo comemorando minhas vitórias ou me acalentando nas derrotas. Obrigada por nunca desistirem de mim... Agradeço também não só por estarem ao meu lado, mas por tornar possível a realização de mais um sonho ao poder me auxiliar no cuidado com Gregório. Sem esse suporte talvez esse sonho não pudesse ter sido realizado... Amo vocês.

Venho agradecer também a minha segunda família (sogra, sogro e cunhada). Sempre que precisei vocês estavam prontos pra me apoiar. O acolhimento que tive desde o primeiro momento que entrei na vida de vocês se perpetua até hoje. A gratidão que sinto não dá para expressar em palavras, já que não há como agradecer por toda “marmitta” trazida para casa, já que não tinha tempo de cozinhar; por todo tempo dedicado ao neto de vocês, ao pegá-lo na escola, leva-lo pra passear ou viajar, para que eu pudesse estudar. Então, digo e repito sempre: sem vocês essa realização não seria possível.

À minha querida orientadora, prof^a Beth, só tenho a agradecer... Não há como descrever todo apoio, ensinamento e incentivo dados. Apreendi nesses dois anos que ter orientandos não é fácil, mas a senhora sabe fazer isso muito bem. Sempre presente e disposta a ajudar. Espero trilhar um longo caminho ao seu lado e lhe proporcionar muitos momentos de alegria!

Um agradecimento especial vai para minha parceira e xará, Nathalia Cavalcanti. Agora, ao final, não imagino como seriam esses dois anos sem sua

parceria. Nosso companheirismo e apoio foram fundamentais pra que tudo desse certo. Muito obrigada por sempre me ouvir e me ajudar. Nossa amizade foi concretizada e espero que assim permaneça.

Minha IC tão maravilhosa, Alexandra, que esteve comigo em muitos momentos e que me ajudou em tudo que precisei. Muito obrigada! Você foi um suporte essencial para execução desse trabalho, além de ter conquistado todo o meu carinho. Sempre dedicada, disposta a aprender e a fazer as atribuições dadas... Só tenho coisas boas a te desejar e conte comigo sempre.

Aos meus amigos (de escola, de faculdade, da nutrição, da vida) que sempre entenderam minhas ausências e me fizeram sentir acarinhada em todos os momentos, com cada ligação ou mensagem de apoio. Saber que tenho vocês, me faz seguir em frente muito mais forte.

Agradeço também a todos os profissionais envolvidos nessa conquista, desde os funcionários do biotério aos professores (Gisélia Santana, Goretti Burgos) que eu incomodei pedindo conselhos, orientações ou materiais. Ao meu grupo de pesquisa tão querido, onde cada um com o seu jeito soube orientar, dar conselhos e críticas importantes para melhorar meu trabalho. Muito bom estar e aprender com vocês.

Por fim, agradeço a Proex-Capes pelo suporte financeiro, possibilitando à aquisição de insumos necessários a execução do presente estudo.

RESUMO

Uma inadequação alimentar e nutricional materna desde o período pré-gestacional e perpetuada durante a gestação e lactação, exerce importante influência sobre o estado de saúde do concepto, levando a uma predisposição a ocorrência de processos inflamatórios. Com intuito de amenizar o desequilíbrio entre mediadores anti e pró-inflamatórios, na prática clínica, é comumente prescrito o uso de anti-inflamatórios não esteroides, dos quais se destaca a Nimesulida. Dessa forma, o estudo tem por objetivo avaliar o impacto da dieta ocidentalizada ingerida por ratas sobre a intensidade da resposta inflamatória aguda e eficácia farmacológica da Nimesulida em seus filhotes. 18 ratas da linhagem *Wistar* foram aleatoriamente divididas em 3 grupos conforme tratamento dietético (grupo controle, com ração comercial por todo período; grupo ocidental gestação, com ração experimental do pré-gestacional ao nascimento; grupo ocidental gestação/lactação, com ração experimental do pré-gestacional ao desmame) e destas, 36 filhotes (n=12/grupo) foram avaliados. Foram analisados: evolução ponderal, consumo alimentar, glicemia de jejum, severidade da resposta inflamatória aguda, percentual de inibição da Nimesulida, parâmetros bioquímicos, histologia hepática, níveis de interleucina – 6, fator de necrose tumoral alfa e atividade da mieloperoxidase. Para análise estatística foram utilizados os testes de variância (Anova *one-way* e *two-way*), seguidos do pós-teste de Tukey e Bonferroni, respectivamente, e considerado o $p < 0,05$. Matrizes do grupo ocidentalizado apresentaram peso e glicemia de jejum mais elevados ($p < 0,01$). Contudo, ao avaliar o consumo alimentar, as mesmas apresentaram menor ingestão de ração/semana ($p < 0,01$). As diferenças entre o tipo de ração consumida, a quantidade de ração ingerida e o peso corporal das ratas não refletiram nos filhotes ao nascimento e ao desmame. Entretanto, aos 60 dias de vida maior peso pôde ser observado nos descendentes dos grupos ocidentalizados ($p < 0,05$) e, para os filhotes expostos à ração ocidental até o desmame, maior adiposidade corporal e consumo alimentar também foram encontrados ($p < 0,05$). Quanto à severidade da resposta inflamatória aguda, para os grupos não tratados não houve diferença ($p > 0,05$) e, para todos os grupos tratados com Nimesulida, menor volume do edema de pata foi verificado ($p < 0,05$). Nos descendentes expostos a dieta ocidental, tanto na gestação como na gestação e lactação, foram observados maior percentual de inibição da Nimesulida, elevada contagem de leucócitos totais, interleucina 6, fator

de necrose tumoral alfa e atividade da mieloperoxidase ($p < 0,05$). Para os filhotes oriundos de mães alimentadas com dieta ocidental desde o pré-gestacional até o desmame também foi verificado maior infiltrado lipídico e leucocitário a nível hepático, sugerindo que o consumo materno de ração ocidentalizada desde o período pré-gestacional e continuada durante a gestação e lactação exerce importante influência na expressão do perfil metabólico da prole na vida mais tardia. A adoção de uma dieta ocidentalizada por ratas em idade reprodutiva e continuada durante os períodos de gestação e lactação leva a alterações antropométricas e metabólicas, com recrutamento adicional de citocinas inflamatórias e leucocitose em seus descendentes. Entretanto, não interfere na ação farmacológica da Nimesulida no tratamento de seus filhos aos 60 dias de vida.

Palavras-chave: Dieta ocidental. Inflamação. Obesidade.

ABSTRACT

A maternal nutritional and nutritional inadequacy from the pre-gestational period and perpetuated during gestation and lactation, exerts an important influence on the health status of the concept, leading to a predisposition to the occurrence of inflammatory processes. In order to ameliorate the imbalance between anti and pro-inflammatory mediators, in clinical practice, the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs is commonly prescribed, of which Nimesulide. To evaluate the impact of westernized diet ingested by rats on the intensity of acute inflammatory response and pharmacological efficacy of Nimesulide in their offspring. 18 *Wistar* rats were randomly divided into 3 groups according to dietary treatment (control group, with commercial ration for all periods, western gestation group, experimental pre-gestational ration at birth, western gestation / lactation group, experimental ration from pre-gestational to weaning) and of these, 36 pups (n=12/group) were evaluated. The following variables were analyzed: weight evolution, food intake, fasting blood glucose, severity of acute inflammatory response, percentage of inhibition of Nimesulide, biochemical parameters, liver histology, interleukin - 6 levels, tumor necrosis factor alpha and myeloperoxidase activity. For the statistical analysis, the one-way and two-way ANOVA tests were used, followed by Tukey and Bonferroni post-test, respectively, and $p < 0,05$. Westernized matrices showed higher weight and fasting glycemia ($p < 0,01$). However, when evaluating food consumption, they had lower feed intake per week ($p < 0,01$). The differences between the type of feed consumed, the amount of feed consumed and the body weight of the rats did not reflect on the pups at birth and at weaning. However, at 60 days of age, higher weight could be observed in the offspring of westernized groups ($p < 0,05$), and for pups exposed to western ration until weaning, greater body fat and food intake were also found ($p < 0,05$). As for the severity of the acute inflammatory response, there was no difference ($p > 0,05$) for the untreated groups, and for all groups treated with Nimesulide, the lowest volume of paw edema was verified ($p < 0,05$). A higher percentage of Nimesulide inhibition, high total leukocyte count, interleukin 6, tumor necrosis factor alpha and myeloperoxidase activity ($p < 0,05$) were observed in the offspring exposed to the western diet, both in gestation and gestation and lactation. For the offspring born from mothers fed from the pre-gestational diet to the time of

weaning, a greater lipid and leukocyte infiltration was also observed at the hepatic level, suggesting that the maternal consumption of Westernized ration from pre-gestational period and continued during gestation and lactation exerts an important influence on the expression of the metabolic profile of offspring in later life. Adoption of a westernized diet by rats of reproductive and continuing age during gestation and lactation leads to anthropometric and metabolic changes, with additional recruitment of inflammatory cytokines and leukocytosis in their offspring. However, it does not interfere with the pharmacological action of Nimesulide in the treatment of its children at 60 days of age

Keywords: Inflammation. Obesity. Western diet.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Modelo para regulação da inflamação induzida pela obesidade e resistência à insulina mediada por células natural killer	28
Figura 2 – Esquema de formação da COX-1 e COX-2 após lesão da membrana celular	33
Figura 3 – Estrutura molecular da Nimesulida	35
Figura 4 – Desenho experimental da distribuição das matrizes e seus respectivos filhotes	40
Figura 5 – Ingestão alimentar das matrizes durante o período pré-gestacional.....	47
Figura 6 – Glicemia de jejum das matrizes durante o período pré-gestacional, aos 30, 60, 90 e 120 dias de vida	48
Figura 7 – Consumo alimentar (A) e evolução ponderal (B) das matrizes de acordo com a semana gestacional	49
Figura 8 – Glicemia de jejum das matrizes de acordo com a semana gestacional.	49
Figura 9 – Avaliação ponderal dos filhotes ao nascimento, ao desmame e aos 60 dias de vida	51
Figura 10 – Consumo alimentar dos filhotes, do 22º ao 60º dia de vida	52
Figura 11 – Comparação entre grupos do efeito da Nimesulida (10mg/kg) sobre o edema de pata induzido no GCf (A), GOgf (B) e GOglf (C), aos 60 dias de vida	54
Figura 12 – Fotomicrografias do fígado de um filhote do GCf (A), GOgf (B) e GOglf (C), aos 60 dias de vida	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição centesimal dos macronutrientes das rações ofertadas às matrizes do grupo controle e grupo ocidental, do período pré-gestacional até o desmame	40
Tabela 2 – Composição centesimal da ração experimental ocidentalizada de crescimento (g/100g de ração)	41
Tabela 3 – Glicemia de jejum, peso corporal e consumo alimentar das matrizes durante a 1º, 2º e 3º semana de lactação.....	50
Tabela 4 – Média do volume (mL) de pata dos grupos GCf, GOgf, GOglf, com edema de pata induzido por injeção de carragenina na região subplantar (0,1mL), aos 60 dias de vida	53
Tabela 5 – IL-6, TNF alfa e MPO no homogenato da região subplantar dos animais não tratados e tratados com Nimesulida, após 240 minutos da aplicação de carragenina (0,1mL)	55
Tabela 6 – Parâmetros bioquímicos dos animais não tratados e tratados com Nimesulida, aos 60 dias de vida	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A-FABP – Ácidos graxos dos adipócitos ligados à proteína
AGL – Ácidos graxos livres
AGT- Ácido graxo trans
AIN-93G – American Institute of Nutrition Rodent Diet – 93 (Grow)
AINE – Anti-inflamatório não esteroide
ALT – Alanina aminotransferase
ASP – Proteína estimuladora de acilação
AST – Aspartato aminotransferase
ATMs – Macrófagos do tecido adiposo
CB – Centro de biociências
CCL2 – Quimiocina ligante 2
CCS – Centro de ciências da saúde
CEA – Coeficiente de eficiência alimentar
CONSEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX – Ciclooxigenase
CYP - Citocromo
DNA – Ácido desoxirribonucleico
GC – Matrizes do grupo controle
GCf – Filhotes do grupo controle
GO – Matrizes do grupo ocidentalizado
GOg – Matrizes do grupo ocidentalizado gestação
GOgf – Filhotes do grupo ocidentalizado gestação
GOgl – Matrizes do grupo ocidentalizado gestação/lactação
GOglf – Filhotes do grupo ocidentalizado gestação/lactação
H&E – Hematoxilina e Eosina
HTAB – Hexadeciltrimetilamonio
IL – Interleucina
ILCs – Células linfoides inatas
IMC – Índice de massa corporal
iNKT – Invariant natural killer T

JNK – c-jun N-terminal quinase

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

LEAAL – Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos

MCP-1 – Proteína monócito quimioatraente

MPO – Mieloperoxidase

N - Nimesulida

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotidio fosfato reduzida

NCR-1 – Receptor 1 de ativação de citotoxicidade natural

NK – Natural killer

PAI-1 – Ativador de plasminogênio tipo 1

PCR – Proteína c reativa

PPAR- γ – Proliferador de peroxissoma γ

PVAT – Tecido adiposo perivascular

TAS – Tecido adiposo subcutâneo

TAV – Tecido adiposo visceral

TLR- Receptor Toll Like

TNFR – Receptor de TNF alfa na membrana celular

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1	Excesso de peso: conceitos, epidemiologia, caracterização do problema e repercussões	20
2.2	Tecido adiposo: marcadores inflamatórios e mecanismos de ação.....	24
2.3	Eventos vasculares envolvidos na resposta inflamatória atrelada à obesidade.....	29
2.4	Nimesulida	34
3	HIPÓTESE	37
4	OBJETIVO	38
4.1	Geral.....	38
4.2	Específico.....	38
5	METODOLOGIA.....	39
5.1	Animais, dieta e habitação.....	39
5.2	Determinação do consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar.....	41
5.3	Determinação da evolução ponderal.....	42
5.4	Determinação da glicemia de jejum.....	42
5.5	Avaliação da fase aguda da resposta inflamatória na prole de ratas <i>Wistar</i> alimentadas com dieta ocidentalizada.....	42
5.5.1	Dosagem de IL-6 e TNF-α em homogenato da região subplantar.....	44
5.5.2	Atividade da mieloperoxidase no homogenato da região subplantar.....	44
5.6	<i>Avaliações post mortem</i>.....	45
5.6.1	Determinação da circunferência abdominal e do índice de massa corporal.....	45
5.6.2	Determinação do perfil bioquímico e hematológico.....	45
5.6.3	Avaliação do peso úmido de órgãos e gordura abdominal.....	45
5.6.4	Histologia hepática	45
5.7	Análise estatística.....	46
6	RESULTADOS.....	47

6.1	Matrizes.....	47
6.1.1	Evolução ponderal, glicemia de jejum e consumo alimentar.....	47
6.1.1.1	<i>Período pré-gestacional.....</i>	47
6.1.1.2	<i>Gestação.....</i>	48
6.1.1.3	<i>Lactação.....</i>	50
6.2	Prole	51
6.2.1	Antropometria e consumo alimentar.....	51
6.2.2	Severidade da resposta inflamatória aguda.....	52
6.2.3	Dosagem de IL-6, TNF- α e mieloperoxidase no homogenato da região subplantar.....	54
6.2.4	<i>Avaliações post mortem.....</i>	55
6.2.4.1	<i>Peso úmido de órgãos.....</i>	55
6.2.4.2	<i>Parâmetros bioquímicos.....</i>	56
6.2.4.3	<i>Histologia hepática.....</i>	57
7	DISCUSSÃO.....	59
8	CONCLUSÃO.....	66
	REFERÊNCIAS	67
	ANEXO A – Parecer da comissão de ética no uso animal da UFPE	95

1 INTRODUÇÃO

O padrão alimentar ocidental, popularmente conhecido pelo consumo da dieta ocidentalizada e, frequentemente adotado por países desenvolvidos ou em desenvolvimento, consiste no consumo excessivo de gorduras saturadas e carboidratos refinados, caracterizado pela elevada ingestão de *fast foods*, carnes vermelhas, derivados lácteos integrais e bebidas com elevado teor de açúcares simples; além de, normalmente, limitar a ingestão de alimentos fonte de vitaminas, minerais e fibras, essenciais à manutenção da saúde (NAZNI, 2014; COELHO et al., 2015).

No Brasil, mudanças vêm ocorrendo desde as últimas décadas, onde se tem notado a adoção do padrão alimentar ocidental, de forma simultânea com a maior disponibilidade de alimentos processados, que se elevou em 400% nas últimas décadas (BEZERRA et al., 2014).

Igualmente, tem sido demonstrado que 15,5% dos brasileiros substituem frequentemente uma refeição principal (almoço ou jantar) por lanches rápidos, compostos por alto consumo de leite integral (51,5%), gordura (31%), doces (20,1%), refrigerantes (19%) e sal (14%) (VIGITEL, 2013; VIGITEL, 2015), correspondendo a um padrão alimentar onde cerca de 40% do total de energia consumida está sob forma de lipídios, em sua maioria, triglicerídeos e fosfolipídios (NASCIMENTO et al., 2009).

Estudos reforçam que o padrão alimentar, principalmente quando relacionado à dieta ocidentalizada, influencia no metabolismo e na composição corporal (FERRO-CAVALCANTE et al., 2014), tendo repercussões sobre o desenvolvimento da aterosclerose (MARTINS e SILVA; SALDANHA, 2007), processos pró-inflamatórios, pró-trombóticos (TAHERIPOUR et al., 2014) e, conseqüentemente, maior risco de doença cardiovascular (TAIN et al., 2015).

Concomitantemente, alterações nutricionais iniciadas durante o período pré-gestacional e que persistem até o período pós natal, podem levar a uma população de descendentes com desordens metabólicas associadas a um expressivo aumento nas prevalências de sobrepeso e obesidade, evidenciando que a população brasileira está em processo de transição alimentar e nutricional, tal como tem sido observado em diversos outros países (FÁVARO et al., 2015).

A obesidade é uma doença metabólica crônica que atinge pessoas de todas as idades e classes sociais (ECKEL et al., 2002; WHO, 2003; WONG et al., 2004), caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal (ABEP, 2011), constituindo grave fator de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (hipertensão, diabetes e câncer, entre outros), que em conjunto respondem por 72% dos óbitos no Brasil (Ministério da Saúde, 2015).

O local armazenador da gordura corporal, o tecido adiposo, exerce importante função endócrina (BULLO et al., 2003) que pode conduzir o indivíduo a um estado subclínico de inflamação crônica (SIRIWARDHANA et al., 2013) devido a liberação de diversos compostos proteicos, como a leptina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e adiponectina (AHIMA & REXFORD, 2006), que possuem características anti e pró-inflamatórias (NASCIMENTO; RIBEIRO; OYAMA, 2009) que estão envolvidas na resposta inflamatória atrelada à obesidade e suas comorbidades. Diante de um quadro inflamatório, que pode ser potencializado pela obesidade, fármacos anti-inflamatórios são prescritos na terapêutica para amenizar o desequilíbrio entre mediadores pró e anti-inflamatórios, sendo a Nimesulida o mais comumente utilizado.

A Nimesulida é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) que possui propriedades analgésicas e antitérmicas (ZHUOPING et al., 2014), sendo extensamente comercializada em formas farmacêuticas orais (comprimidos e suspensões). Contudo, pouco ainda é conhecido sobre como a dieta pode influenciar na resposta a esse fármaco que é amplamente utilizado pela população. Menos estudado ainda é como essa resposta pode ocorrer em descendentes cujas mães se alimentam com dieta típica da sociedade ocidental em que vivemos.

Neste contexto, o estudo tem o objetivo de investigar os efeitos do consumo da dieta ocidentalizada pela mãe, desde o período pré-gestacional até o desmame, sobre o desenvolvimento da resposta inflamatória aguda em seus filhos e, conhecer a eficácia farmacológica da Nimesulida em descendentes de ratas alimentadas com dieta “ocidentalizada”, desde antes do período de concepção e nos períodos críticos de desenvolvimento de seus filhotes.

Igualmente, vislumbra-se melhor compreensão acerca do tema para futura construção de estratégias terapêuticas e articulação de políticas públicas, que

objetivem qualificar o sistema de saúde, dando mais atenção à alimentação materna nos períodos da gestação e lactação, que podem ser cruciais tanto no processo saúde-doença, quanto na eficácia do tratamento farmacológico de seus descendentes submetidos a fármacos como a Nimesulida.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Excesso de peso: conceitos, epidemiologia, caracterização do problema e repercussões

A obesidade é uma patologia progressiva e multifatorial, caracterizada por expansão excessiva de tecido adiposo branco (ROSEN; SPIEGELMAN, 2014), que reflete um desequilíbrio entre a necessidade e a ingestão energética (NASCIMENTO; RIBEIRO; OYAMA, 2009), onde o excesso de tecido adiposo e sua associação com o processo saúde-doença, bem como o custo econômico de suas repercussões, levou a obesidade a ser incluída no grupo das doenças crônicas não transmissíveis (WHO, 2013).

O excesso de gordura corporal configura, também, um importante fator de risco para doenças cardiovasculares, renais, diabetes mellitus tipo 2, alguns tipos de câncer e doenças músculo-esqueléticas, assim como redução da capacidade funcional, da qualidade e expectativa de vida, além do aumento da mortalidade (GRAY et al., 2012).

Hábitos individuais influenciam no equilíbrio entre a necessidade energética e a ingestão alimentar, os quais se relacionam com a frequência de ingestão das refeições, o tamanho das porções e a escolha dos alimentos (WINKVIST et al., 2015). Dessa forma, um padrão alimentar ocidentalizado, caracterizado pelo consumo calórico derivado predominantemente de alimentos processados, com alta densidade energética e elevados teores de lipídios e carboidratos simples, repercute no aumento do estresse oxidativo e inflamação por estar relacionado à transcrição de mediadores inflamatórios (AROOR et al., 2017). Igualmente, possui relação com alterações metabólicas, distribuição e composição corporal, contribuindo para a elevação de casos de excesso de peso (sobrepeso/ obesidade) em nível mundial (STUPECKA et al., 2016).

A alta disponibilidade e aquisição de alimentos considerados palatáveis se relacionam a elevada ingestão de açúcares refinados, sódio, aditivos e conservantes alimentares, bem como de ácidos graxos saturados e trans. As concentrações desses ácidos graxos, suas características químicas e a quantidade ingerida

determinam seu efeito sobre a concentração plasmática de colesterol e sua distribuição nas lipoproteínas de baixa densidade (Low Density Lipoprotein – LDL), que, quando em excesso no sangue, são consideradas fatores de risco para as doenças cardiovasculares (SANTOS et al., 2013).

Dentre os carboidratos acrescidos aos alimentos industrializados destaca-se a frutose sintética. Esta, por sua vez, vem sendo adicionada às formulações por ser um edulcorante substituto para a glicose ou sacarose na preparação de sobremesas, condimentos e bebidas carbonatadas (ELLIOTT et al., 2002; BARREIROS, BOSSOLAN e TRINDADE, 2005).

No entanto, estudos experimentais observaram que o consumo de frutose sintética em excesso tem relação com a resistência à insulina, dislipidemias, aumento da massa gorda abdominal (CIOFFI et al., 2017; ZUBIRIA et al., 2017), alterações na secreção de adipocinas (ZUBIRIA et al., 2016), aumento da lipogênese hepática (SAMUEL, 2011) e espessamento da camada média da artéria mesentérica, indicando remodelação vascular (TZIOMALOS et al., 2010). Adicionalmente encontra-se envolvida na diminuição do óxido nítrico, favorecendo reações de estresse oxidativo e processos inflamatórios (PANCHAL et al., 2011; MANEESAI et al., 2016).

O excesso de peso e a obesidade afetam 641 milhões de adultos, o que representa 13% da população mundial adulta e pode chegar a até 20% em 2025 (EZZATI, 2016). Neste mesmo período, no Brasil, aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões obesos (ABESO, 2012), atingindo 18% dos homens e ultrapassando 21% das mulheres (EZZATI, 2016).

Dados nacionais apontam que nos últimos 10 anos a frequência de excesso de peso aumentou 26%, onde 54% da população se encontra acima do peso e 19% está obesa (VIGITEL, 2016). Quando avaliada a prevalência do binômio sobrepeso/obesidade por faixa etária, escolaridade e sexo, evidencia-se maior ocorrência em indivíduos entre 45 e 64 anos (62,4%), naqueles com baixa escolaridade (59,2%) e nos homens (57,7%) (VIGITEL, 2016). Ao se analisar o excesso de peso por regiões brasileiras, observa-se que o Nordeste, com 44,5%, ocupa o último lugar (ABESO, 2017).

Um levantamento realizado pelo Ministério da Saúde (VIGITEL, 2015) observou que 45,9% das mulheres apresentam índice de massa corporal igual ou superior a 25kg/m², semelhante ao achado por Tenenbaum-Gavish & Hod (2013), que observaram que nos últimos 25 anos houve aumento da prevalência de sobrepeso / obesidade nas mulheres em idade fértil, principalmente nas que residem em países com renda média ou alta (OGDEN et al., 2014).

Dessa forma, o *status* ponderal pré-gestacional de sobrepeso ou obesidade, que pode ou não estar associado a um ganho de peso excessivo durante a gestação, compõe um determinante independente para o desenvolvimento de comorbidades como o diabetes e a hipertensão gestacional (SHIN; LEE; SONG, 2016). Estes relatos corroboram com as evidências de que uma inadequação do estado antropométrico materno, seja no período pré-gestacional, gestacional ou lactacional, exerce importante influência sobre o estado de saúde do conceito (PADILHA et al., 2009; PENFOLD & OZANNE, 2015; McCURDY et al., 2016).

Durante a gestação dietas maternas ricas em gordura podem prover um rápido crescimento do feto, particularmente relacionado à terceira semana gestacional. Estudos utilizando modelos de nutrição materna alterada e insuficiência uteroplacentária sugerem que o ambiente gestacional influencia o fenótipo pós-natal por meio de alterações epigenéticas *in utero* envolvidas nas modificações covalentes das histonas e na metilação do DNA (SUTER et al., 2011). Igualmente, provê mudanças na atividade de peptídeos neurais, que parecem persistir nos seus descendentes com consequências severas em longo prazo sobre os processos de memória e aprendizagem (MIELKE et al., 2006; ASHINO et al., 2012).

Estudos em modelos animais mostraram que alterações nutricionais durante a gravidez e no período pós-natal precoce predis põem os filhotes a desenvolverem desordens metabólicas (McCURDY et al., 2009; RAMONIENÉ et al., 2017). Logo, mães que consomem uma dieta com o perfil ocidentalizado podem favorecer o aparecimento, em seus descendentes, de fatores como aumento de peso, de adiposidade e da concentração de leptina (SUN et al., 2012). Ao mesmo tempo, predis põe a uma menor tolerância à glicose durante o desmame (CATALANO et al., 2009), alterações na expressão de genes, programação epigenética (CLAYCOMBE; BRISSETTE; GHRIBI, 2015) e formação prejudicada do sistema imunológico,

favorecendo a ocorrência de processos inflamatórios (LEIBOWITZ et al., 2012; SASAKI et al., 2014),

Em adição, esta dieta eleva os níveis circulantes de combustíveis metabólicos que podem levar a alterações na bioenergética cardíaca, resultando em uma cardiomiopatia diabética (LOPASCHUCK et al., 2010; UPADHYAYA et al., 2017) e o risco de desenvolvimento de patologias a nível do sistema nervoso central (GUILLEMOT-LEGRIS et al., 2016).

A influência da dieta materna sobre a vulnerabilidade à processos inflamatórios na prole parece ocorrer na vida intrauterina por mecanismos ainda pouco explorados. No entanto, alguns pesquisadores têm investigado a hipótese da lipotoxicidade placentária. Evidências experimentais apontam que o excesso de ácidos graxos saturados da dieta ocidentalizada incitam repostas inflamatórias através de ligações com o receptor Toll-Like, dando início às cascatas de regulação para transcrição de citocinas inflamatórias [Interleucinas 1, 6 e 8 (IL-1, IL-6, IL-8) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)] (SABEN et al., 2013).

Esse estresse nutricional promove alterações adaptativas de sobrevivência por meio da programação metabólica (ALBUQUERQUE et al., 2006), fenômeno caracterizado por alterações que ocorrem durante o período crítico de desenvolvimento e que produz repercussões persistentes na expressão do fenótipo metabólico dos descendentes (SUN; PURCELL; TERRILLION; YAN, 2012.; ALFARADHI et al., 2016).

Além da gestação, o período lactacional é de extrema importância para o crescimento e desenvolvimento. Em humanos, está relacionado à construção de preferências alimentares e formação do sistema imune (TINOCO et al., 2007) e, em roedores, à elevada taxa de neurogênese, sinaptogênese e morfologia celular (MORGANE et al., 1993), correspondendo ao período de maior vulnerabilidade do sistema nervoso a insultos ambientais.

A dieta da mãe, por sua vez, influencia diretamente na concentração de alguns nutrientes do leite materno, onde se tem como exemplo a quantidade de gordura (TINOCO et al., 2007). Em animais, Purcell e colaboradores (2011) analisaram a

composição do leite materno de ratas que ingeriram dieta hiperlipídica durante a lactação e observaram maior teor de gordura, proteína e energia.

Essas observações se assemelham as observadas por Sun et al (2012), onde a determinação de consequências metabólicas para a descendência, a qual parece ocorrer tanto em humanos como em animais, é mais crítica quando a dieta materna é rica em gordura saturada durante o período da amamentação.

O conteúdo de ácidos graxos trans (AGT) presente no leite materno reflete a ingestão alimentar da nutriz (TINOCO et al., 2007). Em geral, o leite contém 5% de gordura trans (LARQUÉ et al., 2001), porém, de acordo com a alimentação materna, os níveis de AGT podem variar de 1,9 a 7,2% (TINOCO et al., 2007).

Uma relação dose-resposta direta foi observada em um estudo experimental, onde a incorporação dos AGT mostrou-se presente no plasma e aorta dos filhotes expostos à dieta hiperlipídica durante a lactação (KUMMEROW et al., 2004). Isto reforça a influência que a alimentação materna no período pós-natal precoce pode exercer no crescimento, desenvolvimento, resposta imunológica e prevenção de doenças crônicas na vida adulta de seus filhos.

Os efeitos adversos dos hábitos alimentares ocidentais mostram-se independentes de outros fatores ambientais e ultrapassam o aparecimento da síndrome metabólica (ALBUQUERQUE et al., 2006), por favorecer a ocorrência de estresse oxidativo precoce, acúmulo de gordura e ativação da enzima c-Jun N-terminal Kinase (JNK) no fígado, culminando com o desenvolvimento da esteato-hepatite não alcoólica (ASHINO et al., 2012). Dessa forma, por alterar a capacidade de depuração hepática, a obesidade acarreta em alterações na dosagem, na frequência de administração, no tempo de meia vida, tempo de ação, metabolismo e eliminação de diversos fármacos (BURTON et al., 2006; MATSON, HORTON & CAPINO, 2017).

2.2 Tecido adiposo: marcadores inflamatórios e mecanismos de ação

O tecido adiposo é o órgão de armazenamento energético que, a depender de sua localização, possui funções distintas. O tecido adiposo visceral (TAV), localizado principalmente no interior da cavidade abdominal, é metabolicamente mais ativo e atua como promotor eficaz da lipólise e liberação de ácidos graxos; apresenta maior

resistência à insulina e secreta, em maior quantidade, adipocinas pró-inflamatórias [angiotensina I, resistina, ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1), IL-6 e proteína C reativa (PCR)], representando entre 10-20% da gordura corporal total de homens e entre 5-10% em mulheres (PORTER et al., 2009).

Já o tecido adiposo subcutâneo (TAS), encontra-se localizado na região glúteo-femoral e sintetiza maior quantidade de leptina e da proteína estimuladora de acilação (ASP), representando cerca de 80% da massa de gordura total nos indivíduos saudáveis (PORTER et al., 2009; KAMINSKI; RANDAL, 2010).

Tem sido demonstrado que o tecido adiposo está relacionado a diferentes tipos de células imunes, onde a obesidade altera o número e o estado de ativação das mesmas (BONAMICHI; LEE, 2017) devido as condições de estresse oxidativo (SUNG et al., 2013) e estado inflamatório aumentados, induzindo à degeneração celular, com consequente renovação dos adipócitos (NISHIMOTO et al., 2016).

Adipócitos são células responsáveis pelo armazenamento de lipídios (sob forma de triacilgliceróis) e possuem um conjunto de proteínas e enzimas responsáveis pela síntese, armazenamento e mobilização de ácidos graxos quando há necessidade de uma resposta a alterações fisiológicas (BRITO et al., 2013).

Uma sobrecarga calórica prolongada leva a uma hipertrofia dos adipócitos. Como consequência, há secreção de quimioatraentes, como a proteína quimioatraente de monócitos tipo 1 (MCP-1) e citocinas pró-inflamatórias, tais como o TNF- α , IL-1, IL-6 e a PCR (PREMANATH et al., 2016), acarretando em uma disfunção dos adipócitos e a um recrutamento adicional de células do sistema imune (GUILHERME et al., 2008; MCARDLE et al., 2013; NAGAHARA et al., 2016). Este recrutamento induz o tecido adiposo a um estado inflamatório crônico, estando fortemente associado à desregulações metabólicas (SCHIPPER et al., 2012; KANG et al., 2016), a exemplo da resistência insulínica.

O excesso de tecido adiposo está relacionado à ativação da resposta imune adaptativa (recrutamento e ação de células T, B e Dendríticas) e, especificamente, da resposta imune inata (recrutamento e ação de macrófagos, mastócitos e neutrófilos) (BONAMICHI; LEE, 2017), onde essas alterações imunofenotípicas

desempenham papel importante na patogênese e exacerbação das anormalidades metabólicas da obesidade (LUMENG; SALTIEL, 2011).

Estudos experimentais evidenciam que a infiltração de células mieloides e linfoides (macrófagos e células dendríticas) no tecido adiposo e fígado contribuem para o estado pró-inflamatório (CANCELLO et al., 2010; REYNOLDS et al., 2014; KRISHNA et al., 2016) característico do excesso de peso induzido pela dieta (LUMENG; SALTIEL, 2011; OSBORN; OLEFSKY, 2012).

Os macrófagos são as células imunes mais relacionadas ao estado inflamatório e desempenham papel central no comprometimento da funcionalidade do adipócito. No período fetal, o saco vitelino e a hematopoiese hepática são os precursores embrionários dos macrófagos. Na fase pós-natal, os monócitos sanguíneos desenvolvidos a partir de células estaminais hematopoiéticas na medula óssea são os seus principais precursores no sistema circulatório (HAYLOCK et al., 1994; SMITH, 2003).

O excesso de gordura corporal altera a expressão fenotípica do macrófago de M2 (anti-inflamatório) para M1 (pró-inflamatório) (KIM et al, 2013) por alterar a polaridade de sua membrana celular, acarretando no aumento de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 e MCP-1) (AOUADI et al., 2013; KANG et al., 2016).

Sua infiltração está envolvida na ativação de células T, convencionais e reguladoras, e maior recrutamento e ativação de novos macrófagos em locais específicos que necessitam de uma resposta imune (DOMÍNGUEZ; ARDAVÍN, 2010), sugerindo que a inflamação induzida pela obesidade pode ser considerada uma doença imunológica crônica (BONAMICHI; LEE, 2017).

A presença de células inflamatórias em resposta à expansão do tecido adiposo leva a um aumento da produção de diferentes mediadores pró inflamatórios (KANG et al., 2016) e a maior liberação de ácidos graxos livres (AGL) (LOTTENBERG et al., 2007; LOTTENBERG, 2009). Este processo ocorre em função da degeneração (apoptose/necrose) dos adipócitos, provocando a liberação do DNA (NISHIMOTO; FUKUDA; HIGASHIKUNI; TANAKA et al., 2016), promovendo outra rota para o acúmulo de macrófagos no tecido, via receptor Toll-like 9 (TLR9).

Este receptor atua como um sensor de fragmentos de DNA exógeno e está relacionado ao estímulo à expressão de adipocinas pró-inflamatórias (NASCIMENTO; RIBEIRO; OYAMA, 2009. SCHARFE-NUGENT et al., 2012) que, quando em excesso, resultam na indução do estresse oxidativo, inflamação e reatividade vascular (GUO; TABRIZCHI, 2006).

Além das células imunológicas específicas da imunidade inata ou adaptativa, há outro grupo celular envolvido na cascata inflamatória relacionada à obesidade e que exerce papel em ambas as vertentes imunológicas, apesar de seus mecanismos de ação não serem completamente elucidados. São elas as células “invariant natural killer T” (iNKT), células linfóides inatas (ILCs) e “natural killer” (NK) (BONAMICHI; LEE, 2017).

As células iNKT constituem um subconjunto especializado de células T que possuem ações distintas. Elas têm a capacidade de reconhecer antígenos lipídicos e constituem uma das vias de ligação propostas entre a obesidade, inflamação e resistência à insulina (HU et al., 2013).

Além disso, estimulam o desenvolvimento de macrófagos do tecido adiposo com perfil pró-inflamatório (M1) (JI et al., 2012), mas, suprimem a cascata inflamatória ativada pela presença de interleucina 4 (IL-4) (JI et al., 2012). Quanto maior o grau de obesidade, maiores são os níveis de M1 no tecido hepático, o que facilita o papel coadjuvante dessas células no desenvolvimento da esteatose hepática (MARTIN-MURPHY et al., 2014; HU et al., 2017).

As ILCs, por sua vez, são caracterizadas por não possuírem um receptor de antígeno, pela ausência de marcadores de superfície, ausência de linhagem específica de células mielóides e por possuir morfologia linfocitária clássica (SPITS; CUPEDO, 2012). Células secretoras de interleucinas incluem as células indutoras de tecido linfóide e as NK (grupo 1), que produzem citocinas inflamatórias como o TNF α (ARTIS; SPITS, 2015).

Na figura 1 pode ser observado o modelo de regulação pelo qual os níveis circulantes de NK, no tecido adiposo, são diretamente proporcionais ao grau da obesidade. Esse mecanismo é semelhante em humanos (BALLESTEROS-POMAR et al., 2014) e roedores (WENSVEEN et al., 2015) e, após tratamento (dieta

hipocalórica, cirurgia bariátrica ou testes com administração de anticorpo específico), seus níveis diminuem, reduzindo também a resistência insulínica.

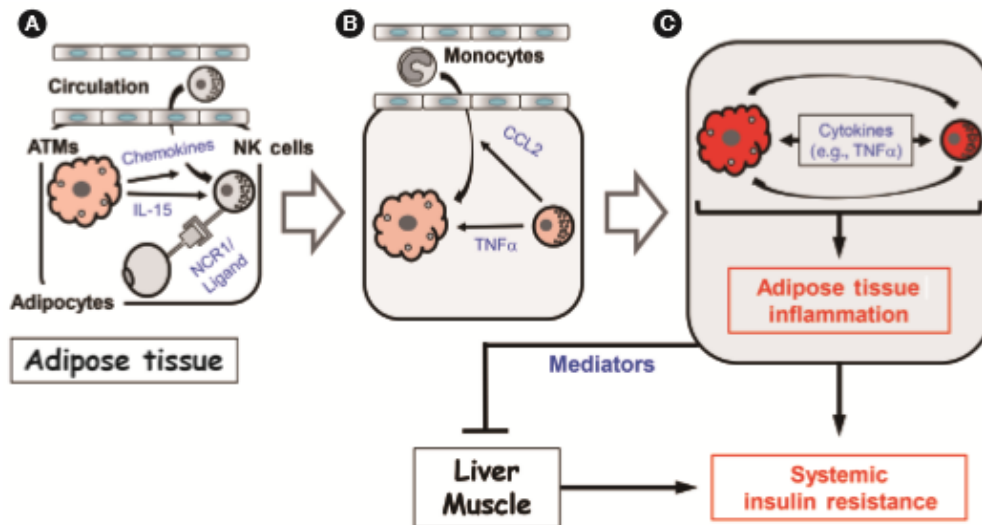


Figura 1: Modelo para a regulação da inflamação induzida pela obesidade e resistência à insulina mediada por células natural killer (NK). (A) À medida que a obesidade aumenta, os macrófagos do tecido adiposo (ATMs) se ativam e produzem quimiocinas que recrutam células NK da circulação. Além disso, os ATMs de obesos produzem a interleucina 15 (IL-15) e os adipócitos produzem um ligante ainda desconhecido para o receptor 1 de ativação da citotoxicidade natural (NCR1), que ativa as células NK. (B) Em seguida, as células NK ativadas induzem o aumento em número e reações de ativação dos ATM. (C) Esta ativação cruzada de ATMs e células NK induz a inflamação do tecido adiposo na obesidade e, eventualmente, a resistência à insulina dos adipócitos. CCL2: Quimiocina ligante 2; TNF α : Fator de necrose tumoral alfa.(BONAMICHI & LEE, 2017).

O TNF- α , citocina pró-inflamatória, possui sua expressão e secreção aumentadas em proporção ao volume dos adipócitos, estando relacionada ao desenvolvimento de processos aterogênicos por participar da migração e conversão de monócitos a macrófagos na parede endotelial, desencadeando reações inflamatórias vasculares (FONSECA-ALANIZ et al., 2007).

Sua ação se dá pela ligação a dois tipos de receptores de membrana (TNFR I e II) que mediam a transdução de sinal desencadeada pela presença do TNF- α , formando complexos com proteínas adaptadoras citoplasmáticas (FONSECA-ALANIZ et al., 2007) e por mecanismos autócrinos e parácrinos, com efeitos sobre o desenvolvimento da resistência à insulina e sobre a indução da IL-6 (CARTIER, 2010).

A IL-6 é secretada pelos adipócitos, músculo esquelético e fígado (WIECKOWSKA et al., 2008) atuando como um sinal endócrino (CARTIER, 2010), tendo efeito pró-inflamatório e ação no metabolismo de lipídios e carboidratos (FONSECA-ALANIZ et al., 2007). Sua expressão está positivamente relacionada com o índice de massa corporal, insulina plasmática e níveis de TNF- α (McARDIE et al., 2013), sendo relacionada, também, ao desenvolvimento da esteatohepatite e resistência à insulina (WIECKOWSKA et al., 2008).

A PCR é uma proteína de fase aguda, sintetizada pelo fígado e secretada na presença da IL-6 (DEMMER et al., 2016), compondo a cascata de reações inflamatórias, e atua como importante marcador da inflamação por estar relacionada ao prognóstico de indivíduos com maior risco de desenvolver diabetes *mellitus* tipo 2, resistência a insulina e obesidade (DURAN-GONZALEZ et al., 2011).

2.3 Eventos vasculares envolvidos na resposta inflamatória atrelada à obesidade

Os vasos sanguíneos são envoltos por uma camada de tecido adiposo [tecido adiposo perivascular (PVAT)], o que permite que substâncias por ele secretadas entrem instantaneamente na circulação sanguínea, estando fortemente associadas à inflamação vascular (CAO, 2010).

O PVAT tem a capacidade de secretar ácidos graxos dos adipócitos ligados à proteína (A-FABP) e o fator construtor derivado do tecido adiposo. Esses fatores levam a vasoconstrição, e, em obesos, aumentam a liberação de espécies reativas de oxigênio pela ativação da NADPH-oxidase (GAO, 2007), com consequente aumento do estresse oxidativo vascular e inibição da liberação de óxido nítrico, levando a disfunção endotelial (HUSSENY et al., 2017).

Dentre as adipocinas secretadas pelo tecido adiposo, destacam-se: a A-FABP, que é uma proteína transportadora, carreadora de ácido oleico, retinoico e araquidônico para o receptor γ ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR- γ). Este, quando em níveis elevados, atua como marcador de anormalidades metabólicas e disfunção endotelial (HOO et al., 2008); a leptina, que em elevadas concentrações, tem a capacidade de induzir moléculas de adesão vascular, fatores pró-trombóticos e citocinas inflamatórias (TNF, IL-2, IL-6 e MCP-1) (MARESCA et al., 2014); e, a adiponectina, que tem efeitos de proteção ao endotélio por inibir a

atividade fagocítica de macrófagos, minimizar a liberação de citocinas pró-inflamatórias e reduzir a cascata de reações desencadeadas pelos leucócitos (HUSSENY et al., 2017).

Na vigência de estímulo endógeno ou exógeno pode haver lesão celular, repercutindo no incio de reações complexas que compõem a resposta inflamatória. Processos inflamatórios consistem na resposta fisiológica do organismo diante de uma lesão tissular ou de infecção e envolvem uma ação coordenada entre o sistema imune inato ou inespecífico e o tecido agredido ou lesionado (COTRAN et al., 2000), causando uma resposta local ou generalizada.

Os quatro primeiros sinais de uma inflamação foram descritos no primeiro século d.C. e são caracterizados por rubor, tumor, calor e dor. A *posteriori*, Virchow adicionou mais um sintoma, a *functio laesa* (perda de função) (KUMAR, ABBAS, FAUSTO, 2005).

A reação inflamatória ocorre no tecido conjuntivo vascularizado envolvendo leitos capilares, plasma, células circundantes, constituintes celulares e extracelulares em resposta a danos teciduais, infecções e/ou reações imunológicas. Tem como objetivo eliminar o agente lesivo e induzir uma série de eventos que abrangem uma complexa interação entre as células inflamatórias (neutrófilos, linfócitos, monócitos/macrófagos), células vasculares da musculatura lisa e células endoteliais (TEDGUI; MALLAT, 2001).

Entretanto, apesar de promover a destruição de agentes agressores e/ou tóxicos e promover o processo de cicatrização e reparação do tecido danificado (MINIHANE et al., 2015), a prolongação do período de eventos inflamatórios pode induzir a lesão do tecido em consequencia da liberação exacerbada de enzimas, mediadores inflamatórios e espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio (TRACEY, 2000; KUMAR, ABBAS; FAUSTO, 2005).

O processo inflamatório é constituído de três fases: fase precoce da inflamação aguda, caracterizada por aumento da permeabilidade vascular e vasodilatação local; fase tardia da inflamação aguda, com penetração de células leucocitárias e fagocitárias; e, fase proliferativa crônica, com degeneração tissular e fibrose (ALBERTINI et al., 2004; KUMAR, ABBAS; FAUSTO, 2005).

A resposta de fase aguda da inflamação pode durar minutos, horas ou dias, a

dependem do tipo e do grau da injúria, e apresenta os sinais cardinais da inflamação: dor, calor, rubor, tumor e perda de função. A fase precoce é em torno de 0-1 hora após a lesão e é caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios, como bradicinina e histamina, que modulam a resposta inflamatória com o aumento do calibre e do fluxo vascular, característicos do calor e rubor no foco da inflamação (KUMAR, ABBAS; FAUSTO, 2005; ALBERTINI et al., 2004).

A fase tardia da inflamação aguda, que corresponde ao período de 4-5 horas após a lesão, é caracterizada pelo predomínio de eventos celulares como a marginação, a aderência endotelial, a diapedese e a migração leucocitária para focos da inflamação, induzidos por estímulos quimiotáticos (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

Na fase crônica, os eventos podem durar um período indeterminado, variando de acordo com os tipos de mediadores celulares associados, sendo um processo caracterizado pela presença de linfócitos e macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos, fibrose e necrose tecidual (RYAN; MAJNO, 1977; ROTE, 1998; SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004) nas 6 horas posteriores à lesão (ALBERTINI et al., 2004).

A liberação de mediadores inflamatórios resulta em edema tissular, decorrente do extravasamento de proteínas plasmáticas e migração hídrica para o tecido e infiltração de mediadores inflamatórios que objetivam eliminar o agente agressivo (SPINOSA et al., 2006; GILMAN et al., 2006). A migração celular ocorre como resultado da síntese local de diversos mediadores inflamatórios com atividade quimiotática e de alterações das proteínas de membrana do endotélio vascular (ALBERTINI et al., 2004; KUMAR, ABBAS; FAUSTO, 2005).

Os leucócitos infiltram-se nas paredes dos vasos sanguíneos e se ligam aos respectivos receptores por intermédio das moléculas de adesão e em sequência transmigram pelo endotélio. A migração leucocitária é fundamental para defesa contra antígenos estranhos ao organismo, no entanto, este mesmo processo pode resultar de doenças inflamatórias crônicas, agudas e autoimunes, derivadas da inflamação exacerbada e destruição tecidual (JAAKKOLA et al., 2000).

A ação dos leucócitos no compartimento subendotelial desencadeia uma cascata de eventos influenciados por mediadores inflamatórios, como as quimiocinas e

citocinas, que estão intimamente relacionadas à formação da lesão vascular (CALDER et al., 2013).

Sob um estímulo inflamatório, os vasos sofrem modificações quanto a sua permeabilidade, a depender dos receptores ativados no endotélio ou da agressão ocorrida no vaso sanguíneo, permitindo a passagem de proteínas plasmáticas e de células circulantes para o foco inflamatório (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

Uma maior concentração dessas moléculas, em conjunto com a expressão de moléculas de adesão endotelial, estimula a ativação adicional dos macrófagos, que passam a induzir a formação de células espumosas carregadas de lípidios, dando origem ao processo aterosclerótico (HALLENBECK; HANSSON; BECKER et al., 2005).

Dentre as enzimas envolvidas nos processos inflamatórios tem-se a ciclo-oxigenase (COX) e a mieloperoxidase (MPO), que são cruciais na condição de inflamação (HOWARD, 2004). As COX estão envolvidas na produção de prostaglandinas pró inflamatórias que modulam a inflamação (DEMIRYLMAZ; TURAN; KISAOGU et al., 2014; TSUJIMOTO et al., 2016) e estão atreladas à presença de vários estímulos inflamatórios (citocinas, endotoxinas e fatores de crescimento) (HOWARD, 2004).

A figura 2 traz o mecanismo de formação da COX após lesão da membrana celular, com consequente degradação dos fosfolípidios e produção do ácido araquidônico (HILÁRIO; TERRETI; LEN, 2006) e é encontrada sob duas isoformas: COX-1 e COX-2 (HOWARD, 2004).

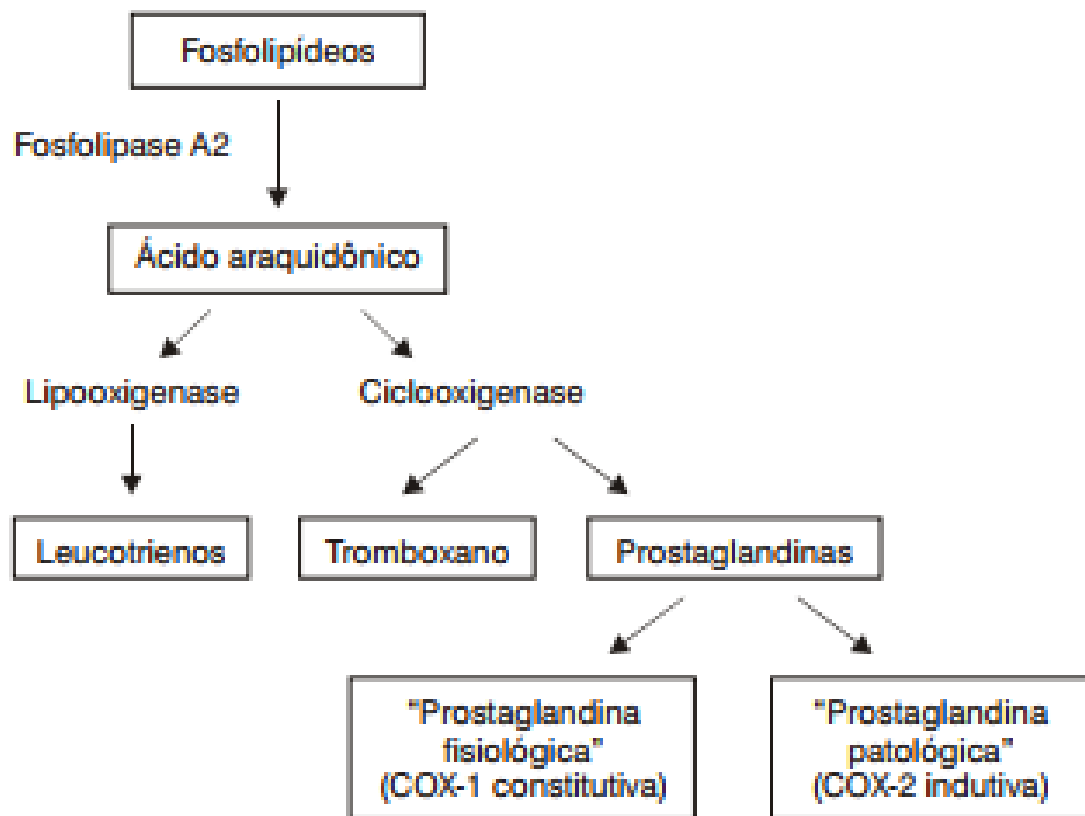


Figura 2: Formação da COX- 1 e COX-2 após lesão da membrana celular composta por fosfolípidos. COX-1: Ciclooxygenase 1. COX-2: Ciclooxygenase-2. (HILÁRIO; TERRERO; LEN, 2006)

A COX-1 é uma enzima estrutural com 17 aminoácidos na sua porção aminoterminal e que está envolvida na atividade citoprotetora em diversos tecidos (vasos sanguíneos, plaquetas, estômago, intestino, rins), estando associada à produção de prostaglandinas que resultam em efeitos fisiológicos (proteção gástrica, agregação plaquetária, homeostase vascular e manutenção do fluxo sanguíneo renal)(BRUNE & HINZ, 2004. HILÁRIO; TERRETI; LEN, 2006).

Por outro lado, a COX-2, que apresenta 18 aminoácidos na porção carboxi-terminal, é expressa, primeiramente, por células envolvidas no processo inflamatório, como macrófagos, monócitos, citocinas (IL-1, IL-2 e TNF- α) e outros mediadores dos sítios de inflamação (como fatores de crescimento e endotoxinas) e tem papel na mediação central da dor e da febre (BRUNE & HINZ, 2004. HILÁRIO; TERRETI; LEN, 2006).

A MPO é produzida pelo fígado e chamada de proteína de fase aguda positiva. Ela é responsável pela remoção de microrganismos e metabólitos celulares;

remodelamento celular; ação de proteases; ativação do sistema complemento; controle antitrombótico e da expressão gênica, entre outros (CECILIANE et al., 2002). Suas concentrações séricas podem se elevar em 25% durante o processo inflamatório, retornando a níveis basais a medida que o tratamento é realizado (KJELGAARD-HANSEN; JACOBSEN, 2011).

Nos neutrófilos, monócitos e macrófagos é possível encontrar a MPO, a qual tem relação positiva com a contagem de leucócitos (MEUWESE et al., 2007). Esta enzima atua na conversão de íons cloreto e peróxido de hidrogênio, subprodutos celulares, para gerar o ácido hipocloroso e também está incluída nas reações de estresse oxidativo por se relacionar com espécies reativas de oxigênio (radicais livres), possuindo efeito aterogênico (SHAO et al., 2010).

2.4 Nimesulida

Com o intuito de combater os processos inflamatórios, prevenir ou minimizar uma lesão e tratar dores agudas, são frequentemente prescritos na prática clínica os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). A Nimesulida é o AINE mais comumente utilizado (KIM et al., 2012) e sua estrutura molecular, devido a presença do grupamento sulfonamida, e perfil farmacológico agregam menos efeitos colaterais e igual eficácia (ZAKI; NILOFER; TAQI, 2012).

Esse fármaco, em sua forma pura, é composto pelo [N-(4-Nitro-2-fenóxifenil) metano sulfonamida] (figura 3) (RAMESH; RAO; RAO, 2015) e apresenta caráter fracamente ácido com pKa de 6,56 (SINGH et al., 1999) e solubilidade em água de 10 µg/mL (PIEL et al., 1997), pertencendo a categoria II da classificação biofarmacêutica devido a sua baixa solubilidade e alta permeabilidade (AMIDON et al., 1995; BERNAREGGI, 1998).

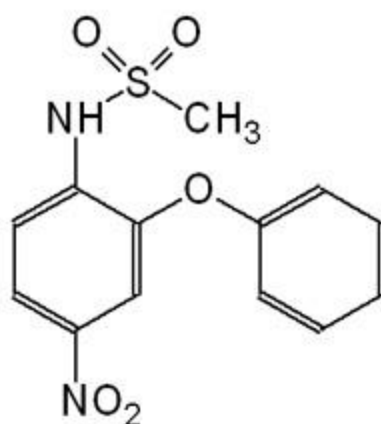


Figura 3: Estrutura molecular da Nimesulida (HOWARD, 2004).

Em decorrência de sua solubilidade e permeabilidade, a dissolução *in vivo* vem a ser o passo limitante da absorção oral do fármaco (DA SILVA & VOLPATO, 2002), o qual possui propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antipiréticas e antioxidantes (DEMIRYLMAZ; TURAN; KISAOGU; GULAPOGLU et al., 2014), sendo amplamente utilizado no tratamento de uma variedade de doenças inflamatórias e dolorosas.

Sua biotransformação ocorre no fígado através de múltiplas vias das isoenzimas do citocromo P450 (CYP), em que a CYP2C9 e CYP2C19 estão implicadas em suas reações de hidroxilação. Dezesesseis metabólitos do fármaco já foram identificados, sendo o 4-hidroxi-nimesulida seu metabólito principal por ser farmacologicamente ativo (TEXEIRA, 2009).

Apesar da baixa toxicidade, com incidência moderada de efeitos colaterais gástricos, e alto índice terapêutico (SINGLA; CHAWLA; SINGH, 2000. MALIK et al., 2011), por ser rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal (BERNAREGGI, 1998), com pico de concentração plasmática em 1-2 horas após administração, seu consumo excessivo está relacionado ao desenvolvimento de comorbidades como insuficiência renal aguda (SCHATTNER; SOKOLOVSKAYA; COHEN, 2000. ZAKI; NILOFER; TAQI, 2012), edema periférico, gastrite, estomatite, fascite necrosante, síndrome de Reye, coagulopatias e hepatite aguda (BHATTACHARYA et al., 2015).

Dos casos de hepatotoxicidade induzida pelo uso de fármacos, 10% se devem ao uso dos AINEs (BESSONE, 2010), acometendo mais frequentemente o sexo

feminino com idade avançada (TSUJIMOTO et al., 2016). Entretanto, seu mecanismo ainda não é bem esclarecido, sendo, em sua maioria, observada uma lesão secundária a uma reação idiossincrática (BOELSTERLI, 2002), caracterizada por necrose massiva e elevado infiltrado inflamatório (SCHATTNER; SOKOLOVSKAYA; COHEN, 2000), que pode ocorrer após 15 dias do uso do fármaco (BESSONE, 2010).

Doses terapêuticas possuem vários mecanismos de ação, como a inibição de enzimas responsáveis pela biossíntese de prostanoídes inflamatórios formados a partir do ácido araquidônico (PHAM et al., 2016), sendo sua principal atividade farmacológica relacionada a inibição seletiva e acentuada da enzima COX-2, com discreta inibição da enzima COX-1 (HOWARD, 2004).

A inibição da COX-2 é decorrente da interação do grupamento sulfonamida da molécula do fármaco com um resíduo de arginina em uma cavidade hidrofílica da enzima (SILVA, 2010) e provê, principalmente, uma redução da produção de exudatos e prostaglandinas pró-inflamatórias, exercendo efeitos benéficos sobre a dor e inflamação. Em acréscimo, há inibição de proteinases específicas envolvidas na degradação de proteoglicanos e colágenos de cartilagem e da geração de radicais livres de oxigênio (VANE; BOTTING, 1995).

Em humanos, foi observado que após administração de 100mg/dia de nimesulida, por via oral, houve uma completa supressão da atividade enzimática da COX-2 (KIM et al., 2012). Em estudo *in vivo*, com roedores, essa droga exibe atividade quimiopreventiva contra câncer mamário, de células escamosas e pâncreas (FURUWAKA et al., 2003). Contudo, a administração de doses elevadas (≥ 80 -100mg/kg) está associada a reações letais. Entretanto, a oferta de até 50mg/kg não evidencia toxicidade significativa (SINGH et al., 2012). Já em estudo *in vitro*, é capaz de impedir a proliferação de células cancerígenas por promover aumento em sua taxa de apoptose (HAN & ROMAN, 2006).

3 HIPÓTESE

O consumo de uma dieta ocidentalizada por ratas desde o período pré-gestacional e continuada até a gestação ou até a lactação provoca repercussões adversas mais graves nos descendentes expostos até o desmame do que naqueles que foram expostos à dieta apenas até o nascimento, causando:

- Aumento do peso corporal, maior adiposidade abdominal, elevação da glicemia e dislipidemia;
- Exacerbação da resposta inflamatória aguda e redução da eficácia farmacológica da Nimesulida.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Investigar o impacto da dieta ocidentalizada ingerida por ratas no período pré-gestacional, gestacional e lactacional, sobre a intensidade da resposta inflamatória aguda e eficácia farmacológica da Nimesulida na prole.

4.2 ESPECÍFICOS

➤ Nas matrizes

- Avaliar o consumo alimentar;
- Avaliar a evolução ponderal;
- Avaliar a glicemia de jejum;

➤ Nos filhotes

- Avaliar a evolução ponderal;
- Avaliar o consumo alimentar;
- Avaliar a severidade da resposta inflamatória aguda;
- Avaliar o efeito da Nimesulida sobre o edema de pata induzido;
- Avaliar o perfil glicêmico e lipêmico;
- Determinar em qual período de início da vida o agravo nutricional precoce atinge mais negativamente os parâmetros acima mencionados.

5 METODOLOGIA

A pesquisa foi desenvolvida nos Departamentos do Centro de Ciências da Saúde (CCS) e Centro de Biociências (CB), localizados na Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Campus Recife, e no Departamento de Medicina Veterinária, localizado na Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

Todos os procedimentos experimentais descritos a seguir foram submetidos à análise e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE sob o número de protocolo 0034/2016 (ANEXO A) e estão conforme as resoluções e diretrizes determinadas pelo CONCEA (Conselho Nacional de Controle Experimentação Animal) (MCTI, 2014).

5.1 Animais, habitação e dieta

Dezoito fêmeas primíparas e nove machos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*), advindos da colônia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, foram acasalados (proporção de duas fêmeas para um macho) e a gestação confirmada pela visualização de espermatozóides na secreção vaginal. As ninhadas foram compostas por 8 filhotes (machos:fêmeas na proporção de 4:4 ou 4:3), onde apenas 2 machos de cada matriz foram utilizados para análise.

No biotério de criação do Departamento de Nutrição (DN) os animais foram mantidos sob temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de 60% e ciclo de luz invertido (período claro: 20:00h às 8:00h; período escuro: 8:00h às 20:00h), visto que os roedores são animais de hábito noturno, ou seja, realizam suas atividades exploratórias e de caça no escuro, enquanto que durante a exposição à luz descansam (ANDRADE; PINTO; OLIVEIRA, 2002). As matrizes e seus respectivos filhotes foram separados de acordo com a intervenção dietoterápica.

A figura 4 representa o desenho experimental do presente estudo, onde as matrizes do Grupo controle [GC (n=6)] receberam ração comercial durante todo o período de acompanhamento. As matrizes do Grupo ocidentalizado [GO (n=12)] receberam a ração experimental ocidentalizada desde o período pré-gestacional e, no primeiro dia de lactação, foram subdivididas da seguinte forma: Grupo

ocidentalizado gestação [GOg (n=6)] = matrizes do grupo ocidentalizado que receberam ração ocidental do período pré-gestacional até o nascimento de seus filhos e ração padrão comercial a partir do primeiro dia de lactação até o desmame; Grupo ocidentalizado gestação e lactação [GOgl (n=6)] = matrizes do grupo ocidentalizado que receberam ração experimental ocidental durante todo o período de acompanhamento (pré-gestação, gestação e lactação).

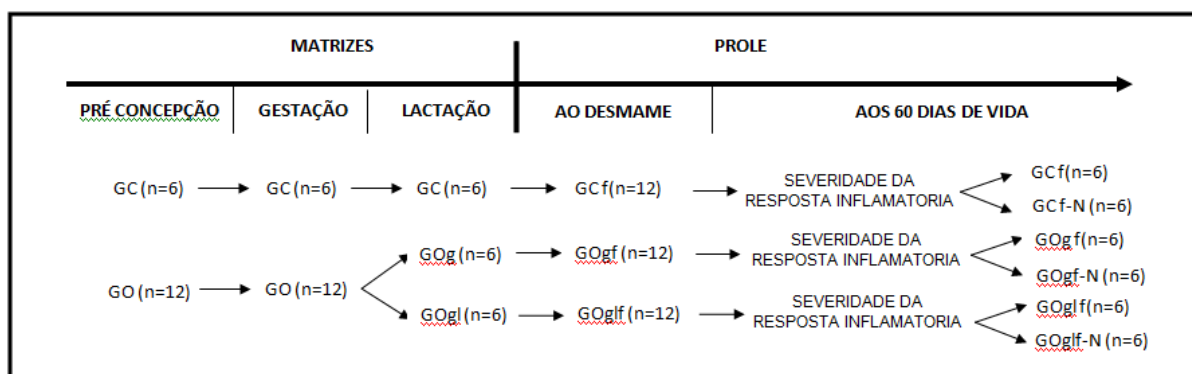


Figura 4: Desenho experimental da distribuição das matrizes e seus respectivos filhotes. GC: Grupo controle. GO: Grupo ocidentalizado. GOg: Grupo ocidentalizado gestação. GOgl: Grupo ocidentalizado gestação e lactação. GCf: Filhotes das matrizes do grupo controle. GOgf: Filhotes das matrizes do grupo ocidentalizado gestação. GOglf: Filhotes das matrizes do grupo ocidentalizado gestação e lactação. n: Número de animais por grupo. N: Filhotes tratados com Nimesulida.

A ração ocidentalizada ofertada durante todo o período experimental seguiu o preconizado pela American Institute of Nutrition Rodent Diet-93 para crescimento (AIN-93G) e foi elaborada no Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética do DN. Sua composição foi baseada e adaptada pelo proposto por Ferro Cavalcante et al. (2014), sendo a contribuição dos macronutrientes, em relação ao valor energético total, conforme tabela 1.

Tabela 1: Distribuição centesimal dos macronutrientes das rações ofertadas às matrizes do grupo controle e ocidentalizado.

Ração/ Macronutriente	Caloria	Carboidrato	Proteína	Lipídio
Ração Controle				
(comercial)	3,6kcal/g	63%	26%	11%
Ração Ocidentalizada	4,6kcal/g	45%*	21%	34%

*Das fontes de carboidratos totais, 22% correspondeu à frutose sintética. Kcal/g: Quilocaloria por grama de ração.

Os cálculos da composição centesimal de macronutrientes foram de acordo com o fornecido pelos produtores (ração padrão comercial - Presence®) e, para ração experimental ocidentalizada, foi feita a análise no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do DN da UFPE. Na tabela 2 encontra-se descrita a composição da ração ocidentalizada. Ração e água foram ofertadas *ad libitum*.

Tabela 2: Composição centesimal da ração experimental ocidentalizada de crescimento (g/100g de ração).

Ingredientes	Quantidade (g/100g)
Amido de milho	8,00
Farinha de rosca	4,00
Ração comercial de biotério (Presence®)	8,00
Biscoito maisena chocolate	5,00
Farinha de soja	3,00
Caseína (Roster®)	20,00
Celulose (Roster®)	2,00
Açúcar cristal	15,00
Frutose sintética (Doce menor®)	10,00
Mix Sais Minerais (AIN 93G) (Roster®)	2,50
Mix Vitaminas (Roster®)	0,70
Colina (Roster®)	0,25
Metionina (Roster®)	0,25
BHT (Roster®)	0,014
NaCl	0,30
Glutamato Monossódico	1,00
Óleo de soja	4,00
Banha de porco	5,00
Manteiga	3,00
Margarina (85% lipídio)	4,00
Creme de leite (20% lipídio)	4,00

Adaptação: FERRO CAVALCANTE et al. (2014).

5.2 Determinação do consumo alimentar e coeficiente de eficiência alimentar

O consumo alimentar das matrizes (desde o período pré-gestacional até o desmame) e de suas proles, do período pós-desmame (22º dia) até os 60 dias de vida, foi avaliado a cada 2 dias (48 horas) e aferido através de balança digital BEL, modelo L2102, com capacidade para 2,1kg e variação de 0,01g. Para obtenção da

quantidade de ração ingerida, foi realizado o cálculo da subtração entre o peso inicial da ração ofertada e a sobra restante na gaiola.

O coeficiente de eficiência alimentar (CEA) foi determinado para as matrizes durante o período pré-gestacional, de acordo com a avaliação do ganho de peso de cada grupo em relação ao seu consumo alimentar, a partir da divisão do ganho de peso total (g) pela ingestão alimentar total (kcal) (LEVIN; TRISCARI; SULLIVAN, 1986).

5.3 Determinação da evolução ponderal

A aferição do peso corporal foi realizada semanalmente nas matrizes (Quintas feiras, das 7:00h às 8:00h da manhã), do período pré-gestacional até o desmame, enquanto que em suas respectivas proles foi aferido ao nascimento, ao desmame (21º dia) e aos 60 dias de vida, em balança digital BEL, modelo L2102, com capacidade para 2,1kg e variação de 0,01g.

5.4 Determinação da glicemia de jejum

As matrizes tiveram a glicemia de jejum aferida no período pré-gestacional (30º, 60º, 90º e 120º dia de vida), gestacional (1º, 2º e 3º semana) e lactacional (1º, 2º e 3º semana). As amostras sanguíneas foram obtidas através do puncionamento da ponta da cauda dos animais e analisadas pelo Kit Monitor de Glicemia Accu Chek Performa® após as fêmeas ficarem em jejum durante o período de 12 horas (8:00h às 20:00h).

5.5 Avaliação da fase aguda da resposta inflamatória na prole de ratas *Wistar* alimentadas com dieta ocidentalizada

Aos 60 dias de vida, 36 filhotes machos de ratos *Wistar* (n=12/grupo) foram subdivididos, conforme tratamento farmacológico, e submetidos à avaliação da resposta inflamatória aguda, através da avaliação do volume do edema de pata induzido por carragenina, no Laboratório de Farmacologia e Produtos Bioativos do CB.

Seis subgrupos foram formados, onde apenas três [GCf-N (n=6), GOgf-N (n=6) e GOglf-N (n=6)] foram tratados com o fármaco Nimesulida (Medley®, 50mg/1ml de solução oral) administrado intraperitonealmente, favorecendo a rápida dissipação

do fármaco para circulação, já que a cavidade peritoneal possui grande área de absorção (HOWLAND; MYCEK, 2007), enquanto que os outros três [GCf (n=6), GOgf (n=6) e GOglf (n=6)], não. Em seguida, as duas etapas descritas a seguir foram realizadas:

- A) Os animais do grupo não tratado (GCf/GOgf/GOglf) receberam uma injeção subplantar de Carragenina tipo IV (Sigma-Aldrich®) (0,1mL), preparada comercialmente (1% w/v em solução salina), na pata traseira esquerda.
- B) Os outros animais (GCf-N/GOgf-N/GOglf-N) foram submetidos ao mesmo procedimento descrito acima, porém, previamente tratados com Nimesulida (10mg/kg; v.i.p) quarenta e cinco minutos antes da injeção subplantar do agente edematogênico (carragenina) (MENEZES, 2016).

A carragenina é um polissacarídeo extraído de algumas espécies de algas vermelhas. Estruturalmente, é um grupo complexo de polissacarídeos composto por monômeros relacionados à galactose, sendo de três tipos principais: lambda, kappa e iota. A forma lambda dá origem a um gel pouco firme à temperatura ambiente e é capaz de induzir uma resposta inflamatória quando injetado por via subcutânea (MORRIS, 2003), induzindo a liberação de citocinas inflamatórias e migração de células imunes em ratos (CUNHA et al., 2008).

O volume da pata a qual foi injetado o agente edematogênico foi medido em Pletismômetro digital (Panlab – Harvard Apparatus, Modelo LE 7500) antes (Tempo = 0 min.) e 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos após a injeção da carragenina, para que tanto a fase precoce como a tardia da inflamação aguda pudesse ser avaliada (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005). A variação do volume das patas foi expressa em mililitros pela diferença registrada no volume das patas antes (T=0 min.) e após a injeção do agente edematogênico ao final de cada intervalo de tempo.

A intensidade da resposta inflamatória (volume do edema) exibida pelos grupos que sofreram tratamento farmacológico com Nimesulida foi comparada ao seu controle, sendo a atividade anti-edematogênica da Nimesulida calculada através da equação abaixo, em termos de porcentagem de inibição, de acordo com o proposto por Karthikeyan e Deepa (2011):

$$(\%I) = [(Vc - Vt) / Vc] \times 100$$

%I = Percentual de inibição; Vc: Volume do edema de pata dos animais não tratados. Vt: Volume do edema de pata dos animais tratados com Nimesulida. Vc-Vt = Diferença entre o volume da pata do grupo não tratado e grupo tratado.

A avaliação dos resultados da severidade da resposta inflamatória aguda foi de acordo com os valores absolutos obtidos do edema de pata e analisada através de comparação intragrupo (GCf vs GOgf vs GOglf) e entre grupos (GCf vs GCf-N, GOgf vs GOgf-N e GOglf vs GOglf-N). Em adição, o percentual de alteração do volume da pata, quando comparada ao seu grupo controle (100%), também foi considerado.

5.5.1 Dosagem de IL-6 e TNF- α em homogenato da região subplantar

A raspagem de células da região subplantar das patas dos filhotes foi realizada logo após a avaliação da severidade da resposta inflamatória aguda. Em seguida, no Departamento de Antibióticos da UFPE, foram homogeneizadas em 500 μ L de solução tampão HTAB (brometo de hexadeciltrimetilamônio, pH 6,0) à 0,5% e armazenadas em um freezer à - 80°C.

Para a caracterização dos níveis de TNF- α e IL-6 foi empregado o método ELISA (sanduíche indireto), utilizando-se kits comerciais específicos (Boster Biological Technology Co. Ltd., Fremont, Califórnia, EUA). As amostras foram testadas em duplicata e os resultados gerados através da comparação da absorbância com as curvas padrões e apresentados em picograma por mililitro (pg/ml).

5.5.2 Atividade da Mieloperoxidase (MPO) no homogenato da região subplantar

Para quantificação da MPO foram utilizadas as mesmas amostras da região subplantar da pata edemaciada dos animais, coletadas e armazenadas conforme já descrito. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 14.000 g por 10 minutos, a 4°C, e o sobrenadante coletado.

A atividade enzimática da mieloperoxidase foi avaliada segundo Bradley et al. (1982). O tecido plantar foi adicionado a 0,5 ml de solução de fosfato de sódio 80mM contendo 0,5 % de hexadeciltrimetilamônio (HTAB). A amostra foi homogeneizada e centrifugada durante 10 minutos a 3000 g. Alíquotas do sobrenadante (10 μ l) foram distribuídas em placa de 96 poços e adicionado 200 μ l da solução de O-dianisidina [5mg de O-dianisidina (Sigma, St. Louis, Missouri, USA), 27 ml de água deionizada,

2,99 ml de tampão fosfato de sódio e 15µl de peróxido de hidrogênio].

A leitura foi realizada 10 minutos após a adição da solução de O-dianisidina a 450nm e a unidade da atividade de MPO foi definida como aquela capaz de converter 1µmol de peróxido de hidrogênio em água em 1 minuto a 22°C. A medida que o peróxido de hidrogênio foi degradado, ocorreu a produção do ânion superóxido, que converteu a o-dianisidina em um composto de cor marrom. Os resultados foram expressos como atividade de MPO/ ml.

5.6 Avaliações *Post mortem*

5.6.1 Determinação da circunferência abdominal e do índice de massa corporal (IMC)

Após a finalização dos experimentos, com os animais ainda sedados, através do uso de uma fita métrica inextensível, foi aferida a circunferência abdominal e comprimento naso-anal dos animais.

A fita métrica foi colocada na região próxima ao início das patas traseiras, circundando a região abdominal; em seguida, foi aferido o comprimento entre a extremidade nasal e a anal para posterior cálculo do IMC [$\text{Peso} / \text{comprimento naso-anal}^2 (\text{g}/\text{cm}^2)$] (NOVELLI et al, 2007).

5.6.2 Determinação do perfil bioquímico e hematológico

Após determinação dos parâmetros murinométricos, uma incisão vertical na região abdominal dos animais foi realizada para obtenção de amostras sanguíneas (5mL) através de punção intracardiaca para determinação das variáveis bioquímicas [Albumina sérica, PCR, glicemia de jejum, colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT)] e contagem total dos leucócitos.

A amostra sanguínea foi centrifugada a 2500g, por 20 minutos, para obtenção do soro e, em seguida o mesmo foi armazenado em freezer, a -20°C, para posterior análise. As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Doenças Metabólicas e Nutricionais da UFRPE, através do uso de um analisador automático Labmax 400® e reagentes específicos labtest®.

5.6.3 Avaliação de peso úmido de órgãos e gordura abdominal

O coração, estômago, rim direito, rim esquerdo, baço, fígado e gordura abdominal foram pesados em balança digital de precisão Marte® AL200, com

capacidade máxima de 200g e variação de 0,01g.

5.6.4 Histologia hepática

Após coletado e pesado, o fígado foi seccionado a um tamanho de aproximadamente 0,5 a 1,0 cm, acondicionado em cassetes para moldagem em bloco e imerso em formalina tamponada a 10% para fixação, em uma proporção 1:30 (volume da amostra para o volume de formalina). Após um período de 24 horas, as amostras foram lavadas com água corrente para remoção total de resíduos formólicos e, posteriormente, imersas em álcool etílico a 70% até seu processamento.

No Laboratório de Pesquisas Citológicas e Moleculares do Centro de Biociências da UFPE as amostras foram incluídas em parafina e seccionadas através de um micrômetro histológico em uma espessura de 4 micrômetros, dispostos em lâminas de vidro, e corados pelo método H&E (hematoxilina e eosina) para posterior análise em microscópio de campo aberto (Olympus BX-50), na objetiva de 40x.

5.7 Análise estatística

A análise estatística e construção dos gráficos foram realizadas no *software Graphpad Prism® 5.0* e os resultados obtidos expressos em média $\pm$ desvio padrão.

O teste de Shapiro Wilk foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis.

Para avaliação do peso corporal, consumo alimentar, glicemia de jejum materna, volume do edema de pata e porcentagem de inibição da Nimesulida foi utilizado o teste de variância ANOVA *two-way* de medidas repetidas, seguido do pós-teste de Bonferroni, quando observada diferença entre os grupos.

Para análise dos parâmetros bioquímicos, quantificação de citocinas, atividade da mieloperoxidase e peso de órgãos úmidos foi utilizado o teste de variância ANOVA *one-way*, seguido do teste de Tukey, quando observada diferença entre os grupos.

Considerado para fins estatísticos o nível de significância de $p < 0,05$ (5%).

6 RESULTADOS

6.1 Matrizes

6.1.1 Evolução ponderal, glicemia de jejum e consumo alimentar

6.1.1.1 Período pré-gestacional

O peso médio das ratas no início do período experimental foi de $50,3 \pm 10,3$ g. Neste momento dois grupos foram formados, segundo a intervenção dietética (GC = Grupo Controle – ração comercial e GO = Grupo Ocidentalizado – ração experimental ocidentalizada). Ao chegar à idade adulta, média de 13 semanas após o início do estudo, as ratas apresentaram diferenças de peso corporal em torno de 21% (GC= $238,5 \pm 13,6$ g e GO= $288,75 \pm 20,4$ g).

Durante a avaliação do consumo alimentar médio semanal foi possível observar no GO uma ingestão alimentar inferior, em torno de 40 a 45% (GC= $137,5 \pm 35,3$ g e GO: $80,6 \pm 13,5$ g, $p < 0,01$), desde a primeira semana de oferta da ração (Figura 5).

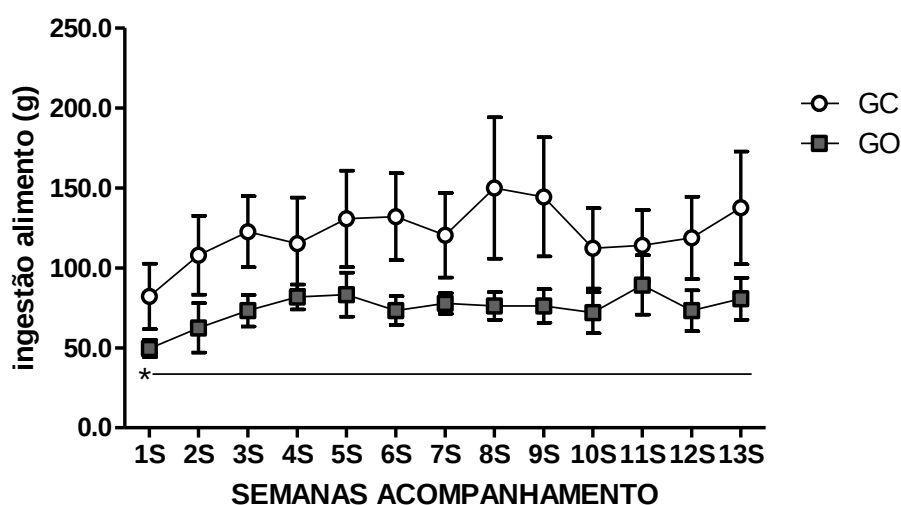


Figura 5: Ingestão alimentar das matrizes durante o período pré-gestacional. GC = Grupo Controle; GO = Grupo ocidentalizado. g:Gramas. S: Semanas. *vs GC. Anova two way de medidas repetidas ($p < 0,01$).

Ao avaliar o CEA, observa-se que em função da quantidade de alimento ingerido, este foi de 10% para o GC e 17% para o GO (GC= $0,10 \pm 0,02$; GO= $0,17 \pm 0,05$, $p < 0,01$). Este coeficiente demonstra a eficiência de ganho de peso em função da quantidade de alimento ingerido, ou seja, a ração ocidentalizada,

mesmo quando ingerida em menor quantidade, possui uma maior eficiência para o aumento do peso corporal.

A determinação da glicemia de jejum aos 30, 60, 90 e 120 dias de vida evidenciou, para o GC, valores de $82,11 \pm 5,88$ mg/dL; $86,33 \pm 4,84$ mg/dL; $88,71 \pm 8,22$ mg/dL; $88,66 \pm 6,80$ mg/dL, respectivamente. Enquanto que, para o grupo GO, respectivamente $81,38 \pm 7,39$ mg/dL; $88,83 \pm 5,80$ mg/dL; $95,61 \pm 4,88$ mg/dL; $128,92 \pm 8,24$ mg/dL, onde a diferença pôde ser observada no 120º dia de vida ($p < 0.001$) (Figura 6).

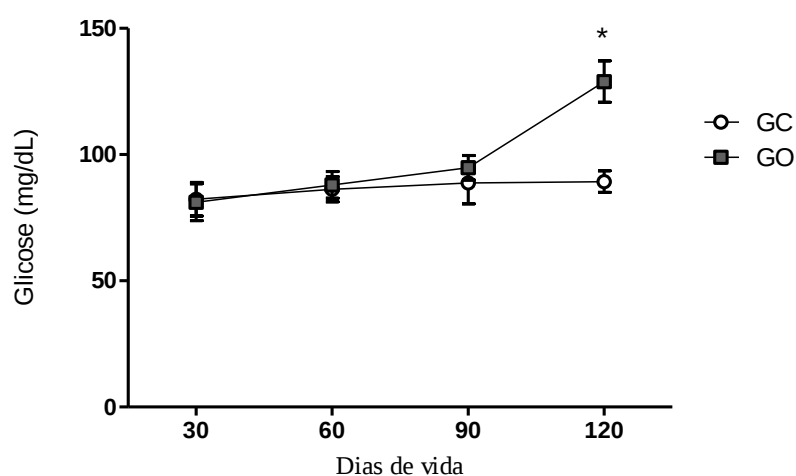


Figura 6: Glicemia de jejum das matrizes do GC e GO, durante o período pré-gestacional, aos 30,60,90 e 120 dias de vida. GC = Grupo controle; GO = Grupo ocidentalizado. mg/dL: Miligrama por decilitro. *vs GC. Anova Two way de medidas repetidas ($p < 0,001$).

6.1.1.2 Gestação

A média da ingestão alimentar semanal entre os grupos durante a gestação também mostrou-se reduzida ($\pm 30\%$) no GO. Na figura 7A podem ser observados os resultados da ingestão alimentar de acordo com a semana gestacional (GC: $138,6 \pm 30,4$ g; $173,3 \pm 30,2$ g; $193 \pm 56,8$ g e GO: $96,4 \pm 20,7$ g; $100,8 \pm 13,8$ g; $115,5 \pm 22,3$ g, respectivamente para 1ª, 2ª e 3ª semana, $p < 0,01$).

A figura 7B reflete a evolução ponderal do período referido (GC: $252,6 \pm 12,2$ g; $268,6 \pm 13,2$ g; $303,7 \pm 15,3$ g. GO: $290,8 \pm 16,5$ g; $306,5 \pm 19,3$ g; $343,2 \pm 23,4$ g, $p < 0,01$, para a 1ª, 2ª e 3ª semana gestacional, respectivamente) e a observação entre a redução do consumo alimentar e aumento de peso corporal, reforçando a associação entre a evolução ponderal e o CEA.

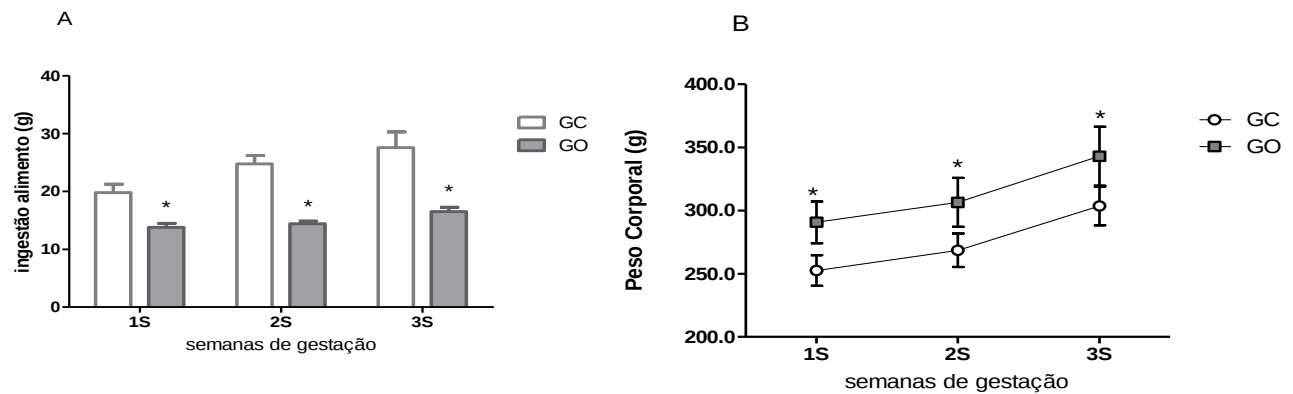


Figura 7: Consumo alimentar (A) e Evolução ponderal (B) de ratas das matrizes do GC e GO, de acordo com a semana gestacional. GC: Grupo controle. GO: Grupo ocidentalizado. g:Gramas. S:Semanas. *vs GC. Anova two way de medidas repetidas ($p < 0,01$).

Quando avaliada a glicemia de jejum, conforme a semana gestacional, foram obtidos respectivos valores para a primeira, segunda e terceira semana: $89,22 \pm 7,41 \text{ mg/dL}$; $94,66 \pm 4,30 \text{ mg/dL}$ e $96,6 \pm 4,89 \text{ mg/dL}$, para o GC e $128,94 \pm 9,84 \text{ mg/dL}$; $132,88 \pm 9,79 \text{ mg/dL}$; $137,05 \pm 9,60 \text{ mg/dL}$, para o GO ($p < 0,001$). A diferença encontrada na 1ª semana permaneceu até a 3ª semana de gestação, conforme figura 8.

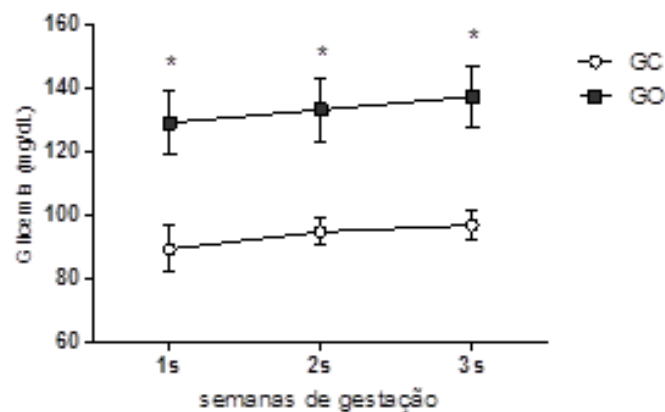


Figura 8: Glicemia de jejum das matrizes do GC e GO, por semana gestacional. GC: Grupo controle. GO: Grupo Ocidentalizado. mg/dL: Miligrama por decilitro. S: Semana. *vs GC. Anova two way de medidas repetidas ($p < 0,001$).

6.1.1.3 Lactação

Ao início da lactação, o GO foi subdividido em GOg e GOgl, de acordo com a intervenção dietética, conforme já descrito no desenho experimental. Curiosamente, apesar do GOg ter consumido ração comercial no período da lactação, a diferença para com o GC, de acordo com os valores glicêmicos, o qual permaneceu 30% mais elevado, peso corporal e ingestão alimentar, com consumo alimentar 37% inferior, se mantiveram durante as três semanas de lactação, reforçando o poder que a dieta ocidentalizada exerce sobre o metabolismo corporal a longo prazo, mesmo quando não é mais consumida. Contudo, quando comparado ao GOgl, apenas uma diferença ponderal na segunda semana de lactação foi observada (Tabela 3).

Tabela 3: Glicemia de jejum, peso corporal e consumo alimentar das matrizes durante a 1^a, 2^a e 3^a semana de lactação.

SEMANA DE LACTAÇÃO			
GRUPO	1 ^a	2 ^a	3 ^a
Glicemia de jejum			
GC (mg/dL)	94,11±5,96	97±7,05	97,77±6,47
GOg (mg/dL)	128,22±6,07*	126,11±5,60*	123,66±6,70*
GOgl (mg/dL)	124,66±7,74*	124,44±6,32*	126,44±5,59*
Peso corporal			
GC (g)	258,8±11,50	258,1±16,20	260,2±12
GOg (g)	285±12,50*	275,5±10,40*	276,1±8,30*
GOgl (g)	296,3±18,10*	293,9±16,40* [†]	286,3±14,30*
Consumo alimentar			
GC (g)	244,7±60,00	281,6±42,50	301,2±44,10
GOg (g)	152,4±19,80*	179,1±20,90*	185,9±21,40*
GOgl (g)	127±23,00*	139,5±30,50*	146,7±32,80*

Resultados expressos em média±DP. GC: Grupo controle. GOg: Grupo ocidentalizado do pré gestacional até o 21º dia de gestação. GOgl: Grupo ocidentalizado do pré gestacional até o desmame. mg/dL: Miligrama por decilitro. g: Gramas..*vsGC.[†]vsGOg. Anova two way de medidas repetidas, seguida do pós-teste de Bonferroni (p<0,001).

6.2 Prole

6.2.1 Antropometria e consumo alimentar

As diferenças entre o tipo de ração consumida, a quantidade de ração ingerida e o peso corporal das ratas não refletiram alterações no peso médio da prole ao nascer ($GCf=6,5\pm0,5g$; $GOgf=6,4\pm0,5g$; $GOglf=6,5\pm0,8g$, $p=0,55$), no número de filhotes por ninhada ($GCf=10,44\pm1,66$; $GOgf=11,88\pm2,31$, $GOglf=11,55\pm2,12$, $p=0,13$) ou na proporção fêmea:macho por ninhada, onde o $GCf=5,33\pm1,00$; $GOgf=5,66\pm1,50$; $GOglf=5,66\pm1,22$ para as fêmeas ($p=0,51$) e, para os machos: $GCf=5,11\pm1,16$ e $GOgf=6,22\pm1,30$; $GOglf=5,88\pm1,36$ ($p=0,07$).

Ao desmame, diferenças ponderais também não foram observadas ($p>0,05$). Contudo, aos 60 dias de vida essa diferença pôde ser vista ($GCf=258,9\pm26,0g$; $GOgf=294,9\pm8,2g$; $GOglf=291,1\pm21,2g$, $p<0,01$) (figura 9). Porém, quando avaliado o peso do $GOgf$ vs $GOglf$, não foram observadas diferenças ($p>0,05$).

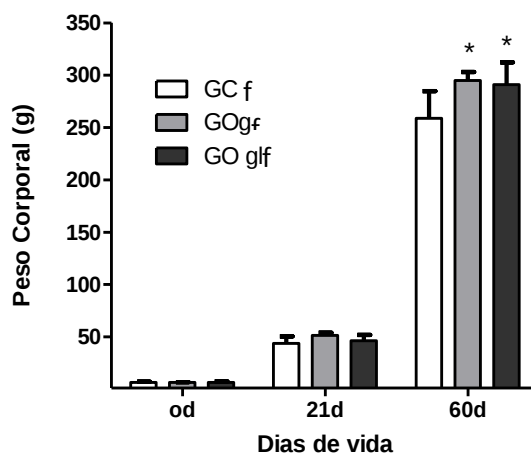


Figura 9: Avaliação ponderal do GCf, GOgf e GOglf ao nascimento (0d), ao desmame (21d) e aos 60 dias de vida. GCf: Filhotes do grupo controle. GOgf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidental do período pré gestacional até o 21º dia de gestação. GOglf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidental do período pré gestacional até o desmame. g: Gramas. d: Dias. *GOgf e GOglf vs GCf. Anova two way de medidas repetidas, seguido do pós- teste de Bonferroni ($p<0,01$).

Além da diferença ponderal, aos 60 dias de vida, os filhotes do GO também exibiram um aumento da circunferência abdominal ($GCf=14,41\pm1,33$; $GOgf=15,9\pm0,5cm$; $GOglf=15,4\pm0,7cm$, $p<0,05$) e alteração no comprimento ($GCf=20,95\pm0,66cm$; $GOgf=21,6\pm0,5cm$; $GOglf=22\pm1,1cm$, $p<0,05$). O índice de massa corporal não diferiu entre os grupos ($GCf=1,25\pm0,21$; $GOgf=1,20\pm0,11g/cm^2$,

$p=0,89$), o que pode ser justificado pelo fato do GOgf e GOglf terem além do maior peso, maior comprimento.

O consumo alimentar médio semanal da prole, avaliado desde o 22º ao 60º dia de vida, variou ao longo das semanas de observação, conforme demonstrado na figura 10, onde pode ser observado aumento da ingestão alimentando GOgf, quando comparado ao GCf (GOgf: 144,2g e GCf: 118,4g, $p<0,05$) na segunda semana após desmame.

Entretando, a partir da 4ª semana de acompanhamento pôde ser observado aumento do consumo alimentar da prole GOglf, quando comparado aos demais (4ª semana: GOglf: 159,6g, GOgf: 138g e GCf: 130g, $p<0,05$; 5ª semana: GOglf: 168,3g, GOgf: 132,8g e GCf: 130,6g; $p<0,001$).

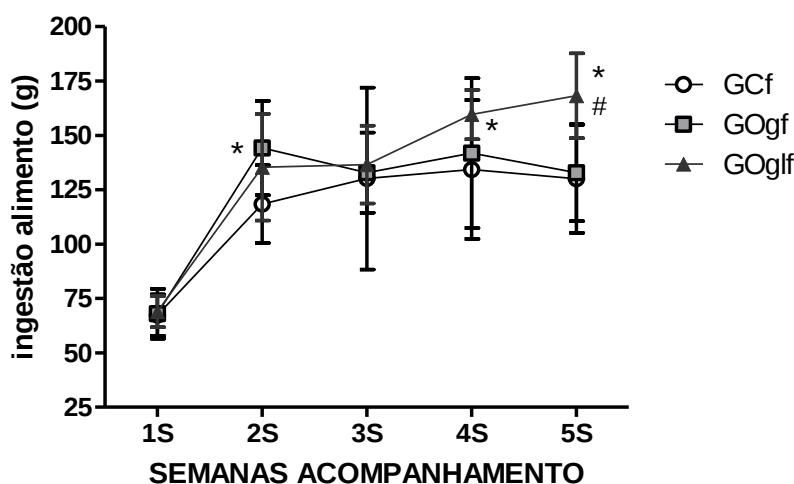


Figura 10: Consumo alimentar da prole GCf, GOgf e GOglf, do 22º ao 60º dia de vida. GCf: Filhotes do grupo controle. GOgf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidentalizada do período pré gestacional até o 21º dia de gestação, com ração comercial durante lactação. GOglf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidentalizada do período pré gestacional até o desmame. g: Gramas. S: Semanas. *GOgf e GOglf vs GCf. #GOgf vs GOglf. Anova two way de medidas repetidas, seguido do pós-teste de Bonferroni ($p<0,01$).

6.2.2 Severidade da resposta inflamatória aguda

Quando avaliada a intensidade da resposta inflamatória entre os grupos não tratados não foram observadas diferenças ($p>0,05$), sugerindo que o tipo de dieta consumida pelas matrizes e seu estado nutricional desde o período de pré-concepção pode ter repercutido em uma adaptação metabólica em seus filhos, não

refletindo na exacerbação da resposta inflamatória aguda aos 60 dias de vida. Entretanto, apesar de não ter havido uma diferença da resposta inflamatória aguda entre os grupos, uma maior alteração no volume da pata do GOglf [120min (+15%), 180min (+26%), 240min (+22%)] e GOgf [240min (+37%)] foi observada.

Na tabela 4 é possível observar as alterações de volume do edema da pata traseira esquerda dos animais não tratados, após aplicação do agente edematogênico (carragenina).

Tabela 4: Média do volume (ml) de pata dos grupos GCf, GOgf e GOglf (n = 6 animais/grupo) com edema de pata induzido por injeção de carragenina na região subplantar (0,1mL).

EDEMA DE PATA (mL)			
TEMPO/GRUPO	GCf	GOgf	GOglf
30 minutos	0,24±0,07 (100%)	0,11±0,02 (-54%)	0,20±0,08 (-17%)
60 minutos	0,31±0,13 (100%)	0,24±0,03 (-22%)	0,29±0,13 (-6%)
90 minutos	0,44±0,23 (100%)	0,38±0,05 (-14%)	0,43±0,11 (-2%)
120 minutos	0,54±0,08 (100%)	0,54±0,05 (100%)	0,62±0,17 (+15%)
180 minutos	0,49±0,22 (100%)	0,50±0,10 (+2%)	0,62±0,17 (+26%)
240 minutos	0,27±0,09 (100%)	0,37±0,07 (+37%)	0,33±0,12 (+22%)

Resultados expressos em média±DP. Comparação intragrupo. GCf: Filhotes do grupo controle. GOgf: Filhotes do grupo ocidentalizado que recebeu dieta ocidentalizada até o 21º dia de gestação e dieta comercial durante a lactação. GOglf: Filhotes do grupo ocidentalizado que recebeu dieta ocidentalizada até o desmame. () Percentual de alteração do volume da pata em relação ao GCf. Anova two way de medidas repetidas (p>0,05).

Para todos os grupos submetidos a tratamento com Nimesulida houve menor severidade da resposta inflamatória (a partir dos 120 minutos para o GCf-N e dos 90 minutos para o GOgf-N e GOglf-N) quando comparados aos seus respectivos

grupos não tratados ($p < 0,05$), o que pode ser inferido à ação da Nimesulida. Ao analisar a eficácia farmacológica da Nimesulida, foi observado maior percentual de inibição nos animais oriundos dos grupos ocidentais a partir dos 90 minutos, para o GOglf-N, e dos 120 minutos, para o GOglf-N *versus* o GCf-N ($p < 0,05$) (Figura 11).

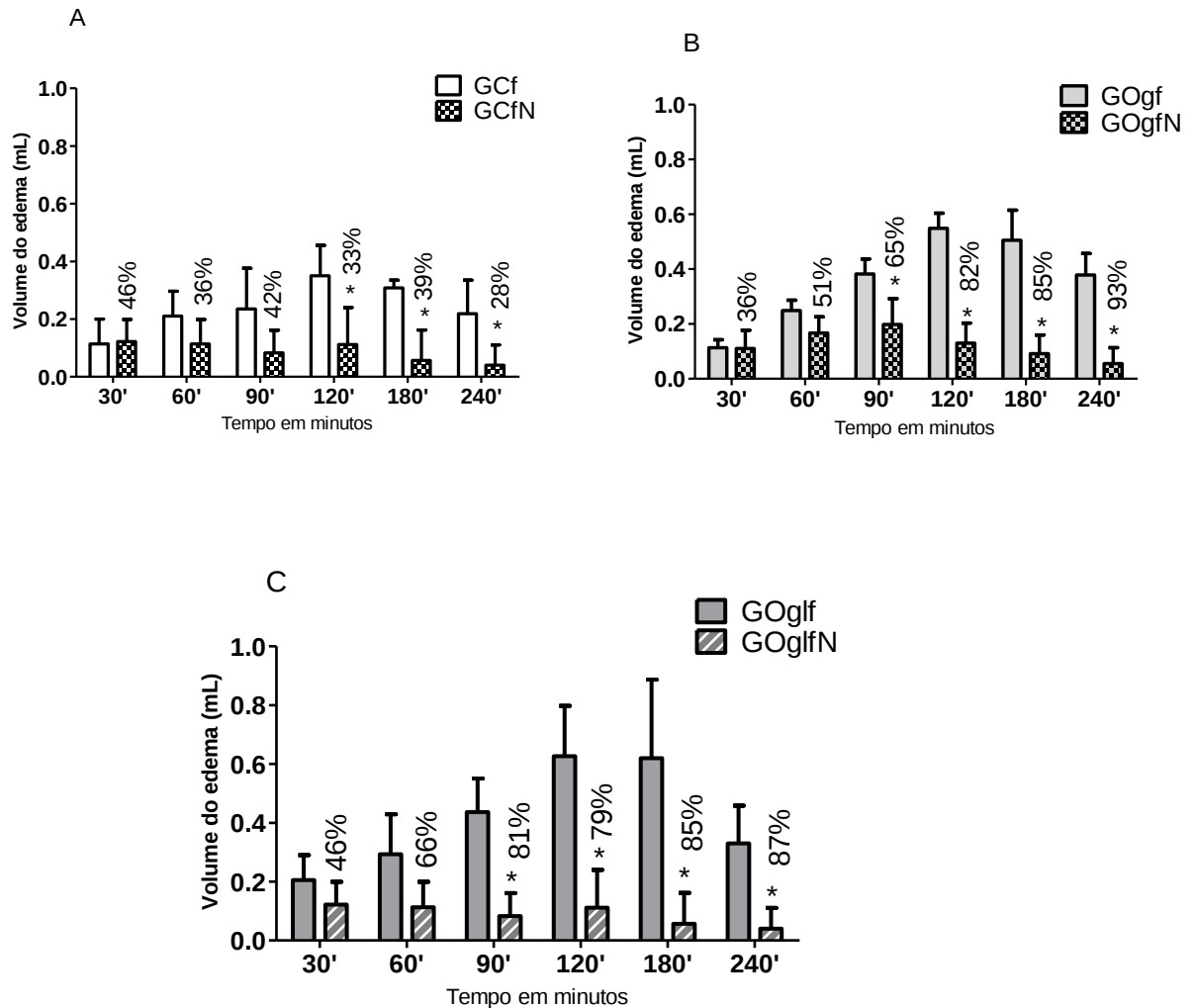


Figura 11: Comparação entre grupos do efeito da nimesulida (10mg/kg) sobre o edema de pata induzido no GCf (A), GOgf (B) e GOglf (C). %: Percentual de inibição da Nimesulida em cada intervalo de tempo. *Comparação entre cada grupo tratado e seu respectivo controle (GCf vs GCf-N, GOgf vs GOgf-N e GOglf vs GOglf-N). Anova two way de medidas repetidas, seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

6.2.3 Dosagem de IL-6, TNF- α e MPO no homogenato da região subplantar

Para os grupos não tratados, foi identificado que os animais oriundos dos grupos ocidentais apresentaram maiores concentrações de todos os parâmetros analisados ($p < 0,05$). Em adendo, o GOglf apresentou IL-6 mais elevada *versus* o

GOgf ($p<0,05$). Para os grupos tratados com Nimesulida os descendentes dos grupos ocidentais também obtiveram maiores valores de IL-6, TNF- α e MPO ($p<0,05$). Quando verificadas as diferenças entre grupos foi visto que o GCf-N apresentou TNF- α e MPO inferior ao GCf; GOgf-N menor atividade da MPO, quando comparado ao seu par não tratado e, para o GOglf-N, menores valores de IL-6 e MPO *versus* o GOglf ($p<0,05$) (tabela 5).

Tabela 5: IL-6, TNF- α e MPO no homogenato da região subplantar dos animais não tratados e tratados com Nimesulida, após 240 minutos de aplicação da carragenina (0,1ml), aos 60 dias de vida.

GRUPO/ CITOCINA	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	MPO (MPO/ml)
ANIMAIS NÃO TRATADOS			
GCf (n=6)	212 $\pm$ 22,80	410 $\pm$ 41,70	0,327 $\pm$ 0,04
GOgf (n=6)	465 $\pm$ 47,19*	453 $\pm$ 46,70*	0,812 $\pm$ 0,89*
GOglf (n=6)	534 $\pm$ 53,27* [‡]	452 $\pm$ 55,20*	0,841 $\pm$ 0,12*
ANIMAIS TRATADOS			
GCf-N (n=6)	205 $\pm$ 22,50	318 $\pm$ 51,30*	0,102 $\pm$ 0,08*
GOgf-N (n=6)	380 $\pm$ 36,55 [†]	403 $\pm$ 43,25 [†]	0,128 $\pm$ 0,01 ^{†‡}
GOglf-N (n=6)	503 $\pm$ 51,60 ^{†‡}	435 $\pm$ 23,10 [†]	0,128 $\pm$ 0,04 ^{†‡}

Resultados expressos em média $\pm$ DP. Comparação intra e entre grupos. GCf: Filhotes do grupo controle. GCf-N: Filhotes do grupo controle tratados com nimesulida. GOgf: Filhotes do grupo ocidentalizado que recebeu ração ocidentalizada até o 21º dia de gestação e ração comercial durante a lactação. GOgf-N: Filhotes do grupo ocidentalizado que recebeu ração ocidentalizada até o 21º dia de gestação e que foram tratados com nimesulida. GOglf: Filhotes do grupo ocidentalizado que recebeu ração ocidentalizada até o desmame. GOglf-N: Filhotes do grupo ocidentalizado que recebeu ração ocidentalizada até o desmame e que foram tratados com nimesulida. n=Número de animais por grupo. N= Nimesulida. IL-6: Interleucina 6. TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa. MPO: Mieloperoxidase. Pg/ml: Picograma por mililitro. MPO/ml: Quantificação da Mieloperoxidase por mililitro. *vsGCf. [†]vsGCf-N. [‡]vs GOgf. [‡]vsGOglf. Anova Two way, seguido do pós-teste de Tukey ($p<0,01$).

6.2.4 Avaliações *post mortem*

6.2.4.1 Peso úmido de órgãos

Quando avaliada a quantidade de gordura da região abdominal, o GOglf apresentou maior adiposidade (GOglf: $6,2 \pm 2$ g; GOgf: $5,8 \pm 0,4$ g; GCf: $4,3 \pm 1,2$ g, $p < 0,05$). Entretanto, para o fígado (GCf: $4,08 \pm 0,45$ g; GOgf: $3,92 \pm 0,14$ g; GOglf: $3,85 \pm 0,33$ g) e rins, coração, estômago e baço, não houveram diferenças ($p < 0,05$).

6.2.4.2 Parâmetros bioquímicos

Quando avaliada a contagem de leucócitos totais dos animais não tratados, os valores observados foram mais elevados nos descendentes dos grupos ocidentalizados ($p < 0,0001$). Todavia, não houve diferença entre o GOgf e GOglf ($p > 0,05$). Para os grupos tratados, foram observadas diferenças entre todos os grupos ($p < 0,05$). Dentre eles, destaca-se o GOglf-N, que apresentou maior recrutamento leucocitário.

A AST apresentou-se mais elevada no GOglf ($p < 0,05$). Contudo, quando avaliados os grupos tratados com Nimesulida, a AST se mostrou inferior nos grupos expostos à dieta ocidental, quando comparados aos seus pares não tratados ($p < 0,05$). A ALT não diferiu na comparação intragrupos (tratados e não tratados). Entretanto, na comparação entre grupos foi mais elevada no GOgf-N *versus* GOgf ($p < 0,05$).

Para a glicemia, no grupo não tratado, maior valor foi encontrado na prole GOglf, apenas ($p < 0,05$). Os demais achados de colesterol total, triglicerídeos, PCR e albumina não diferiram entre os grupos ($p > 0,05$) e, na tabela 6, estão descritos todos os parâmetros bioquímicos analisados.

Tabela 6: Parâmetros bioquímicos dos animais não tratados e tratados com Nimesulida, aos 60 dias de vida.

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS/ GRUPO	ANIMAIS NÃO TRATADOS		
	GCf (n=6)	GOgf (n=6)	GOglf (n=6)
Leucograma (mil/mm ³)	7.014±1.01	10.130±1.54*	10.330±1.37*
Proteína C Reativa (mg/L)	5,93±0,11	6,01±0,08	6,13±0,16
AST (U/L)	35,35±8,18	56,76±16,00	64,92±20,81*
ALT (U/L)	132,7±37,62	107,9±42,51	124,4±46,95
Colesterol Total (mg/dL)	52,48±16,17	61,09±14,66	57,50±12,69
Glicemia de jejum (mg/dL)	96,5±7,14	107±6,98	118,5±19,10*
Triglicerídeos (mg/dL)	25,84±7,16	34,45±8,53	30,59±8,54
Albumina (g/dL)	2,33±0,09	2,26±0,05	2,26±0,08
	ANIMAIS TRATADOS		
	GCf-N (n=6)	GOgf-N (n=6)	GOglf-N (n=6)
Leucograma (mil/mm ³)	6.333±1.11	10.110±1.20 [#]	15.740±1.86 ^{#†}
Proteína C Reativa (mg/L)	5,94±0,12	5,99±0,26	6,09±0,42
AST(U/L)	39,37±7,58	40,59±4,09 ^β	45,73±2,73 ^α
ALT(U/L)	143,6±32,40	154,1±21,16 ^β	160,7±18,04
Colesterol Total (mg/dL)	57,60±22,21	71,47±13,80	70,29±9,50
Glicemia de jejum(mg/dL)	114,5±13,42	116±10,80	119,8±23,50
Triglicerídeos(mg/dL)	27,16±6,57	32,98±7,33	30,83±6,09
Albumina(g/dL)	2,25±0,10	2,27±0,08	2,30±0,05

Valores expressos em média ± DP. Comparação intra e entre grupos. GCf: Filhotes do grupo controle. GCf-N: Filhotes do grupo controle tratados com nimesulida. GOgf: Filhotes do grupo ocidentalizado gestação. GOgf-N: Filhotes do grupo ocidentalizado gestação que foram tratados com nimesulida. GOglf: Filhotes do grupo ocidentalizado gestação e lactação. GOglf-N: Filhotes do grupo ocidentalizado gestação e lactação e que foram tratados com nimesulida. AST: Aspartato aminotransferase. ALT: Alanina aminotransferase. Mil/mm³: Mil por milímetro cúbico. mg/dL: Miligrama por decilitro. U/L: Unidade por litro. g/dL: Grama por decilitro. *vs GCf. [#]vsGCf-N. [†]vsGOgf-N. ^βvsGOgf. ^αvsGOglf. Anova *One way*, seguido do pós-teste de Tukey (p<0,05).

6.2.4.3 Histologia hepática

Os resultados obtidos pela análise histológica não identificaram diferenças estruturais entre os grupos tratados e não tratados (p>0,05), evidenciando que a

dose utilizada da Nimesulida (10 mg/kg v.i.p) não causou dano ao tecido. Na figura 12 pode ser observada leve infiltração lipídica nos hepatócitos do GCf (12A). E, ao analisar o GOgf (12B) e GOglf (12C) maior acúmulo de lipídios e sinais de processo inflamatório, com infiltrado leucocitário proeminente no GOglf, foram observados ($p<0,05$).

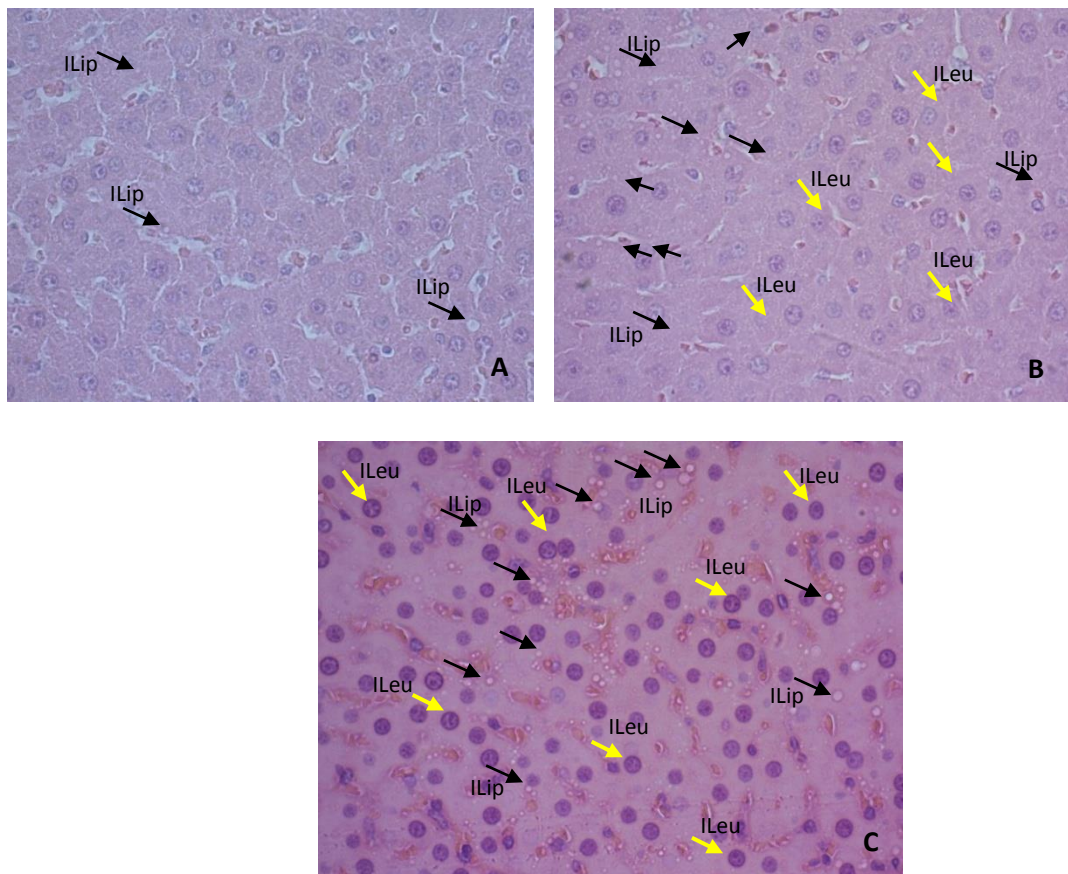


Figura 12: Fotomicrografias do fígado de um animal do GCf (A), GOgf (B) e GOglf (C) após avaliação da severidade da resposta inflamatória aguda, aos 60 dias de vida. Setas pretas evidenciam o infiltrado lipídico (ILip) e as setas amarelas o infiltrado leucocitário (ILeu). Coloração com Hematoxilina e Eosina (HE), observados através de objetiva de 40x.

7 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo corroboram com achados prévios, onde foram observadas repercussões adversas no estado nutricional e metabólico da prole a depender do estado nutricional (RAMONIENÉ et al., 2017) e da alimentação materna (KUNZ; KING, 2007. CATALANO et al., 2009).

A oferta de dieta ocidental para as ratas no período pré-gestacional impactou em aumento ponderal de 21% ao início da gestação. Este peso elevado associado à continuidade da ingestão da dieta ocidentalizada durante a gestação e lactação promoveu nos descendentes: maior peso corporal, aumento da circunferência e adiposidade abdominal, elevado consumo alimentar, maior produção de citocinas inflamatórias frente a um estímulo agudo e alteração da homeostase da glicose aos 60 dias de vida, apesar dos filhotes receberem ração comercial após o desmame.

A diferença ponderal observada entre as matrizes do GC e GO no período de pré-concepção corrobora com o já descrito por Buettner et al. (2007), onde a indução da obesidade pelo consumo de uma ração rica em gordura é mais efetiva quando iniciada em roedores jovens e continuada por várias semanas, levando ao aumento ponderal de 10-20% na idade adulta.

A hiperglicemia encontrada nas matrizes do GO do presente estudo, durante todo período experimental, pode ser inferida ao excesso de tecido adiposo e de ácidos graxos livres circulantes, que promovem a ativação de receptores denominados TLR-4 (receptor toll like 4), presentes na membrana plasmática, desencadeando a ativação de vias inflamatórias que vão interferir na sinalização da insulina para captação de glicose para o meio intracelular (DASU; JIALAL, 2010).

Morais, em 2012, ofertou dieta ocidental a matrizes durante a gestação e lactação e, apesar da dieta ter sido composta por apenas 23% de lipídio como fonte energética, já foi possível observar menor consumo alimentar em gramas de ração/semana. Esse dado vai ao encontro do observado no estudo vigente, onde o consumo alimentar semanal das matrizes do GO, que receberam uma dieta com 34% de lipídios, foi reduzido durante o período pré gestacional, gestação e lactação

e tal achado pode ser inferido a composição dietética e ao efeito diferencial dos macronutrientes na saciedade (KONTUREK et al, 2004).

Little e Feinle-bisset (2010) observaram que a presença de lipídios no trato gastrointestinal provoca a liberação de hormônios intestinais, a exemplo da colecistocinina, peptídeo semelhante ao glucagon 1 e peptídeo YY, assim como retardo do esvaziamento gástrico (LITTLE; HOROWITZ; FEINLE-BISSET, 2007), que, em conjunto, contribuem para supressão da fome e, conseqüentemente, redução da quantidade de alimento consumido.

As diferenças observadas nas matrizes não repercutiram no tamanho da ninhada, proporção macho:fêmea e peso de seus filhos ao nascimento. Fato semelhante ao observado por Connor et al. (2012), que utilizou uma dieta ocidental experimental contendo 45% de lipídios e Purcell et al. (2011), que ofertou uma dieta com 60% de gordura nas matrizes durante a gestação e lactação.

Esta indiferença mantém-se ao desmame, onde também não foram observadas diferenças ponderais entre as proles, indo contra ao encontrado por Ferro Cavalcante et al., (2014), que observou aumento ponderal de 14% na prole exposta à dieta ocidental e Vitoréli et al. (2015), a qual observou não só maior peso, como também maior adiposidade corporal aos 21 dias de vida da prole de mães obesas expostas à ração hiperlipídica (45% de lipídios) durante a gestação e lactação. Tal diferença parece ser justificada pelo teor de lipídios das dietas experimentais, onde, no presente estudo, o percentual de gordura ofertado foi de 34%, sendo inferior aos demais.

Aos 60 dias de vida diferenças antropométricas puderam ser observadas, onde as proles oriundas do GO apresentaram maior peso corporal, comprimento e circunferência abdominal, sem diferenças de IMC, evidenciando o efeito a longo prazo do estado nutricional e consumo alimentar materno desde o período pré-gestacional sobre seus descendentes, corroborando com o encontrado por Bayol et al., (2007) que, ao ofertar uma dieta ocidental às matrizes durante a gestação e lactação, observou aumento ponderal e da circunferência abdominal na prole aos 70 dias de vida, e ao observado por Srinivasan e cols. (2006), que observaram que ratas que consumiam dieta hiperlipídica do período pós-natal precoce até o final da lactação tinham descendentes com maior peso corporal após os 60 dias de vida.

O aumento ponderal e de circunferência abdominal observados na prole do presente estudo, provavelmente, pode ser inferido a alterações epigenéticas *in útero*, que resultam em modificações covalentes das histonas e/ou metilação do DNA (SUTER et al., 2011), assim como pode ser decorrente de um maior consumo energético dessa prole, com consequente hipertrofia dos adipócitos devido ao armazenamento do excesso energético sob forma de triacilgliceróis (MIELKE et al., 2006. GOULARTE et al., 2012).

No GOglf maior consumo alimentar foi encontrado ao final das semanas de acompanhamento. Isso sugere uma modulação do sistema nervoso central em decorrência da longa exposição à ração ocidental (gestação e lactação) e ao estado nutricional materno. Esse achado corrobora com o observado por Chang e cols. (2008), que detectaram mudanças na atividade de peptídeos neurais relacionados à regulação da fome e da saciedade em filhotes de mães que consumiram dieta rica em gordura durante a gestação e lactação e justificou que tal fato pode ser inferido ao estímulo, proliferação e diferenciação de neurônios, com migração para áreas hipotalâmicas onde há expressão de peptídeos orexigênicos, influenciando na produção de mudanças comportamentais e fisiológicas em longo prazo.

O padrão alimentar ocidental, que tem como característica elevado consumo de alimentos com alta densidade energética, gordura saturada, açúcares simples e sódio (NAZNI, 2014; COELHO et al., 2015), é capaz de aumentar o estresse oxidativo e induzir a transcrição de mediadores inflamatórios (AROR et al., 2017). Quando adotado por mulheres desde o período pré-gestacional até o desmame, pode predispor seus descendentes a desordens metabólicas (McCURDY et al., 2009; RAMONIENÉ et al., 2017) por estar intimamente ligado a condições de estresse oxidativo e estado inflamatório aumentados (SUNG et al., 2013; BONAMICHI; LEE, 2017), repercutindo em uma inadequação do estado nutricional e na exacerbação de diferentes mediadores pró inflamatórios (KANG et al., 2016).

A hipótese das Origens do Desenvolvimento da Saúde e da Doença (DOHaD) é de que os períodos de pré-concepção e, principalmente, gestação e lactação possuem importante influência sobre o desenvolvimento da obesidade e de distúrbios metabólicos dos descendentes na vida adulta, ao especular que o feto tem adaptações preditivas em resposta a pistas do ambiente intra-uterino, resultando em

ajustes permanentes nos sistemas homeostáticos para ajudar na sobrevivência imediata diante de uma situação adversa no ambiente pós-natal (FERNANDEZ-TWINN; OZANNE, 2010).

Ao analisar as repercussões da alimentação e estado nutricional materno sobre a severidade da resposta inflamatória aguda em seus filhos foi possível observar que entre os grupos não tratados (GCf, GOgf, GOglf) não houve diferenças, sugerindo que o excesso de peso materno decorrente da adoção da dieta ocidentalizada desde o período pré-gestacional pode ter levado a uma adaptação metabólica nas matrizes, repercutindo em uma menor severidade da resposta inflamatória aguda da prole aos 60 dias de vida. Esse achado corrobora com o descrito por Pantham, Aye e Powwel (2015), que evidenciaram que alterações nos teores de citocinas inflamatórias do plasma de mães obesas desde o período pré-gestacional não refletem modificações similares na circulação fetal. Dessa forma, os prejuízos da inadequação alimentar e nutricional materna, provavelmente, estão mais associados ao impacto da inflamação exacerbada na função placentária do que na exposição do feto ao excesso de fatores inflamatórios (AYE et al., 2014), não implicando em um aumento da severidade da resposta inflamatória aguda nos descendentes na vida mais tardia.

Thaler et al. (2012), em seu estudo com roedores e humanos, observou que ao contrário da inflamação que ocorre após a hipertrofia dos adipócitos, a inflamação induzida pela exposição a uma dieta hiperlipídica ocorre apenas 24 horas antes que o ganho de peso seja significativo. No seu grupo de roedores que receberam dieta experimental com 54% de lipídios, após 4 semanas, foi observada expressão aumentada de marcadores pró-inflamatórios no hipotálamo, mas não em outros tecidos (CESAR; PISANI, 2017). Dessa forma, a ausência de alterações a um agravo cutâneo pode ser justificada pelo fato dos descendentes terem se alimentado com dieta comercial padrão ao desmame, minimizando as repercussões da dieta ocidentalizada.

Iannitti e colaboradores (2012) avaliaram e compararam a evolução do edema de pata em ratos Zucker, com obesidade geneticamente induzida *versus* eutróficos (± 80 dias de vida), após aplicação de carragenina e observaram maior severidade da resposta inflamatória nos animais com maior peso corporal, sem tratamento, em

torno das 4 horas após início da injúria. Entretanto, em roedores, a obesidade geneticamente induzida provê aumento ponderal a partir da 3^a-5^a semana de idade e pode levar a uma alteração da composição corporal onde cerca de 40% está sob forma de gordura (CLEARY et al., 1980), potencializando as repercussões da obesidade para com o processo inflamatório agudo, justificando o observado por Iannitti. Quanto a obesidade induzida por dieta em ratos, esta é a que mais se assemelha com a gênese e com as respostas metabólicas, especificamente da função endotelial, decorrentes da obesidade em humanos (ROSINI et al., 2012), viabilizando os resultados obtidos no presente estudo, apesar de não ter sido encontrada diferença da severidade da resposta inflamatória aguda entre os grupos.

Para todos os grupos tratados com Nimesulida e comparados a seus respectivos pares não tratados, a severidade da resposta inflamatória foi inferior. Fato já esperado, visto que o AINE utilizado atua na inibição seletiva e acentuada da enzima COX-2, a qual está relacionada com a biossíntese de prostanóides inflamatórios formados a partir do ácido araquidônico (PHAM et al., 2016), provendo uma redução da produção de exudatos e prostaglandinas pró-inflamatórias, exercendo efeitos benéficos sobre a inflamação.

Dentre os grupos de descendentes tratados (GCf-N, GOgf-N e GOglf-N) foi verificado que a prole das matrizes do GO, inusitadamente, apresentaram menor severidade da resposta inflamatória. Em contrapartida, o percentual de inibição da Nimesulida se mostrou superior a partir dos 90 e 120 minutos, para o GOglf-N e GOgf-N, respectivamente, sugerindo uma maior ação da Nimesulida com intuito de amenizar o desequilíbrio entre os mediadores anti e pró-inflamatórios.

Em 2016, Sousa, Neto e Partata verificaram que a Nimesulida é rapidamente distribuída após administrada (volume aparente de distribuição: 0,18 - 0,39 L/Kg) e que se liga fortemente à albumina (cerca de 99%). Dessa forma, menos de 1% da concentração total plasmática está disponível para se distribuir nos tecidos extra vasculares, como o tecido adiposo, não havendo alteração da eficácia farmacológica da Nimesulida em animais com maior gordura corporal, justificando os achados do presente estudo.

A ingestão de dieta ocidentalizada pelas mães do período pré-concepção, gestação e/ou gestação e lactação demonstrou na prole, em longo prazo, aumento de mediadores inflamatórios, como IL-6 e TNF- α , em ambos os grupos, tratados e

não tratados, sendo este um fato característico da inflamação subcrônica. A exposição precoce de filhotes a uma dieta hiperlipídica na vida intrauterina e pós-natal também é inferida como causa da elevação de marcadores inflamatórios por favorecer a ação de receptores Toll-like 4, que ativam vias relacionadas a fatores de transcrição de citocinas inflamatórias nos hepatócitos, adipócitos, músculos e sistema imune (SABEN et al., 2013) e por ativar o signal transducer-activated transcription factor (STAT 3) e p38-mitogen-activated protein kinase (p38-MAPK) que são transmitidos à prole via uteroplacentária (AYE et al., 2014), repercutindo na exacerbação do IL-6 e TNF- α na vida mais tardia.

Além de estarem envolvidos no estado inflamatório subclínico, a IL-6 e TNF- α parecem estar relacionados ao aumento significativo da ingestão de alimentos durante os primeiros dias de vida, o que foi observado nos descendentes do GO, principalmente no GOglf. Isso mostra uma possível alteração epigenética decorrente da ligação entre inflamação hipotalâmica decorrente da gliose [resposta do SNC à lesão neural induzida por dieta rica em gordura saturada, caracterizada por recrutamento, ativação e proliferação de células neuro-imunes (SOFRONIEW, 2009)] e aumento da ingestão energética antes da instalação da obesidade (THALER et al., 2012).

O estado inflamatório subclínico dos descendentes do GO também é respaldado pelo aumento de leucócitos no soro plasmático, independente do tratamento com Nimesulida. Esse resultado pode ser inferido pela hipertrofia dos adipócitos, que tem como consequência o aumento da secreção de quimioatratores e citocinas pró-inflamatórias, tais como o TNF- α , as IL-1 e IL-6 e a PCR (PREMANATH et al., 2016), acarretando em uma disfunção dos adipócitos, resultando em um recrutamento adicional de células do sistema imune (GUILHERME et al., 2008; MCARDLE et al., 2013; NAGAHARA et al., 2016).

Maior quantidade de tecido adiposo abdominal foi observado no GOglf e, apesar do presente estudo não ter realizado a avaliação da hipertrofia adipocitária, é provável que essas células estejam hipertrofiadas, acarretando no desequilíbrio de citocinas e adipocinas derivadas do tecido adiposo para um estado pró-inflamatório (SEGOVIA et al., 2014), com consequente elevação de IL-6 e TNF- α (YEH, 2004). Na vigência da elevação dessas citocinas, é esperado que a proteína c reativa também esteja aumentada, entretanto isso não foi observado na presente pesquisa,

o que, possivelmente, pode ser inferido ao fato da PCR atuar como marcador não específico da inflamação sistêmica de baixo grau (YEH, 2004).

Um indicador da peroxidação lipídica e da formação de ecoisanoídes bioativos, que são fundamentais no processo inflamatório, é a expressão da MPO (ZHANG et al., 2002) que, no presente estudo, se mostrou elevada nos descendentes do GO tratados ou não tratados, reforçando os danos à longo prazo da prole de mães alimentadas com dieta ocidental desde o período de pré-concepção até a gestação e/ou até o desmame.

O impacto da adaptação metabólica decorrente da oferta de dieta ocidental desde o período pré-gestacional também pôde ser observado na glicemia da prole exposta à dieta ocidental até o nascimento, visto que o GOgf não apresentou alterações glicêmicas. Esse achado difere do encontrado por Masuyama e Hiramatsu (2012), que demonstraram que a exposição à dieta ocidental durante a vida intrauterina já é suficiente para comprometer a ação das células beta pancreáticas da prole, levando a uma redução da tolerância à glicose e a um estado hiperglicêmico na vida adulta, assim como também difere de outros estudos que observaram hiperglicemia na prole de mães que consumiram dieta ocidental composta por 15-25% de frutose durante a gestação, seja por menor tolerância a glicose (DUPAS et al., 2017), resistência à insulina (DEKKER et al., 2010) ou devido ao desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2 (LOZANO et al., 2016).

As ligações mecanicistas que expliquem a relação entre o consumo materno de uma dieta rica em gordura e alterações glicêmicas em sua prole ainda são incertas. Entretanto, Ainge et al. (2011) concluiu que a elevação da glicemia da prole de mães que consumiram dieta ocidental durante a gestação e lactação se deve a composição corporal desses descendentes, por apresentarem peso e adiposidade corporal mais elevados. Apesar do presente estudo não ter realizado a dosagem da insulina ou o teste oral de tolerância a glicose, já é sabido também que a dieta ocidental, quando consumida até o desmame, leva a redução da tolerância a glicose na presença de hiperinsulinemia (SRINIVASAN et al., 2006), justificando os achados observados no GOgf.

A ausência de hepatotoxicidade observada na presente pesquisa difere do observado por Bessone (2010), o qual identificou lesão hepática em ratos após 15

dias do uso da Nimesulida. Entretanto, pelo fato do tempo entre a administração do fármaco e o período de acompanhamento do animal terem diferido, a diferença entre os achados é justificada. Outro fator relevante que apoia a ausência de hepatotoxicidade é a dose utilizada (10mg/kg v.i.p), corroborando com o observado por Singh et al. (2012), que afirmou que doses de Nimesulida de até 50mg/kg em roedores não tem toxicidade significativa.

Uma dieta materna de caráter obesogênico, ofertada durante o período perinatal, promove o desenvolvimento da esteato-hepatite em sua prole, embora o mecanismo fisiológico envolvido ainda seja incerto (CORDERO et al., 2017). Em 2010, Oben e cols., em seu estudo com camudongos, ofertaram dieta ocidental às matrizes do período pré gestacional até o último dia de gestação ou no pré-gestacional e na lactação e, ao avaliarem a prole aos 90 dias de vida, observaram importante deposição de gordura a nível hepático, onde os descendentes expostos à dieta durante a lactação obtiveram infiltração lipídica mais severa decorrente de um "dismetabolismo" transmitido pela obesidade materna e, principalmente, pela ingestão de dieta ocidental durante a lactação. Esse achado se assemelha ao observado no presente estudo, onde o GOglf apresentou elevada infiltração lipídica, com início de processo inflamatório, no fígado e fortalece o fato de que a adoção da dieta ocidental e inadequação do estado nutricional materno mantidos durante a amamentação exerce importante influência sobre o estado de saúde do concepto.

Como limitações do estudo, não foi realizada a avaliação da contagem diferencial de leucócitos, dosagens hormonais ou avaliação histológica do tecido adiposo. As repercussões do consumo materno da dieta ocidental durante o período pré-gestacional apenas, também não foi realizado. Contudo, este é um dos poucos estudos a explorar qual a importância da dieta materna ocidentalizada, iniciada desde o período pré-gestacional até o final da gestação ou ao final do desmame, sobre a resposta inflamatória aguda de seus filhos e sobre como se dá a atuação da Nimesulida nessa população.

8 CONCLUSÃO

A adoção de uma dieta de caráter ocidentalizado por fêmeas em idade reprodutiva e continuada durante a gestação e lactação repercute na prole, aos 60 dias de vida, em alterações antropométricas e metabólicas mais adversas. E, apesar

de não comprometer a eficácia farmacológica da Nimesulida no tratamento de seus filhos, reflete na exacerbação de citocinas inflamatórias e leucócitose frente à um estímulo agudo.

REFERÊNCIAS

AHIMA, R.S. Adipose tissue as an endocrine organ. **Obesity**. v.14, n.8, p.242-249, 2006.

AINGE, H.; THOMPSON, C.; OZANNE, S.E.; ROONEY, K.B. A systematic review on animal models of maternal high fat feeding and offspring glycaemic control. **International Association for the Study of Obesity**. v.35, n.3, p.325-335, 2011.

ALBUQUERQUE, K.T. et al. Intake of trans fatty acids-rich hydrogenated fat during pregnancy and lactation inhibits the hypophagic effect of central insulin in the adult offspring. **Nutrition**. v.22, p.820-829, 2006.

ALFARADHI, M.Z. et al. Maternal Obesity in Pregnancy Developmentally Programs Adipose Tissue Inflammation in Young, Lean Male Mice Offspring. **Endocrinology**. v.157, n.11, p.4246–4256, 2016.

AMIDON, G.L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V.P., CRISON, J. R. A theoretical basic for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**. v.12, n.3, p.413-420, 1995.

ANDRADE, A.; PINTO, S.C.; OLIVEIRA, R.S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Acessado em: 02 de Março de 2018. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/sfwjtj/pdf/andrade-9788575413869-17.pdf>

AOUADI, M. et al. Gene silencing in adipose tissue macrophages regulates whole-body metabolism in obese mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v.110, n.20, p.8278–8283, 2013.

AROOR, A. R. et al. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibition with linagliptin reduces western diet-induced myocardial TRAF3IP2 expression, inflammation and fibrosis in female mice. **Cardiovascular Diabetology**. v.16, n.61, 2017.

ARTIS, D.; SPITS, H. The biology of innate lymphoid cells. **Nature**. v.517, p.293-301, 2015.

ASHINO, N.G. et al. Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.23, p.341-48, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO), 2012. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/enoticia/876/oms+obesidade+mata+28+milhoes+por+ano.s.html>. Acessado em 11/07/2017 às 17h03m.

AYE, I.L.M.H.; LAGER, S.; RAMIREZ, V.I.; GACCIOLI, F.; DUDLEY, D.J.; JANSSEN, T. Increasing Maternal Body Mass Index Is Associated with Systemic Inflammation in the Mother and the Activation of Distinct Placental Inflammatory Pathways. **Biology of reproduction**. v.90, n.6, p.1-9, 2014.

BALLESTEROS-POMAR, M.D.; CALLEJA, S.; DIEZ-RODRIGUEZ, R.; CALLEJA-FERNANDEZ, A.; VIDAL-CASARIEGO, A.; NUNEZ-ALONSO, A. et al. Inflammatory status is different in relationship to insulin resistance in severely obese

people and changes after bariatric surgery or diet-induced weight loss. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**. v.122, p.592-596, 2012.

BARREIROS, R.C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C.E.P. Fructose in humans: metabolic effects, clinical utilization, and associated inherent errors. **Revista de Nutrição**. v. 18, n.3, p.377-389, 2005.

BAYOL, A.S.; FARRINGTON, S.J.; STICKLAND, N.C. A maternal 'junk food' diet in pregnancy and lactation promotes an exacerbated taste for 'junk food' and a greater propensity for obesity in rat offspring. **The British Journal of Nutrition**. v.98, n.4, p.843–851, 2007.

BERNAREGGI, A. Clinical pharmacokinetics of nimesulide; **Clinical Pharmacokinetics**. v.35, p.247–274, 1998.

BESSONE, F. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: what is the actual risk of liver damage. **World Journal of Gastroenterology**. v.16, n.45, p.5651-5661, 2010.

BEZERRA, I. N. et al. Difference in adult food group intake by sex and age groups comparing Brazil and United States nationwide surveys. **Nutritional Journal**. v.13, n.74, 2014.

BHATTACHARYA, P.K. et al. Nimesulide induced leukocytoclastic vasculitis and hepatitis: a case report. **Springer Plus**. v.30, n.4, p.302, 2015.

BOELSTERLI, A.U. Mechanisms of NSAID-induced hepatotoxicity. **Drug Safety**.v.25, n.9, p.633–648, 2002.

BONAMICI, B.D.; LEE, J. Unusual Suspects in the Development of Obesity-Induced Inflammation and Insulin Resistance: NK cells, iNKT cells, and ILCs. **Diabetes & Metabolism Journal**. v.41, n.4, p.229-250, 2017.

BOURET, S.G. Neurodevelopmental actions of leptin. **Brain Research**.v.1350, p.2–9, 2010.

BRADLEY, P.P.; CHRISTENSEN, R.D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**. v.60, p.618–622, 1982.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. **Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal– Brasília**: Ministério da Saúde, 2017. Acesso em 03 de Dezembro de 2017. Disponível em: http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/junho/07/vigitel_2016_jun17.pdf

BRITO, L.F. et al. The inflammatory process in the metabolic syndrome: PPAR activators of natural products and markers associated with metabolic disorders. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.15, n.3, p.449-466, 2013.

BRUNE, K.; HINZ, B. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: similarities and differences. **Scandinavian Journal of Rheumatology**. v.33, p.1-6, 2004.

BUETTNER, R.; SCHOLMERICH, J.; BOLLHEIMER LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity**. v.15, n.4, p.798–808, 2007.

BUETTNER, R.; SCHOLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L.C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. **Obesity (Silver Spring)**. v.15, n.4, p.798–808, 2007.

BULLÓ, M. et al. Systemic Inflammation, Adipose Tissue Tumor Necrosis Factor, and Leptin Expression. **Obesity Research**.v.11, n.4, 2003.

BURTON, M.E.; SHAW, L.M.; SCHENTAG, J.J.; EVANS, W.E. **Applied Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring**. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; p.231– 241, 2006.

CAI, X. et al. Development and validation of a rapid LC-MS/MS method for the determination of JCC76, a novel antitumor agent for breast cancer, in rat plasma and its application to a pharmacokinetics study. **Biomedical Chromatography**.v.26, p.1118–1124, 2012.

CALDER, P.C. et al. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. **British Journal of Nutrition**. v.109, p.1–34, 2013.

CANCELLO, R. et al. Increased infiltration of macrophages in omental adipose tissue is associated with marked hepatic lesions in morbid human obesity. **Diabetes**. v.55, p.1554–1561, 2006.

CAO, Y. Adipose tissue angiogenesis as a therapeutic target for obesity and metabolic diseases. **Nature Reviews Drug Discovery**. v.9, n. 2, p.107–115, 2010.

CARTIER, A. The inflammatory profile associated with abdominal obesity. **Official journal of the international chair on cardiometabolic risk**. v.3, p.15-19, 2010.

CATALANO, P.M. et al. Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero. **Diabetes Care**. v.32, p.1076–1080, 2009.

CECILIANE, F.; GIORDANO, A.; SPAGNOLO, V. The systemic reaction during inflammation: the acute-phase proteins. **Protein & Peptide Letters**. v.9, n.3, p. 211-223, 2002.

CESAR, H.C.; PISANI, L.P. Fatty-acid-mediated hypothalamic inflammation and epigenetic programming. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.42, p.1-6, 2017.

CHANG, G.Q.; GAYSINSKAYA, V.; KARATAYEV, O.; LEIBOWITZ, S.F. Maternal high-fat diet and fetal programming: Increased proliferation of hypothalamic peptide - producing neurons that increase risk for overeating and obesity. **Journal of Neuroscience**. v,28, p.12107-12119, 2008.

CIOFFI, F.; SENESE, R.; LASALA, P.; ZIELLO, A.; MAZZOLI, A.; CRESCENZO, R. et al. Fructose-Rich Diet Affects Mitochondrial DNA Damage and Repair in Rats. **Nutrients**. v.9, n.323, 2017.

CLAYCOMBE, K.J.; BRISSETTE, C.A.; GHRIBI, O. Epigenetics of inflammation, maternal infection, and nutrition. **Journal of Nutrition**. v.145, n.5, p.1109-1115, 2015.

CLAYCOMBE, K.J.; BRISSETTE, C.A.; GHRIBI, O. Epigenetics of Inflammation, Maternal Infection, and Nutrition. **Journal of Nutrition**. p.1109-1115, 2015.

CLEARY, M.P.; VASSELLI, JR.; GREENWOOD, M.R.C. Development of obesity in Zucker obese (fa/fa) rat in absence of hyperphagia. **American Journal of Physiology**. v. 238, p.284–292, 1980.

COELHO, N.L.P. et al. Food consumption and birth weight. **Revista de Saúde Pública**. p.49-62, 2015.

CONNOR, K.L.; VICKERS, M.H.; BELTRAND, J.; MEANEY, M.J.; SLOBODA, D.M. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. **Journal of Physiology**. v.590, n.9, p.2167-2180, 2012.

CORDERO, P.; LI, J.; NGUYEN, V.; POMBO, J.; MAICAS, N.; NOVELLI, M. et al. Developmental Programming of Obesity and Liver Metabolism by Maternal Perinatal Nutrition Involves the Melanocortin System. **Nutrients**. v.9, n.9, p.1041, 2017.

CUNHA, T.M.; VERRI, W.A.; SCHIV, O. I.; NAPIMOGA, M.H.; PARADA, C.A.; POOLE S. et al. Crucial role of neutrophils in the development of mechanical inflammatory hypernociception. **Journal of Leukocyte Biology**, v.83, p.824-832, 2008.

DA SILVA, R.L.; VOLPATO, N.M. Media for nimesulide tablet dissolution: surfactant action. **Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas**. v.38, n.2, 2002.

DASU, M.R.; JIALAL, I. Free fatty acids in the presence of high glucose amplify monocyte inflammation via toll-like receptors. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**. v.300, p.145-154, 2010.

DEKKER, M.J.; SU, Q.; BAKER, C.; RUTLEDGE, A.C.; ADELI, K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. **American Journal of Endocrinology and Metabolism**. v.299, n.5, 2010.

DEMMER, E. et al. Consumption of a high-fat meal containing cheese compared with a vegan alternative lowers postprandial C-reactive protein in overweight and obese

individuals with metabolic abnormalities: a randomised controlled cross-over study. **Journal of Nutritional Science**. v.5, n.9, p.1-12, 2016.

DOMÍNGUEZ, P.M.; ARDAVÍN, C. Differentiation and function of mouse monocyte-derived dendritic cells in steady state and inflammation. **Immunological Reviews**. v.234, p.90–104, 2010.

DOS SANTOS, Q. et al. Brazilian pregnant and lactating women do not change their food intake to meet nutritional goals. **BMC Pregnancy Childbirth**. v.2, n.14, p.186, 2014.

DUPAS, J.; FERAY, A.; GOANVEC, C.; GUERNEC, A.; SAMSON, N.; BOUGARAN, P. et al. Metabolic Syndrome and Hypertension Resulting from Fructose Enriched Diet in Wistar Rats. **Biomed Research International**. 2017.

DURAN-GONZALEZ, J. et al. Association study of candidate gene polymorphisms and obesity in a young Mexican-American population from South Texas. **Archives of Medical Research**. v.42, n.6, p.523-531, 2011.

ELLIOTT, S.S. et al. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.76, n.5, p.911–22, 2002.

EZZATI, M. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. **Lancet**. v.387, p.1377-1396, 2016.

FÁVARO, T.R. et al. Obesidade e excesso de peso em adultos indígenas Xukuru do Ororubá, Pernambuco, Brasil: magnitude, fatores sócio-econômicos e demográficos associados. **Caderno de Saúde Pública**. v.31, n.8, p.1685-1697, 2015.

FERNANDEZ-TWINN, D.S.; OZANNE, S.E. Early life nutrition and metabolic programming. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.1212, p.78–96, 2010.

FERREIRA, S.R.; LERARIO, D.D.; GIMENO, S.G.; SANUDO, A.; FRANCO, L.J. Obesity and central adiposity in Japanese immigrants: role of the Western dietary pattern. **Journal of Epidemiology**. v.12, n.6, p.431–438, 2002.

FERRO CAVALCANTE, T.C. et al. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids**. v. 48, p.1157-1168, 2013.

FERRO CAVALCANTE, T.C.; MARCELINO DA SILVA, A.A.; LIRA, M.C.; DO AMARAL ALMEIDA, L.C.; MARQUES, A.P.; DO NASCIMENTO, E. Early exposure of dams to a westernized diet has long-term consequences on food intake and physiometabolic homeostasis of the rat offspring. **International Journal of Food Science Nutrition**. v.65, n.8, p. 989-993, 2014.

FONSECA-ALANIZ, M.H. et al. O tecido adiposo como órgão endócrino: da teoria à prática. **Jornal de Pediatria**. v.83, n.5, p.192-203, 2007.

FURUKAWA, F. et al. A cyclooxygenase-2 inhibitor, nimesulide, inhibits postinitiation phase of N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine-induced pancreatic carcinogenesis in hamsters. **International Journal of Cancer**. v.104, p.269–273, 2003.

FURUKAWA, S. et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**. v.114, p.1752–1761, 2004.

GAO, Y.J. Dual modulation of vascular function by perivascular adipose tissue and its potential correlation with adiposity/lipoatrophy-related vascular dysfunction.

Current Pharmaceutical Design. v.13, n.21, p.2185–2192, 2007.

GOULARTE, J.F.; FERREIRA, M.B.C.; SANVITO, L.G. Effects of food pattern change and physical exercise on cafeteria diet-induced obesity in female rats.

British Journal of Nutrition. v.108, n.8, p.1511-1518, 2012.

GRAHAM, C.; THORLEIFSON, M.; STEFURA, W.P.; FUNK, D.J.; HAYGLASS, K.T.

Class II obese and healthy pregnant controls exhibit indistinguishable pro- and anti-inflammatory immune responses to Caesarian section.

Immunity, Inflammation and Disease. v.5, n.3, p.362-374, 2017.

GRAY, C. et al. Maternal salt and fat intake causes hypertension and sustained endothelial dysfunction in fetal, weanling and adult male resistance vessels.

Science Report. v.8, n.5, p.9753, 2015.

GRAY, L.J. et al. A systematic review and mixed treatment comparison of pharmacological interventions for the treatment of obesity.

Obesity Reviews. v.13, p.483–498, 2012.

GUILHERME, A. et al. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes.

Nature Reviews: Molecular Cell Biology. v.9, n.5, p.367–377, 2008.

GUILLEMOT-LEGRIS, O. High fat diet feeding differentially affects the development of inflammation in the central nervous system.

Journal of Neuroinflammation. v.13, n.206, 2016.

GUO, L.; TABRIZCHI, R. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma as drug target in the pathogenesis of insulin resistance. **Pharmacological Reviews**.v.58, n.1, p.726-741, 2006.

HALLENBECK, J.M.; HANSSON, G.K.; BECKER, K.J. Immunology of ischemic vascular disease, plaque to attack. **Trends in Immunology**. v.26, p.550–556, 2005.

HAN, S.; ROMAN, J.; COX-2 inhibitors suppress lung cancer cell growth by inducing p21 via COX-2 independent signals. **Lung Cancer**. v.51, p.283–296, 2006.

HAYLOCK, D.N.; MAKINO, S.; DOWSE, T.L.; TRIMBOLI, S.; NIUTTA, S.; TO, L.T. et al. Ex vivo hematopoietic progenitor cell expansion. **Journal of Immunological Methods**. v.5, n.3, p.217-225, 1994.

HILÁRIO, M.O.E.; TERRERI, M.T.; LEN, C.A. Antiinflamatórios não hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. **Jornal de Pediatria**. v.82, n.5, 2006.

HOO, R.L.C.; YEUNG, D.C.Y.; LAM, K.S.L.; XU, A. Inflammatory biomarkers associated with obesity and insulin resistance: a focus on lipocalin-2 and adipocyte fatty acid-binding protein. **Expert Review of Endocrinology and Metabolism**. v.3, n.1, p.29–41, 2008.

HOWARD, P.; DELAFONTAINE, P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk. **Journal of American College of Cardiology**.v.43, p.519-525, 2004.

HOWLAND, R.D.; MYCEK, M.J. **Farmacologia Ilustrada**. 3ª edição. Rio Grande do Sul: Artmed Editora S.A; 2007

HSIEH, P.S. et al. COX-2-mediated inflammation in fat is crucial for obesity-linked insulin resistance and fatty liver. **Obesity (Silver Spring)**, 2009.

HUH, J.Y.; KIM, J.I.; PARK, Y.J.; HWANG, I.J.; LEE, Y.S.; SOHN, J.H. et al. A novel function of adipocytes in lipid antigen presentation to iNKT cells. **Molecular and Cell Biology**. v.33, p.328-39, 2013.

HUH, J.Y.; PARK, J.; KIM, J.I.; PARK, Y.J.; LEE, Y.K.; KIM, J.B. Deletion of CD1d in adipocytes aggravates adipose tissue inflammation and insulin resistance in obesity. **Diabetes**. v.66, p.835-47, 2017.

HUSSENY, M.W.A. et al. Adipokines: Potential Therapeutic Targets for Vascular Dysfunction in Type II Diabetes Mellitus and Obesity. **Journal of Diabetes Research**, 2017.

IANNITTI, T.; GRAHAM, A.; DOLAN, S. Increased central and peripheral inflammation and inflammatory hyperalgesia in Zucker rat model of leptin receptor deficiency and genetic obesity. **Experimental Physiology**. v.97, n.11, p.1236-1245, 2012.

IBGE (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), 2010. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. <<http://www.ibge.gov.br>> Acessado em 6 de Setembro de 2017.

JAAKKOLA, K. et al. In vivo detection of vascular adhesion protein-1 in experimental inflammation. **American Journal of Pathology**. v.157, p.463-471, 2000.

JI, Y.; SUN, S.; XIA, S.; YANG, L.; LI, X.; QI, L. Short term high fat diet challenge promotes alternative macrophage polarization in adipose tissue via natural killer T

cells and interleukin-4. **Journal of Biological Chemistry.** v.287, p.24378-24386, 2012.

JI, Y.; SUN, S.; XU, A.; BHARGAVA, P.; YANG, L.; LAM, K.S.et al. Activation of natural killer T cells promotes M2 Macrophage polarization in adipose tissue and improves systemic glucose tolerance via interleukin-4 (IL-4)/STAT6 protein signaling axis in obesity. **Journal of Biological Chemistry.** v.287, p.13561-13571, 2012.

KAMINSKI, D.A.; RANDALL, T.D. Adaptive immunity and adipose tissue biology. **Trends in Immunology.** v.31, n.10, p.384-90, 2010.

KANG, Y.E. et al. The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. **Plos One.** v.11, n.4, 2016.

Karthikeyan, M.; Deepa, M.K. Anti-inflammatory activity of *Premna corymbosa* (Burm.f.) Rottl. & Willd. leaves extracts in Wistar albino rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.** v.4, n.7, p.510-513, 2011.

KIM, M.S. et al. Quantification of Nimesulide in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detector (HPLC-UV): Application to Pharmacokinetic Studies in 28 Healthy Korean Subjects. **Journal of Chromatography Science.** v.50, p.396-400, 2012.

KIM. M.S.; YAMAMOTO, Y.; KIM, K.; KAMEI, N.; SHIMADA, T.; LIU, L. et al. Regulation of diet-induced adipose tissue and systemic inflammation by salicylates and pioglitazone. **Plos One.** v.8, n.12, 2013.

KJELGAARD-HANSEN, M.; JACOBSEN, S. Assay Validation and diagnostic applications of major acute phase protein testing in companion animals. *Journal of Clinical and Laboratory Medicine*. v.31, p.51-70, 2011.

KONTUREK, S.J.; KONTUREK, J.W.; PAWLIK, T. & BRZOZOWKI, T.- Braingut axis and its role in the control of food intake. *Journal of Physiology and Pharmacology*. v.55, p.137-54, 2004.

KRISHNA, K. B. et al. Similar degrees of obesity induced by diet or aging cause strikingly different immunologic and metabolic outcomes. *Physiological Reports*. v.4, n.6, 2016.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Robbins e Cotran: Patologia: bases patológicas das doenças**. 7 ed. São Paulo: Elsevier; 2005

KUMMEROW, F.A. et al. Trans fatty acids in hydrogenated fat inhibited the synthesis of the polyunsaturated fatty acids in the phospholipid of arterial cells. *Life Science*. v.74, p.2707-2723, 2004.

KUNZ, L.H.; KING, J.C. Impact of maternal nutrition and metabolism on health of the offspring. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. v.12, n.1, p.71–77, 2007.

LARQUÉ, E.; ZAMORA, S.; GIL, A. Dietary trans fatty acids in early life: a review. *Early Human Development*. v.65, p.31-41, 2001.

LECOUTRE, S.; OGER ,F.; POURPE, C.; BUTRUILLE, L.; MAROUSEZ, L.; DICKES-COOPMAN, A.et al. Maternal obesity programs increased leptingene expression in rat male offspring via epigenetic modifications in a depot-specific manner. *Molecular Metabolism*. v.6, n.8, p.922-930, 2017.

LEIBOWITZ, K.L. et al. Maternal obesity associated with inflammation in their children. **World Journal of Pediatrics**. v.8, p.76–79, 2012.

LEVIN, B.E.; TRISCARI, E.; SULLIVAN, A.C. Metabolic features of diet-induced obesity without hyperphagia in young rats. **American Journal of Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v.251, n.3, p.433-440, 1986.

LITTLE, T.J.; FEINLE-BISSET, C. Oral and gastrointestinal sensing of dietary fat and appetite regulation in humans: modification by diet and obesity. **Frontiers of Neuroscience**. v.4, n.178, 2010.

LITTLE, T.J.; HOROWITZ, M.; FEINLE-BISSET, C. Modulation by high-fat diets of gastrointestinal function and hormones associated with the regulation of energy intake: implications for the pathophysiology of obesity. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.86, n.3, p.531-541, 2007.

LOPASCHUK, G.D.; USSHER, J.R.; FOLMES, C.D.; JASWAL, J.S.; STANLEY, W.C. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. **Physiology Reviews**. v.90, p.207–258, 2010.

LOTTENBERG, A.M.P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v.53, n.5, p.595-607, 2009.

LOTTENBERG, S.A.; GLEZER, A.; TURATTI, L.A. Metabolic syndrome: identifying the risk factors. **Jornal de Pediatria**. v.83, n.5, p.204-208, 2007.

LOZANO, I.; WERF, R.V.D.; BIETIGER, W.; SEYFRITZ, E.; PERONET, C.; PINGET, M. et al. High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. **Nutrition & Metabolism**. v.13, n.15, 2016.

LUMENG, C.N.; SALTIEL, A.R. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. **Journal of Clinical Investigation**. v.121, p.2111–2117, 2011.

MAHANTA, L.B. et al. On the Study of Pre-Pregnancy Body Mass Index (BMI) and Weight Gain as Indicators of Nutritional Status of Pregnant Women Belonging to Low Socio-Economic Category: A Study from Assam. **Indian Journal of Community Medicine**. v.40, n.3, p.198–202, 2015.

MALIK, K.; ARORA, G.; SINGH, I.; ARORA, S. Lallelantia reylene seeds as superdisintegrant: Formulation and evaluation of nimesulideorodispersible tablets. **International Journal of Pharmacology Investigation**. v.1, n.3, p.192-198, 2011.

MANEESAI, P. et al. Asiatic acid attenuates renin-angiotensin system activation and improves vascular function in high-carbohydrate, high-fat diet fed rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v.16, n.123, 2016.

MARESCA, F.; DI PALMA, V.; BEVILACQUA, M. et al. Adipokines, vascular wall, and cardiovascular disease: a focused overview of the role of adipokines in the pathophysiology of cardiovascular disease. **Angiology**. v.66, n.1, p.8–24, 2014.

MARTIN-MURPHY, B.V.; YOU, Q.; WANG, H.; DE LA HOUSSEY, B.A.; REILLY, T.P.; FRIEDMAN, J.U. et al. Mice lacking natural killer T cells are more susceptible to metabolic alterations following high fat diet feeding. **Plos One**. v.9, n.1, 2014.

MARTINS E SILVA, J.;SALDANHA, C. Diet, atherosclerosis and atherothrombotic events. **Revista Portuguesa de Cardiologia**. v.26, n.3, p.277-294, 2007.

MASUYAMA, H.; HIRAMATSU, Y. Effects of a high-fat diet exposure in utero on the metabolic syndrome-like phenomenon in mouse offspring through epigenetic changes in adipocytokine gene expression. **Endocrinology**. v.153, n.6, p. 2823-2830, 2012.

MASUYAMA, H.; HIRAMATSU, Y. Effects of a high fat diet exposure in utero on the metabolic syndrome-like phenomenon in mouse offspring through epigenetic changes in adipocytokine gene expressions. **Endocrinology**. v.153, p.2823–2830, 2012.

MATSON, K.L.; HORTON, E.R.; CAPINO, A.C. Medication Dosage in Overweight and Obese Children. **Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics**. v.22, n.1, p.81-83, 2017.

MCARDLE, M.A. et al. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. **Frontiers of Endocrinology**. v.4, n.52, 2013.

MCCURDY, C.E. et al. Maternal high fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. **Journal of Clinical Investigation**. v.119, p.323-335, 2009.

McCURDY, C.E.; SHENCK, S.; HETRICK, B.; HOUCK, J.; DREW, B.G.; KAYE, S. et al. Maternal obesity reduces oxidative capacity in fetal skeletal muscle of Japanese macaques. **JCI Insight**. v.1, n.16, 2016.

MENEZES, T.M. **Impactos da dieta “ocidentalizada” durante a gestação e lactação na resposta inflamatória aguda e suas implicações na eficácia farmacológica da nimesulida na prole adulta de ratos Wistar**. Dissertação

(Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Departamento de Patologia, 2016.

MEUWESE, M.C. et al. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC Norfolk Prospective Population Study. **Journal of American College of Cardiology**. v.50, p.159-165, 2007.

MIELKE, J.G. et al. Longitudinal study of the effects of a high-fat diet on glucose regulation, hippocampal function, and cerebral insulin sensitivity in C57BL/6 mice. **Behavioural Brain Research**. v.175, n.2, p.374–382, 2006.

MINIHANE, A.M. et al. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. **British Journal of Nutrition**. v.114, n.7, p.999-1012, 2015.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Regimento Interno do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal**. PORTARIA Nº 460, DE 30 DE ABRIL DE 2014. Disponível em: <http://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/institucional/concea/Destaques/oquee.html>. Acesso em: 13/-3/2018 às 13h40m.

MOORE, V.M. et al. Dietary composition of pregnant women is related to size of the baby at birth. **Journal of Nutrition**. v.134, n.7, p.1820–1826, 2004.

MORAIS, G. L. **Efeitos da dieta de cafeteria durante a gestação e lactação sobre parâmetros glicêmicos e perfil lipídico em ratas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Escola de Nutrição, 2012.

MORGANE, P.J. et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioural Reviews**. v.17, p.91-128, 1993.

MORRIS, C.J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. **Methods in Molecular Biology**. v.225, p.115-121, 2003.

NAGAHARA, K. et al. Chronic sub-clinical inflammation in the abdominal adipose tissue – Evaluation of inflammatory cytokines and their link with insulin resistance in metabolically obese South Indians: A cross-sectional observational study. **Indian Journal of Endocrinology and Metabology**. v.20, n.1, p.84–91, 2016

NASCIMENTO, C.M.O.; RIBEIRO, E.B.; OYAMA, L.M. Metabolism and secretory function of white adipose tissue: effect of dietary fat. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**. v.81, n.3, 2009.

NAZNI, P. Association of western diet & lifestyle with decreased fertility. **Indian Journal of Medical Research**. v.140, p.78-81, 2014.

NISHIMOTO, S. et al. Obesity-induced DNA released from adipocytes stimulates chronic adipose tissue inflammation and insulin resistance. **Science Advanced**. v.2, n.3, 2016.

NOVELLI, E.L.B. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in Rats. **Laboratory Animal Research**. v.41, p.111-119, 2007.

OBEN, J.A.; MOURALIDARANI, A.; SAMUELSSON, A.M.; MATTHEWS, P.J.; MORGAN, M.L.; MCKEE, C. et al. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. **Journal of Hepatology**. v.52, p.913-920, 2010.

OGDEN, C.L.; CARROLL, M.D.; KIT, B.K.; FLEGAL.K.M. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011–2012. **JAMA**. v.311, p.806–814, 2014.

OLAFSDOTTIR, A.S. et al. Relationship between high consumption of marine fatty acids in early pregnancy and hypertensive disorders in pregnancy. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**. v.113, n.3, p.301–309, 2006.

OSBORN, O.; OLEFSKY, J.M. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. **Journal of Natural Medicine**. v.18, p.363–374, 2012.

PADILHA, P.C. et al. Pre-gestational anthropometric nutritional status and obstetrics outcomes. **Revista da Associação Brasileira de Nutrição**. v.2, n.1, 2009.

PANCHAL, S.K. et al. Rutin attenuates metabolic changes, nonalcoholic steatohepatitis, and cardiovascular remodeling in high-carbohydrate, high-fat diet-fed rats. **Journal of Nutrition**. v.141, n.6, p.1062–1069, 2011.

PANTHAM, P.; AYE, I. L.; POWELL, T. L. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus. **Placenta**. v. 36, n. 7, p. 709-715, 2015.

PENFOLD, N.C.; OZANNE, S.E. Developmental programming by maternal obesity in 2015: Outcomes, mechanisms, and potential interventions. **Hormones and Behaviours**. v.76, p.143–152, 2015.

PHAM, D.L. et al. What we know about nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity. **Korean Journal of Intern Medicine**. v.31, n.3, p.417-432, 2016.

PIEL, G. et al. Study of the influence of both cyclodextrins and L-lysine on the aqueous solubility of nimesulide: isolation and characterization of nimesulide-L-

lysine-cyclodextrin complexes. **Journal of Pharmacological Science**. v.86, n.4, p.475-480, 1997.

PLATA-SALAMÁN, C.R.; PELOSO, E.; SANTINOFF, E. Cytokine-induced fever in obese (fa/fa) and lean (Fa/Fa) Zucker rats. **American Journal of Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v.275, p.1353-1357, 1988.

PORTER, S.A. et al. Abdominal subcutaneous adipose tissue: a protective fat depot? **Diabetes Care**. v.32, n.6, p.1068-1075, 2009.

PREMANATH, M.; BASAVANAGOWDAPPA, H.; MAHESH, M.; SURESH, M.B.;DEVANANDA, D.Chronic sub-clinical inflammation in the abdominal adipose tissue – Evaluation of inflammatory cytokines and their link with insulin resistance in metabolically obese South Indians: A cross-sectional observational study. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**. v.20, n.1, 2016.

PRIEGO, T.; SÁNCHEZ, J.; GARCÍA, A.P.; PALOU, A.; PICÓ, C. Maternal dietary fat affects milk fatty acid profile and impacts on weight gain and thermogenic capacity of suckling rats. **Lipids**. v.48, p.481-495, 2013.

PURCELL, R.H. et al. Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition and pup ingestive behavior. **Physiology Behavioural**. v.104, p.474-479, 2011.

QUEIROZ, J.C.F.; ALONSO-VALE, M.I.C.; CURI, R.; LIMA, F.B. Control of adipogenesis by fatty acids. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**. v.53, n.5, 2009.

RAMESH, T.; RAO, P.N.; RAO, R.N. Simultaneous quantification of nimesulide, phenylpropanolamine, caffeine and chlorpheniramine in rat plasma by RH-

HPLC/PDA method and application to pharmacokinetic studies in health rat subjects.

Arabian Journal of Chemistry, 2015.

RAMONIENÉ, G.; MALECKIENÉ, L.; NADIŠAUSKIENĖ, R.J.; BARTUSEVIČIENĖ, E.; RAILAITĖ, D.R.; MAČIULEVIČIENĖ, R. et al. Maternal obesity and obstetric outcomes in a tertiary referral center. **Medicine**. v.173, 2017.

RAMZAN, I.; WONG, B.K.; CORCORAN, G.B. Pain sensitivity in dietary-induced obese rats. **Physiology Behavioural**. v.54, n.3, p.433-435, 1993.

REYNOLDS, C.M. et al. High fat and/or high salt intake during pregnancy alters maternal meta-inflammation and offspring growth and metabolic profiles. **Physiology Reports**. v. 2, n.8, 2014.

ROBERTS, K.A. et al. Placental structure and inflammation in pregnancies associated with obesity. **Placenta**. v.32, p.247– 254, 2011.

ROSEN, E.D.; SPIEGELMAN, B.M. What we talk about when we talk about fat. **Cell**. v.156, p.20-44, 2014.

ROSINI, T.C.; SILVA, A.S.R.; MORAES, C. Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.

SABEN, J. et al. Early growth response protein-1 mediates lipotoxicity-associated placental inflammation: role in maternal obesity. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**. v.305, p.1-14, 2013.

SABEN, J.; ZHONG, Y.; GOMEZ-ACEVEDO, H.; THAKALI, K.M.; BORENGASSER, S.J.; ANDRES, A. Early growth response protein-1 mediates lipotoxicity-associated placental inflammation: role in maternal obesity. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**. n.305, p.1-14, 2013.

SAMUEL, V.T. Fructose induced lipogenesis: From sugar to fat to insulin resistance. **Trends in Endocrinology and Metabolism**. v.22, p.60–65, 2011.

SANTOS, R.D. et al. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.1, n.3, 2013.

SASAKI, A. et al. Maternal high-fat diet alters anxiety behavior and glucocorticoid signaling in adolescent offspring. **Neuroscience**. v.272, p.92–101, 2014.

SCHARFE-NUGENT, A. et al. TLR9 provokes inflammation in response to fetal DNA: Mechanism for fetal loss in preterm birth and preeclampsia. **Journal of Immunology**. v.188, p.5706–5712, 2012.

SCHATTNER, A.; SOKOLOVSKAYA, N.; COHEN, J. Fatal hepatitis and renal failure during treatment with nimesulide. **Journal of International Medicine**. v.247, n.1, p.153-155, 2000.

SCHIPPER, H.S. et al. Adipose tissue-resident immune cells: key players in immunometabolism. **Trends in Endocrinology and Metabolism**. v.23, n.8, p.407–415, 2012.

SEGOVIA, S.A.; VICKERS, M.H.; GRAY, C.; REYNOLDS, C.M. Maternal obesity, inflammation and developmental programming. **Biomed Research International**. v.2014, 2014.

SHAO, B. et al. Myeloperoxidase: An oxidative pathway for generating dysfunctional HDL. **Chemical Research in Toxicology**. v.23, p.447-454, 2010.

SHIN, D.; LEE, K.W.; SONG, W.O. Pre-Pregnancy Weight Status Is Associated with Diet Quality and Nutritional Biomarkers during Pregnancy. **Nutrients**. v.8, n.162, 2016

SHIR, Y.; ZELTSER, R.; VATINE, J.J.; CARMI, G.; BELFER, I.; ZANGEN, A. Correlation of intact sensibility and neuropathic pain-related behaviors at eight inbred and outbred rat strains and selection lines. **Pain**. v.90, n.2, p.75-78, 2001.

SILVA, P. **Anti-inflamatórios não esteroides, analgésicos, antipiréticos e drogas utilizadas no tratamento da gota**. In: CARVALHO, Wilson Andrade. Farmacologia. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. Cap. 45, p.439-466.

SINGH, B. K. et al. Natural terpenes prevent mitochondrial dysfunction, oxidative stress and release of apoptotic proteins during nimesulide-hepatotoxicity in rats. **Plos One**. v.7, n.4, 2012.

SINGH, S.; SHARDA, N.; MAHAJAN, L. Spectrophotometric determination of pKa of nimesulide. **International Journal of Pharmacology**.v.176, n.2, p.261-264, 1999.

SINGLA, A.K.; CHAWLA, M.; SINGH, A. Nimesulide: some pharmaceutical and pharmacological aspects and update. **Journal of Pharmaceutics & Pharmacology**. v.52, p.467–486, 2000.

SIRIWARDHANA, N. et al. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.24, n.4, p.613-623, 2013.

SŁUPECKA, M.; ROMANOWICZ, K.; WOLIŃSKI, J. Maternal High-Fat Diet during Pregnancy and Lactation Influences Obestatin and Ghrelin Concentrations in Milk

and Plasma of Wistar Rat Dams and Their Offspring. **International Journal of Endocrinology**, 2016.

SMITH, C.M.D. Hematopoietic Stem cells and hematopoiesis. **Cancer Control**. v.10, n.1, p.9-16, 2003.

SOFRONIEW, M.V. Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. **Trends in Neuroscience**. v.32, n.12, p. 638-47, 2009.

SOUSA, J.M.; NETO, F.M.A.; PARTATA, A.K. Ação antiinflamatória da nimesulida e seu grau de hepatotoxicidade. **Revista Científica do ITPAC**. v.9, n.1, 2016.

SPITS, H.; CUPEDO, T. Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. **Annual Review of Immunology**. v.30, p.647-75, 2012.

SRINIVASAN, M.; KATEWA, S.D.; PALANIYAPPAN, A.; PANDYA, J.D.; PATEL, M.S. Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**. v. 291, n.4, p.792-799, 2006.

SRINIVASAN, M.; KATEWA, S.D.; PALANIYAPPAN, A.; PANDYA, J.D.; PATEL, M.S. Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**. v.291, n.4, p. 792-799, 2006.

STEFANOVIC-RACIC, M. et al. Dendritic cells promote macrophage infiltration and comprise a substantial proportion of obesity-associated increases in CD11c⁺ cells in adipose tissue and liver. **Diabetes**. v.61, p.2330–2339, 2012.

SUN, B. et al. Maternal High-Fat Diet During Gestation or Suckling Differentially Affects Offspring Leptin Sensitivity and Obesity. **Diabetes**. v.61, n.11, p.2833-2841, 2012.

SUNG, H.K. et al. Adipose vascular endothelial growth factor regulates metabolic homeostasis through angiogenesis. **Cell Metabolism**. v.17, p.61–72, 2013.

SUTER, M.; BOCOCK, P.; SHOWALTER, L.; HU, M.; SHOPE, C.; McKNIGHT, R. et al. Epigenomics: maternal high-fat diet exposure in utero disrupts peripheral circadian gene expression in nonhuman primates. **FASEB Journal**. v.25, n.2, p.714–726, 2011.

TAHERIPOUR, P. et al. Impact of excess gestational and post-weaning energy intake on vascular function of swine offspring. **BMC Pregnancy Childbirth**. v.4, p.405, 2014.

TAIN, Y.L. et al. Maternal melatonin therapy rescues prenatal dexamethasone and post-natal high fat diet induced programmed hypertension in male rat offspring. **Frontiers of Physiology**. v.6, p.377, 2015.

TAMASHIRO, K.L. et al. Prenatal stress or high-fat diet increases susceptibility to diet-induced obesity in rat offspring. **Diabetes**. v.58, p.1116–1125, 2009.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. **Circulation Research**. v.11, p.877-887, 2001.

TENENBAUM-GAVISH, K.; HOD, M. Impact of maternal obesity on fetal health. **Fetal Diagnosis and Therapy**. v.34, p.1–7, 2013.

THALER, J.P.; YI, C.X.; SCHUR, E.A.; GUYENET, S.J.; HWANG, B.W.; DIETRICH, M.O.; et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. **Journal of Clinical Investigation**. v.122, p.153-162, 2012.

THORNBURG, K.L.; O'TIERNEY, P.F.; LOUEY, S. Review: The placenta is a programming agent for cardiovascular disease. **Placenta**. v.31, p.54-59, 2010.

TINOCO, S.M.B. et al. The importance of essential fatty acids and the effect of trans fatty acids in human milk on fetal and neonatal development. **Caderno de Saúde Pública**. v.23, n.3, p.525-534, 2007.

TRACEY, K.J. The inflammatory reflex. **Nature**. v.420, n.6917, p.853-859, 2000.

TSUJIMOTO, S. et al. Nimesulide, a cyclooxygenase-2 selective inhibitor, suppresses obesity-related non-alcoholic fatty liver disease and hepatic insulin resistance through the regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ . **International Journal of Molecular Medicine**. v.38, n.3, 2016.

TZIOMALOS, K. et al. Endothelial dysfunction in metabolic syndrome: prevalence, pathogenesis and management. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. v.20, n.2, p.140–146, 2010.

UPADHYAYA, B.; LARSEN, T.; BARWARI, S.; LOUWAGIE, E.J.; BAACK, M.L.; DEY, M. Prenatal Exposure to a Maternal High-Fat Diet Affects Histone Modification of Cardiometabolic Genes in Newborn Rats. **Nutrients**. v.9, n.4, p.407, 2017.

VITORÉLI, D.C.G. **Dieta hiperlipídica materna e sua implicação sobre a sinalização central de leptina na prole recém-desmamada**. 2015. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Nutrição – Faculdade de Ciências Aplicadas, Universidade Estadual de Campinas, Limeira, 2015.

WENSVEEN, F.M.; JELENCIC, V.; VALENTIC, S.; SESTAN, M.; WENSVEEN, T.T.; THEURICH, S. et al. NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance. **Nature Immunology**. v.16, p.376-385, 2015.

WHO. **Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013–2020**. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2013

WINKVIST, A. et al. Dietary intake, leisure time activities and obesity among adolescents in Western Sweden: a cross-sectional study. **Journal of Nutrition**. v.15, n.41, 2015.

YEH, E.T. CRP as a mediator of disease. **Circulation**. v.109, n.21, p.11-14, 2004.

ZAKI, S.A.; NILOFER, A.R.; TAQI, S.A. Nimesulide-induced acute renal failure. **Saudi Kidney Diseases and Transplantation**. v.23, n.6, p.1294-1296, 2012.

ZHANG, R., BRENNAN, M.L., SHEN, Z., MACPHERSON, J.C., SCHMITT, D., MOLEND, C.E., HAZEN, S.L. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. **Journal of Biological Chemistry**. v.277, n.48, p.46116-46122, 2002.

ZHUOPING, L.M.M. et al. Effect of nimesulide on the growth of human laryngeal squamous cell carcinoma. **American Journal of Otolaryngology**. v.35, n.3, p.120-129, 2014

ZUBIRÍA, M.G.; ALZAMENDI, A.; MORENO, G.; REY, M.A.; SPINEDI, E.; GIOVAMBATTISTA, A. Long-Term Fructose Intake Increases Adipogenic Potential: Evidence of Direct Effects of Fructose on Adipocyte Precursor Cells. **Nutrients**. v.8, n.198, 2016.

ZUBIRÍA, M.G.; GAMBARO, S.E.; REY, M.A.; CARASI, P.; SERRADELL, M.L.A.; GIOVAMBATTISTA, A. Deleterious Metabolic Effects of High Fructose Intake: The Preventive Effect of Lactobacillus kefir Administration. **Nutrients**. v.9, n.5, 2017.

ANEXO A - Parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biotecnologia

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (51 31) 2126 8840 / 2126 8351
Fax: (51 31) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 23 de agosto de 2016.

Ofício nº 80/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof.ª Elizabeth do Nascimento**

Departamento de Nutrição

Centro de Ciências da Saúde

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 0034/2016

Certificamos que a proposta intitulada "**Importância da alimentação materna na resposta inflamatória aguda e farmacocinética da nimesulida em seus descendentes**", registrada com o nº 0034/2016, sob a responsabilidade de Prof.ª Elizabeth do Nascimento - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 30/08/2016.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Até 10/2017
Espécie/linhagem/raça	Ratos Wistar
Nº de animais	24
Peso/idade	350g/8 semanas
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição/CCS/UFPE

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Carilli
Presidente da CEUA / CCS-UFPE
SAPE 1801564