

III NUTRINF

APRESENTAÇÃO/Autores: Nathalia Caroline de Oliveira Melo, Rayanne Cybelly Silva Monteiro, Maria Rita, Maria Bernadete Maia, Elizabeth do Nascimento.

TITULO: RESPOSTA INFLAMATÓRIA AGUDA NA PROLE EM FUNÇÃO DA INGESTÃO DE DIETA OCIDENTALIZADA POR RATAS DO PERÍODO DE PRÉ-CONCEPÇÃO ATÉ A LACTAÇÃO.

Resumo: A dieta é um dos fatores mais determinantes do estado de saúde dos indivíduos. Para além dessa condição, as respostas do organismo aos estados patológicos e fármacos também dependem do estado nutricional. E, cada vez mais a ciência comprova que o estado nutricional e/ou a alimentação materna no período de concepção e após o parto (lactação) influenciam em longo prazo não apenas na saúde dos seus descendentes, mas também na resposta fisiológica a tratamentos com fármacos e a estados patológicos. Diante dessas evidências, o estudo teve como **objetivo** avaliar a resposta inflamatória e ação farmacológica da nimesulida em filhotes machos descendentes de mães alimentadas com dieta ocidentalizada do período pré-gestacional até o final da lactação. Para o alcance dos objetivos foram formados inicialmente 2 grupos de ratas em função da dieta ofertada (dieta controle e ocidentalizada do período pré-conceptivo até gestação) e 3 grupos na lactação assim denominados: Grupo controle (GC,n=6) alimentados com dieta comercial padrão de biotério; Grupo com dieta ocidentalizada do período pré-gestacional até gestação (GOg, n=6) e Grupo com dieta ocidentalizada do período pré-gestacional até a lactação (GOgl, n=6). Nas ratas foram acompanhadas a evolução ponderal, o consumo alimentar e a glicemia de jejum do período pré-gestacional até ao fim da lactação. Após o desmame, todos os filhotes receberam dieta padrão de biotério e foram acompanhados até a idade de 60-63 dias de vida. Os grupos de filhotes seguiram a mesma denominação dos grupos maternos, formando o GCf (filhotes controle, n=12), GOgf (filhotes ocidentalizado gestação, n=12) e GOglf (filhotes ocidentalizado gestação e lactação, n=12). O estudo recebeu aprovação do Comité de ética sob o protocolo n.0034/2016 e foram acompanhados: crescimento corporal e medidas somáticas, dados bioquímicos e a resposta inflamatória frente à ação da carregenina e do fármaco nimesulida. Para análise estatística foram utilizados os testes de normalidade de Kolmogorv Smirnov, teste “t” de Student, análise de variância Anova *one-way* e *two-way*, seguidos do pós-teste de Tukey. Considerada a significância de 5%. **Como resultados**, verificamos que o peso corporal não foi alterado ao nascimento, mas, aos 60 dias de vida, os grupos oriundos de mães alimentadas com dieta ocidentalizada eram 11% mais pesados que os controles (GCf=258,9±26,0g; GOgf=294,9±8,2g; GOglf=291,1±21,2g. $p<0,01$). Os grupos oriundos de mães com dieta ocidentalizada também exibiam maior comprimento corporal e circunferência abdominal, mas sem diferenças no IMC. O GOglf também mostrou hiperfagia com consumo de alimento 20% maior que os demais grupos, alterada resposta bioquímica e uma resposta inflamatória à carregenina um pouco mais elevada, mas com ação de inibição da nimesulida semelhante entre os grupos

ocidentalizados. O exposto nos permite **concluir** que a resposta inflamatória da prole oriunda de mães alimentadas com dieta ocidentalizada desde o período pré-conceptivo até o nascimento ou até a lactação é alterada de forma semelhante.

Palavras-chaves: dieta ocidental; gestação; lactação; prole; inflamação

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* e produtos industrializados, carnes vermelhas, derivados lácteos integrais e bebidas com elevado teor de açúcares simples. Em adição, limita 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).

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 & 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, evidenciado na população brasileira e 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., 2005; WHO, 2003; WANG et al.,

2002), 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). Destaca-se também o papel do tecido adiposo não apenas como local armazenador de gordura corporal, mas, com importante função endócrina (BULLO et al., 2003) que pode conduzir o indivíduo a um estado sub-clínico de inflamação crônica (SIRIWARDHANA et al., 2013). A exemplo cita-se a secreção da leptina, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e adiponectina (AHIMA, 2006), que possuem características anti e pró-inflamatórias (NASCIMENTO; RIBEIRO; OYAMA, 2009) no processo inflamatório associado à obesidade e suas comorbidades. Diante de um quadro inflamatório, que pode ser potencializado pela obesidade, fármacos anti-inflamatórios (a exemplo da nimesulida) são prescritos e sua eficácia pode atuar de forma distinta entre os organismos devido a alterações subclínicas de um estado nutricional que pode receber marcas epigenéticas desde sua formação.

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, quando tratados ou não com nimesulida. O estudo também lança como hipótese que quanto mais prolongado for o período de alimentação materna desequilibrada mais repercutirá na saúde dos filhotes.

Material e Métodos

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 espermatozoides 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).

O desenho experimental do presente estudo compreende as matrizes do Grupo controle [GC (n=6)], que receberam ração comercial durante todo o período de acompanhamento; as matrizes do Grupo ocidentalizado [GO (n=12)] que receberam a ração experimental ocidentalizada desde o período pré-gestacional até o final da gestação [GOg (n=6)]e, as matrizes do Grupo ocidentalizado gestação e lactação [GOgl (n=6)], e as que receberam a ração ocidentalizada do período pré-gestacional até a lactação. Após o desmame, todos os filhotes dos distintos grupos passaram a receber alimentação padrão comercial até o final do período experimental. Assim, em função da dieta materna, e da seleção aleatória de 2 filhotes por mãe, os grupos de filhotes foram assim formados: (GCf, n=12; GOgf, n=12 e GOglf, n=12).

A dieta experimental ocidentalizada ofertada do período pré-gestacional até a lactação seguiu diretrizes preconizadas pela *American Institute of Nutrition Rodent Diet-93* para crescimento (AIN-93G), com alguns ajustes para o padrão ocidental e palatabilidade, e, foi confeccionada no Departamento de Nutrição da UFPE. Sua composição foi baseada e adaptada pelo proposto por Ferro Cavalcante et al. (2014), com os devidos ajustes apresentados na 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%

*Quilocaloria por grama de ração.

**Das fontes de carboidratos totais, 22% correspondeu à frutose sintética;#contribuição do percentual calórico de cada macronutriente em relação ao valor energético total.

Os cálculos da composição centesimal de macronutrientes foram de acordo com os valores fornecidos pelos produtores (ração padrão comercial - Presence®) ou pelos fabricantes dos produtos (ocidentalizada) e corroborada pela análise no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL) do DN da UFPE. Na tabela 2 encontra-se descrita a composição da dieta ocidentalizada. Por todo o período de experimentação, dieta e água foram ofertadas *ad libitum*.

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

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

Adaptado de: FERRO CAVALCANTE et al. (2014).

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 aferido a cada 48h através de balança digital BEL, modelo L2102, com capacidade para 2,1kg e variação de 0,01g. Para obtenção da quantidade de dieta ingerida, foi realizado o cálculo da subtração entre o peso inicial da ração ofertada e a sobra restante na gaiola a cada 48h e o total acumulado em uma semana. 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).

Determinação da evolução ponderal

A aferição do peso corporal foi realizada semanalmente nas matrizes (de 7:00h às 8:00h da manhã) do período pré-gestacional até o desmame. Os das respectivas proles foi aferido ao nascimento (dia 01), ao desmame (21º dia), e, aos 60 dias de vida. Todos pesados em balança digital BEL, modelo L2102, com capacidade para 2,1kg e variação de 0,01g. Ao final do período experimental, medidas antropométricas de comprimento (extensão do focinho ao ânus), circunferência abdominal e índice de massa corporal (IMC) foram obtidos.

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. Formaram-se então, seis grupos, 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. Este modelo de aplicação, favorece 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 grupos [GCf (n=6), GOgf (n=6) e GOglf (n=6)] não foram tratados.

A descrição das etapas resume-se a:

- A) 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) Animais dos grupos tratados (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 na qual foi injetado o agente edematogênico foi medido em Pletismômetro digital (Panlab – Harvard Apparatus, Modelo LE 7500) antes ou basal (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 (ou percentual de inibição) da Nimesulida foi 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 obtida de acordo com os valores absolutos obtidos do edema de pata e analisada através de comparação intragrupo (GCfvsGOgfvsGOglf) e entre grupos (GCfvsGCf-N, GOgfvsGOgf-N e GOglfvsGOglf-N). Em adição, o percentual de alteração do volume da pata, quando comparada ao seu grupo controle (100%), também foi considerado.

Determinação do perfil bioquímico e hematológico

Após determinação dos parâmetros murinométricos (crescimento somático), uma incisão vertical na região abdominal dos animais foi realizada para obtenção de amostras sanguíneas (5mL) através de punção intra-cardíaca para determinação das variáveis bioquímicas [Albumina sérica, PCR, glicemia de jejum, triglicerídeos, aspartatoaminotransferase (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®.

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 Kolmogorov Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade das variáveis. Para avaliação dos parâmetros maternos do período pré-gestacional ao nascimento foi utilizado o teste "t" de Student. Para avaliação de 3

ou mais amostras de 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 Tukey, quando observada diferença entre os grupos. Para análise dos parâmetros bioquímicos, foi utilizado o teste de variância ANOVA *one-way*, seguido do pós-teste de Tukey, quando observada diferença entre os grupos. Para fins estatísticos foi considerado o nível de significância de $p < 0,05$ (5%).

RESULTADOS

MATRIZES (evolução ponderal, glicemia de jejum e consumo alimentar) 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 com uso de ração comercial e GOg e GOgl = Grupos Ocidentalizado – ração experimental ocidentalizada até a gestação e até a lactação, respectivamente). Ao chegar à idade adulta, média de 13 semanas após o início do estudo, as ratas alimentadas com dieta ocidentalizada apresentaram diferenças de peso corporal de 50g ou em torno de 21% a mais que o controle (GC = $238,5 \pm 13,6$ g e GO = $288,75 \pm 20,4$ g, $p < 0,05$).

Durante a avaliação do consumo alimentar médio semanal foi possível observar no GO (GOg + GOgl que seguiam a mesma dieta) uma ingestão alimentar inferior, em torno de 40% (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 alimentação (Figura 1A). Contudo, ao se avaliar a ingestão energética, observa-se que esta não difere em todas as semanas (apenas na 2^a, 3^a, 6^a, 8^a, 9^a, e 13^a), provavelmente pelo maior valor energético da dieta experimental, apesar da ingestão quantitativa 22% menor no grupo GO comparado ao GC durante todo o período (Figura 1B).

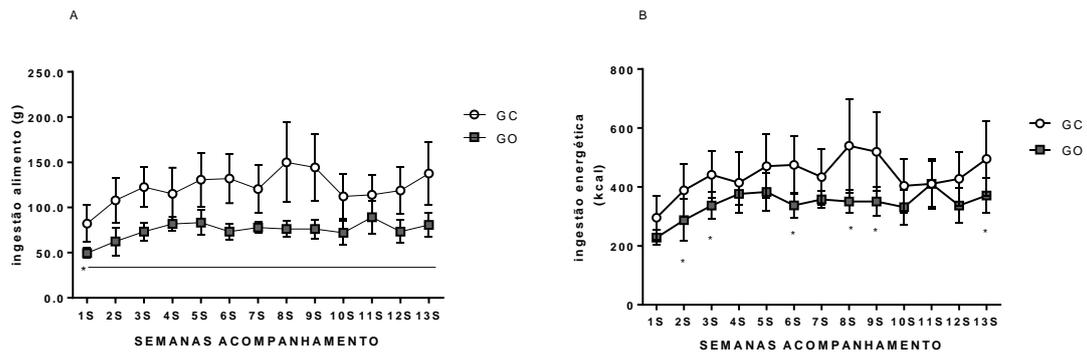


Figura 1: Ingestão alimentar (A) e energética (B) das matrizes durante o período pré-gestacional. GC = Grupo Controle; GO = Grupo ocidentalizado (GOg + GOgl). G=Gramas. S=Semanas. * vs GC. ANOVA *two-way* de medidas repetidas seguido do teste de comparação múltipla de Holm-Sidak ($p < 0,01$).

Ao avaliar o ganho de peso em função do total de dieta ingerida (Coeficiente de Eficiência Alimentar- CEA), observa-se um valor de 10% para o GC e 17% para o GO (GC=0,10±0,02; GO=0,17±0,05, $p < 0,01$), ou seja, mesmo com menor ingestão de alimento, o GO demonstrou maior eficiência de ganho de peso em função da quantidade de alimento ingerido.

A determinação da glicemia de jejum aos 30, 60, 90 e 120 dias de vida evidenciou, para o GC, valores de 82,11±5,88mg/dL; 86,33±4,84 mg/dL; 88,71±8,22 mg/dL; 88,66±6,80 mg/dl, respectivamente. Enquanto que, para o grupo GO, foram segundo os respectivos intervalos: 81,38±7,39 mg/dL; 88,83±5,80 mg/dL; 95,61±4,88 mg/dL; 128,92±8,24 mg/dL, com a diferença encontrada no 120º dia de vida ($p < 0,001$) (Figura 2).

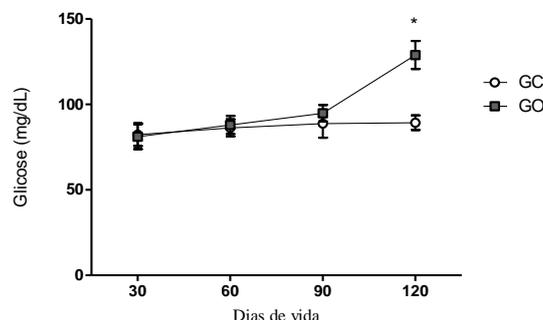
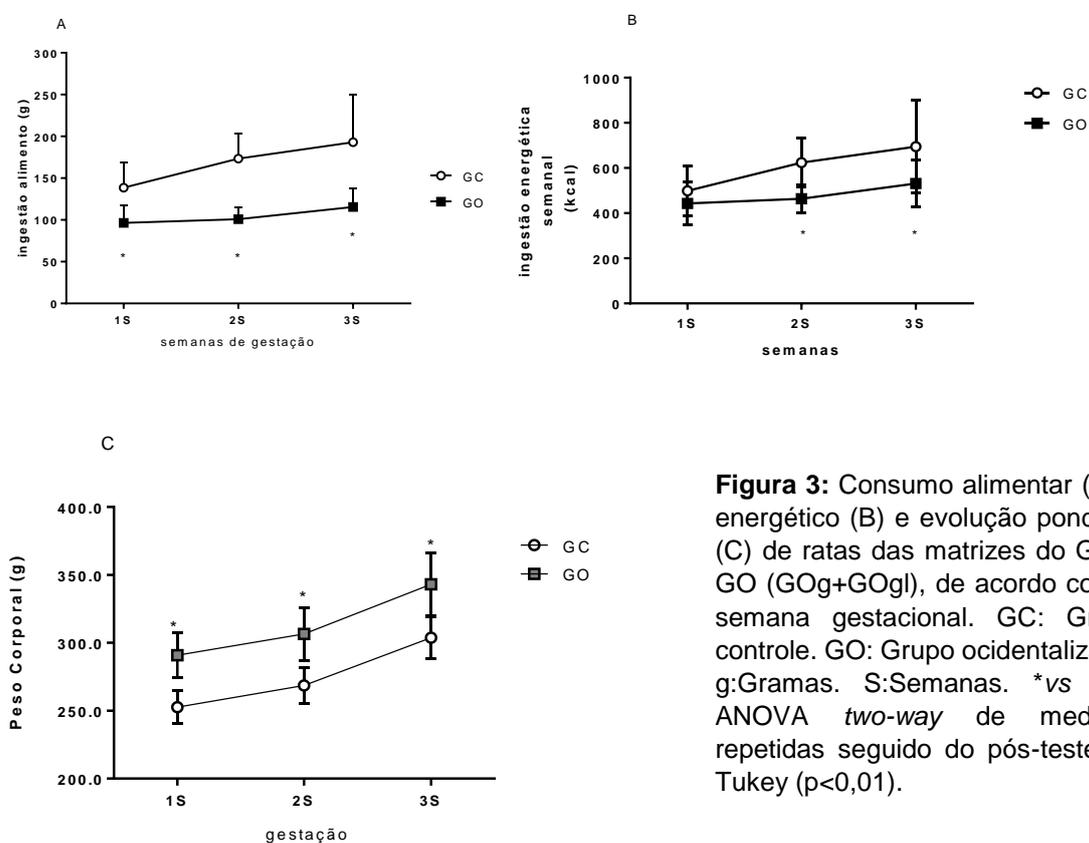


Figura 2: Acompanhamento da glicemia de jejum das matrizes do GC e GO, durante o período pré-gestacional, aos 30, 60, 90 e 120 dias de vida. GC = Grupo controle; GO = Grupo ocidentalizado. mg/dL: Miligrama por decilitro. * vs GC. Anova *Two-way* de medidas repetidas seguidas pelo pós-teste de Tukey ($p < 0,001$).

GESTAÇÃO

A média semanal da ingestão alimentar e energética apresentou uma redução em torno de 30% no GO comparado ao GC. Na figura 3A podem ser observados que tanto a quantidade de alimento de acordo com a semana gestacional (GC:138,6±30,4g; 173,3±30,2g; 193±56,8g e GO: 96,4±20,7g; 100,8±13,8g; 115,5±22,3g, respectivamente para 1ª, 2ª e 3ª semana, $p<0,01$), quanto a ingestão energética, (GC: 499,0±109,6 kcal; 623,9±108,5kcal; 694,9±204,6kcal, respectiva a 1ª, 2ª, 3ª semana; e o GO: 443,3±95,4 kcal; 463,6±63,6 kcal; 531,4 ±102,4 kcal, respectivo a 1ª, 2ª, 3ª semana de gestação, $P<0,00$), foram reduzidos no grupo com dieta ocidentalizada (Figura 3B). Na figura 3C vemos a evolução ponderal das gestantes neste período (GC: 252,6±12,2g; 268,6±13,2g; 303,7±15,3g. GO: 290,8±16,5g; 306,5±19,3g; 343,2±23,4g, $p<0,01$, para a 1ª, 2ª e 3ª semana gestacional, respectivamente), onde observou-se que apesar da menor ingestão alimentar e energética as ratas, as do GO tinham maior peso corporal.



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

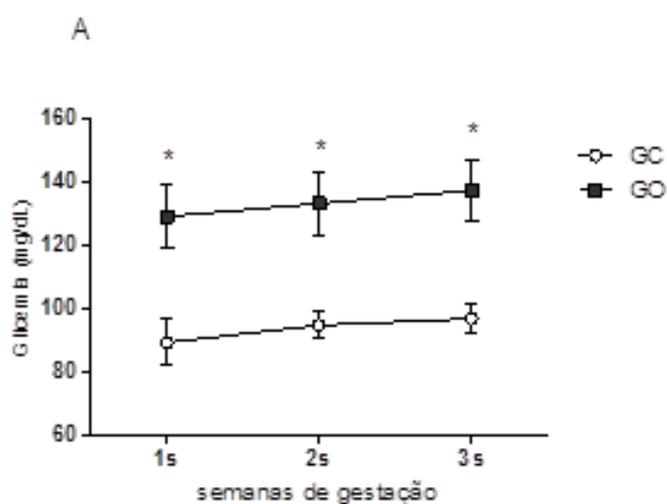


Figura 4: Glicemia de jejum das matrizes do GC e GO, por semana gestacional. GC: Grupo controle. GO: Grupo Ocidentalizado. Mg/dL: miligrama por decilitro. S: Semana. * vs GC. Anova *two-way* de medidas repetidas seguido pelo pós-teste de Tukey ($p < 0,001$).

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, as diferenças dos valores glicêmicos permaneceram 30% maiores. O consumo alimentar do grupo GOg (dieta comercial) e GOgl (dieta ocidentalizada) mostraram-se diferente nas 3 semanas comparados ao GC. Contudo, a ingestão energética só mostrou diferença na 2ª e 3ª semanas nos grupos GOg e GOgl comparados ao GC (Tabela 3). Na média do período, o consumo energético foi cerca de 40% menor nos grupos GOg e GOgl comparados ao GC. A menor ingestão de dieta controle no grupo GO pode ser decorrente da palatabilidade

modificada ou do poder da dieta ocidentalizada em exercer, em longo prazo, influência sobre o metabolismo, mesmo quando não é mais consumida.

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)	258,80±11,50	258,10±16,20	260,20±12
GOg (g)	285,00±12,50*	275,50±10,40*	276,10±8,30*
GOgl(g)	296,30±18,10*	293,90±16,40*	286,30±14,30*†
Consumo alimentar (g/dia)			
GC (g/dia)	34,96±8,57	40,23±6,07	43,03±6,29
GOg (g/dia)	21,78±2,83*	25,59±3,00*	26,56±3,07*
GOgl(g/dia)	18,14±3,28*	19,92±4,36*	20,97±4,69*
Consumo energético (g/dia)			
GC (kcal/dia)	125,89±30,80	144,8±21,9	154,91±22,70
GOg (kcal/dia)	78,40±10,18	92,12±10,81*	91,64±20,04*
GOgl(kca/dial)	83,46±15,08	95,60±11,04*	96,45±21,58*

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 Tukey (p<0,001).

PROLE

ANTROPOMETRIA E CONSUMO ALIMENTAR

As diferenças entre a composição nutricional das dietas consumidas, a quantidade ingerida e o peso corporal das ratas não refletiram alterações no

peso médio da prole ao nascer (GCf=6,5±0,5g; GOgf=6,4±0,5g; GOglf=6,5±0,8g, p=0,55), no número de filhotes por ninhada (GCf=10,44±1,66; GOgf=11,88±2,31, GOglf=11,55±2,12, p=0,13) ou na proporção fêmea:macho por ninhada. O peso médio ao nascer das fêmeas segundo a dieta materna foram: GCf=5,33±1,00; GOgf=5,66±1,50; GOglf=5,66±1,22 (p=0,51); e, para os machos: GCf=5,11±1,16 e GOgf=6,22±1,30; GOglf=5,88±1,36 (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 entre os grupos ocidentalizados, quando comparados ao GC (GCf=258,9±26,0g; GOgf=294,9±8,2g; GOglf=291,1±21,2g. p<0,01) (Figura 9). Porém, nenhuma diferença foi encontrada entre o peso corporal dos grupos GOgf e GOglf (p>0,05).

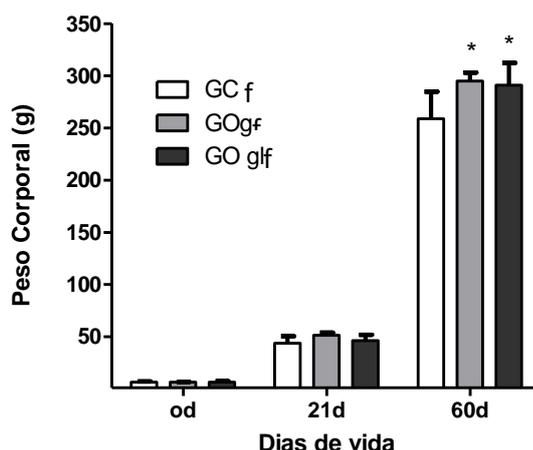


Figura 5: Avaliação ponderal do GCf, GOgf e GOglf ao nascimento (0d), ao desmame (21d) e aos 60 dias de vida. GCf: Filhotes do grupo controle. GOgf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidental do período pré-gestacional até o 21º dia de gestação. GOglf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidental 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 Tukey (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±1,33; GOgf=15,9±0,5cm; GOglf=15,4±0,7cm, p<0,05) e alteração no comprimento (GCf=20,95±0,66cm; GOgf=21,6±0,5cm; GOglf=22±1,1cm, p<0,05). O índice de massa corporal não diferiu entre os grupos (GCf=1,25±0,21; GOgf=1,20±0,11g/cm², 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 até o 60º dia de vida, variou ao longo das semanas de observação, conforme demonstrado na figura 6, onde pode ser observado aumento da ingestão alimentar do GOgf, quando comparado ao GCf (GOgf: 144,2g e GCf: 118,4g, $p < 0,05$) na segunda semana após desmame. 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; $p < 0,001$).

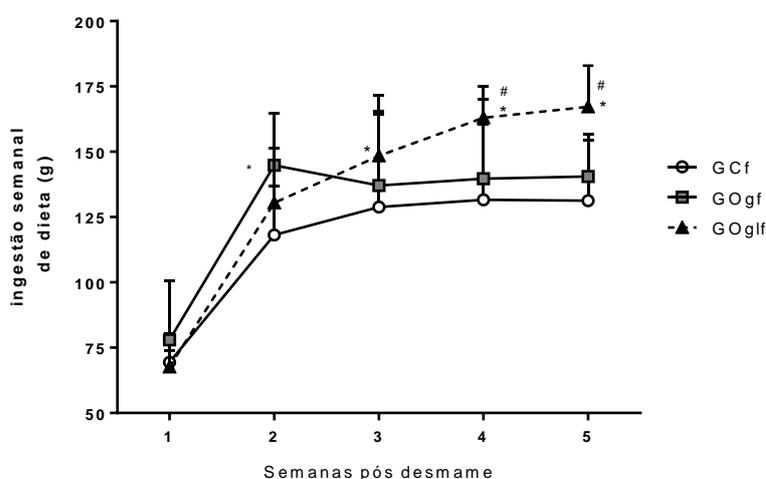


Figura 6: Média semanal da ingestão alimentar da prole GCf, GOgf e GOglf, do 22º ao 60º dia de vida. GCf: Filhotes do grupo controle. GOgf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidentalizada do período pré-gestacional até o 21º dia de gestação, com ração comercial durante lactação. GOglf: Filhotes do grupo que recebeu ração ocidentalizada do período pré-gestacional até o desmame. g: Gramas. S: Semanas. *GOgf e GOglf vs GCf; #GOglf vs GOgf. ANOVA *two-way* de medidas repetidas, seguido do pós-teste de Tukey ($p < 0,01$).

SEVERIDADE DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA AGUDA

Quando avaliada a intensidade da resposta inflamatória entre os grupos não tratados não foram observadas diferenças ($p > 0,05$). Este resultado pode ser decorrente de uma adaptação metabólica da mãe por ter ingerido dieta ocidentalizada desde a concepção, não refletindo na exacerbação da resposta inflamatória aguda de seus filhos aos 60 dias de vida, mesmo com maior

alteração no volume da pata aos 120min (+15%), 180min (+26%) e 240min (+22%) observada no GOglf e, aos 240min (+37%) no GOgf.

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). Apenas o fator tempo mostrou-se significativo nos grupos [F (5,75)= 34,89, $p < 0,0001$], mas, nenhuma diferença entre os grupos foi observada.

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

EDEMA DE PATA (mL)			
TEMPO/GRUPO	GCf (n=6)	GOgf (n=6)	GOglf (n=6)
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 receberam dieta ocidentalizada até o desmame. (%) Percentual de alteração do volume da pata em relação ao GCf. ANOVA *two-way* de medidas repetidas ($p > 0,05$).

Quanto à avaliação da eficácia farmacológica da nimesulida, medida a partir da capacidade da mesma em evitar o aumento do edema e expressa em percentual, foi demonstrado que a partir de 90min, ambos os grupos alimentados

com dieta ocidentalizada apresentaram uma resposta elevada quando contrastada com a resposta do controle (P=0,012) (figura 7).

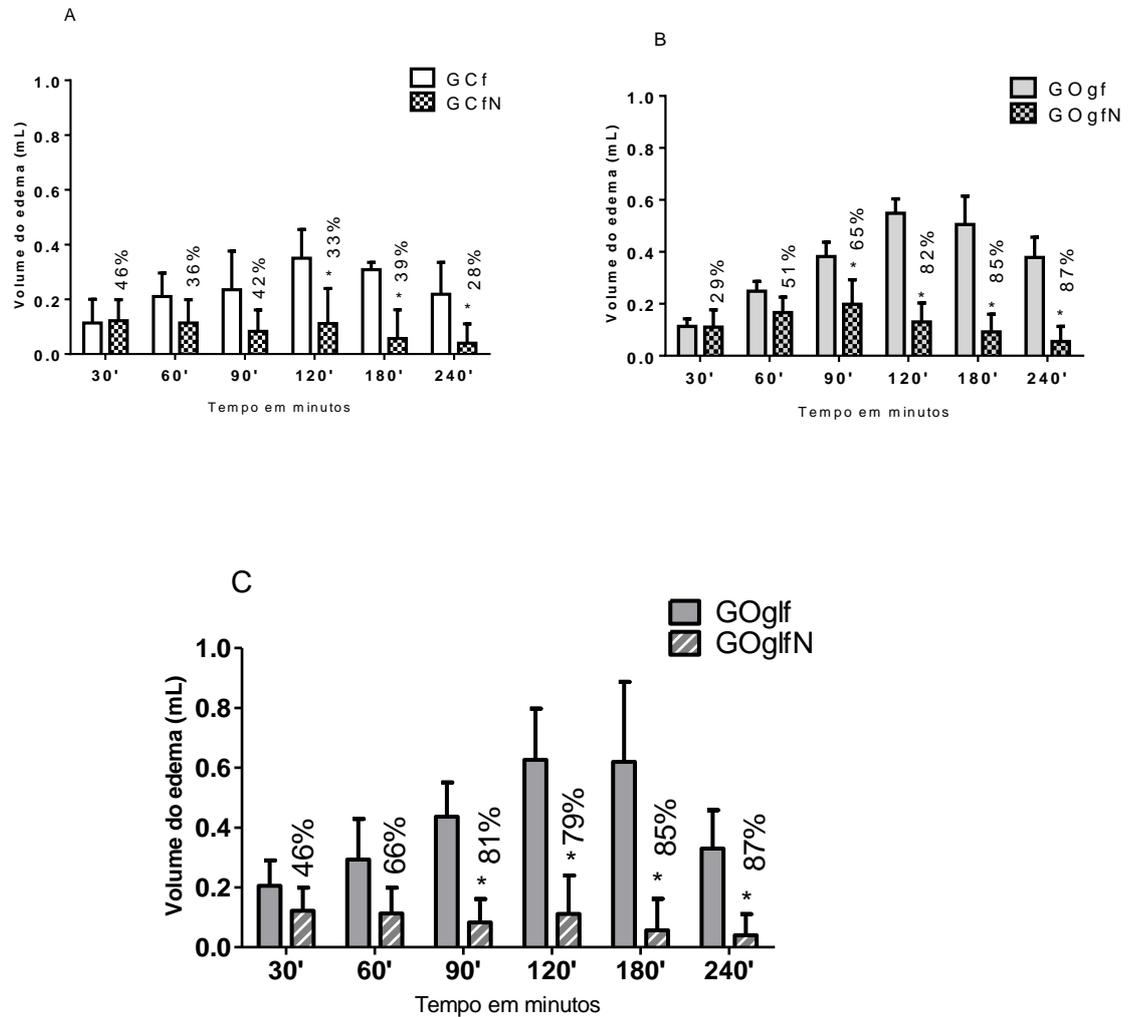


Figura 7: Comparação entre grupos do efeito da nimesulida (10mg/kg) sobre o edema de pata induzido no GCf (A), GOgf (B) e GOglf (C). %: Percentual de inibição da Nimesulida em cada intervalo de tempo. *Comparação entre cada grupo tratado e seu respectivo controle (GCfvsGCf-N, GOgfvsGOgf-N e GOglfvsGOglf-N). ANOVA *two-way* de medidas repetidas, seguido do pós-teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 5: 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)	6,33±1,11	10,11±1,20 [#]	15,74±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)	143,60±32,4 0	154,10±21,16 β	160,70±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: Aspartatoaminotransferase. ALT: Alanina aminotransferase. mil/mm³: mil por milímetro cúbico. mg/dL: miligrama por decilitro. U/L: Unidade por litro. g/dL: grama por decilitro. *vsGCf. #vsGCf-N. †vsGOgf-N. ^βvsGOgf. ^αvsGOglf. Anova *One way*, seguido do pós-teste de Tukey (p<0,05).

DISCUSSÃO

A dieta ocidentalizada ofertada às mães antes da concepção foi efetiva para gerar aumento de peso corporal (21% maior que o controle) e hiperglicemia persistente nas matrizes do GO (36% maior que o controle). Esta alteração de peso das mães não foi refletida em maior peso ao nascer na prole. Mas, em médio prazo, ambos os filhotes de mães alimentadas até a gestação ou até a lactação mostraram maior peso corporal, aumento da circunferência e adiposidade abdominal, elevado consumo alimentar, e alteração da homeostase da glicose no grupo GOglf, apesar dos filhotes receberem ração comercial (dieta controle) após o desmame. 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).

As matrizes que ingeriram dieta ocidentalizada também mostraram redução da ingestão de alimento, fato já observado em estudos anteriores (MORAIS, 2012) e que pode estar relacionado com o aumento de lipídios causando aumento da saciedade (KONTUREK et al, 2004). 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; LITTLE E FEINLE-BISSET, 2010). Esses fatores em conjunto, contribuem para supressão da fome, e, conseqüentemente, redução da quantidade de alimento consumido. O aumento da glicemia materna e possível incremento de ácidos graxos circulantes oriundo da dieta ou da síntese endógena, também podem reduzir o apetite.

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), que observaram 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. A diferença também pode ser por alterações metabólicas no organismo materno visto que a dieta foi ofertada antes do período gestacional, ou ainda, pela composição de ácidos graxos da mesma que interfere no processo de metabolização e oxidação da gordura.

As alterações do estado nutricional da prole podem ser percebidas aos 60 dias de vida onde diferenças antropométricas puderam ser observadas, nos grupos ocidentalizados (GOgf e GOglf). Encontramos maior peso corporal, comprimento e circunferência abdominal, e sem diferenças de IMC. Estes achados corroboram 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. Similar também 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 decorrente de alterações epigenéticas consequentes as modificações covalentes das histonas e/ou metilação do DNA (SUTER et al., 2011). Estas alterações podem influenciar vias do SNC relacionadas ao comportamento alimentar culminando em maior ingestão de alimento/energia resultando em hipertrofia dos adipócitos devido ao armazenamento do excesso energético sob forma de triacilgliceróis (MIELKE et al., 2006. GOULARTE et al., 2012).

No GOglf foi observado persistente hiperfagia quando comparado ao controle. 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 em filhotes de mães que consumiram dieta rica em gordura durante a gestação e lactação mudanças na atividade de peptídeos neurais relacionados à regulação da fome e da saciedade. Estes autores advogam que pode ter ocorrido 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.

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. Esta ausência de significância pode sugerir 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 ou ainda ser decorrente do período de observação. 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 necessariamente em um aumento da severidade da resposta inflamatória aguda nos descendentes na vida mais tardia.

Contrário aos resultados do presente estudo, ratos com obesidade geneticamente induzida, mostraram maior resposta inflamatória em grupos não tratados após 4 horas de início da injúria (IANNITTI e cols, 2012). No entanto, vale destacar que nesses animais, o acúmulo de gordura pode situar-se em cerca de 40% do peso corporal o que pode potencializar as repercussões da obesidade no processo inflamatório (CLEARY et al., 1980). Diferente deste estudo, onde apesar de não ter sido mensurado a composição corporal, a diferença de peso total estava apenas 20% maior que o controle, o que pode justificar a diferença da severidade da resposta inflamatória entre os grupos.

Quando avaliados os grupos tratados com o fármaco versus os grupos não tratados, o estudo mostra que o edema nos grupos não tratados é mais exacerbado. Este fato já é 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 (GCfN, GOgfN e GOglfN) foi verificado que o percentual de inibição da nimesulida se mostrou superior a partir dos 90 e 120 minutos, para o GOglfN e GOgfN, respectivamente, sugerindo uma maior ação da nimesulida com intuito de amenizar o desequilíbrio entre os mediadores anti e pró-inflamatórios. A nimesulida é rapidamente distribuída após administrada (volume aparente de distribuição: 0,18 - 0,39 L/Kg) e se liga fortemente à albumina (cerca de 99%). Dessa forma, menos de 1% da concentração total plasmática estaria disponível para se distribuir nos tecidos extra vasculares, como o tecido adiposo, não propiciando alteração da eficácia farmacológica da nimesulida em animais com maior gordura corporal (SOUSA, NETO E PARTATA, 2016),

O impacto da adaptação metabólica decorrente da oferta de dieta ocidental desde o período pré-gestacional até o final da lactação também pôde ser observado na glicemia dos expostos até a lactação e no leucograma de ambas as proles que foram expostas à dieta ocidental no início da vida. De acordo com Masuyama e Hiarmatsu (2012) modificações epigenéticas ocorridas *in utero* podem alterar o fenótipo da prole de mães alimentadas com dieta elevada em gordura de forma a comprometer a ação de células beta pancreáticas da prole culminando com uma intolerância à glicose e estado hiperglicêmico na vida adulta. 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 à glicose na presença de hiperinsulinemia (SRINIVASAN et al., 2006), justificando os achados observados no GOglf.

Igualmente, a exposição do feto a mãe com hiperglicemia e dieta elevada em gordura pode criar um ambiente placentário lipotóxico, favorável a síntese de citocinas pró-inflamatórias, favorecendo o recrutamento de células imunes fetais (CHALLIER et al., 2008) e aumento de sinais inflamatórios (SABEN et al., 2014). Este ambiente inflamatório pode influenciar aspectos da neurogênese e inflamação hipotalâmica onde o sistema imune do feto em desenvolvimento pode responder com produção de citocinas pró-inflamatórias e possível “resposta imunológica” denominada de “imunidade inata treinada” mantendo um fenótipo pró-inflamatório mesmo na vida adulta (CESAR; PISANI, 2017). Estes achados podem explicar em parte a exacerbada contagem de leucócitos observada nos grupos oriundos de mães alimentadas com dieta ocidentalizada.

Os resultados do presente estudo destacam importante achado no que se refere ao processo inflamatório em grupos de filhotes descendentes de mães que se alimentaram com dieta ocidentalizada antes da concepção. Os resultados indicam que apesar do aumento de leucócitos, indicando um estado inflamatório subclínico nos grupos ocidentalizados, não houve prejuízo a resposta de eficácia da nimesulida. No entanto, a extensão da dieta até o período de lactação mostrou alteração na glicemia de jejum. Em adição, alguns parâmetros do crescimento somático foram evidenciados na prole e alterações fisio-metabólicas foram observadas nas mães corroborando o efeito adversos da dieta ocidentalizada para a mãe e a progênie. Ressaltamos também que este estudo constitui um dos poucos a explorar sobre 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 descendentes e sobre como ocorre a atuação da Nimesulida neste contexto e neste período do início da vida adulta.

BIBLIOGRAFIA

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

Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP). Critério de classificação econômica Brasil [Internet]. ABEP, 2011, 4 p. [citado 2013 Nov

27]. Disponível em: <http://www.abep.org/novo/Utils/FileGenerate.ashx?id=197>. Acesso em 15 de Setembro de 2017 às 13h00m.

AYE, I.L.M.H.; LAGER, S.; RAMIREZ, V.I.; GACCIOLI, F.; DUDLEY, D.J.; JANSSON, 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.

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.

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.

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

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

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

CESAR, H.C.; PISANI, L.P. Fatty-acid-mediated hypothalamic inflammation and epigenetic programming. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.42,p.1-5, 2016.

CHALLIER, J.C. et al. Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. **Placenta**. v.29, p.274-81, 2008.

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.

CLEARY, M.P.; VASSELLI, JR.; GREENWOOD, M.R.C. Development of obesity in Zucker obese (fafa) 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.

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.

ECKEL, R.H.; ALBERTI, K.G.; ZIMMET, P.; GRUNDY, S.M.; ZIMMET, P.Z. The metabolic syndrome. **Lancet**. v.375, n.9710, p.181-183, 2010.

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.

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.

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.

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

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.

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.

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.

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

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.

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.

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.

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.

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.

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/opencvms/institucional/concea/Destaques/oquee.html>. Acesso em: 13 de Março de 2018 às 13h40m.

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

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 Ciências**.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.

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.

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
Purcell et al. (2011)

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.

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

SABEN, J. et al. Maternal obesity is associated with a lipotoxic placental environment. **Placenta**. v.35, p.171-7, 2014.

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.

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.

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.

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.

VITORELI, 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.

WANG, Y.; MONTEIRO, C.; POPKIN, B.M. Trends of obesity and underweight in older children and adolescents in the United States, Brazil, China, and Russia. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.75, n.6, p.971-7, 2002.

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

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal

**Universidade Federal de Pernambuco**
Centro de Biotécnicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (51 81) 2126 8840 / 2126 8751
Fax: (51 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 23 de agosto de 2016.

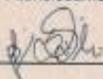
Ofício nº 80/16

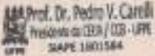
Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Elizabeth do Nascimento**
Departamento de Nutrição
Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 0034/2016

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/inhagem/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. Carelli
Presidente da CEUA/CCS-UFPE
UFPE
SAPE 1801544