

ARTIGO ORIGINAL

OBESIDADE DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO AUMENTA A RESPOSTA INFLAMATÓRIA E REDUZ A EFICÁCIA DA NIMESULIDA NOS DESCENDENTES DE RATAS *WISTAR*

Eryvelton de Souza Franco¹, Tamires Meira Menezes²,
Larissa Caroline de Almeida Sousa Lima³, Vera Kaissa Souza Santos Bacelar⁴,
Elizabeth do Nascimento⁵, Maria Bernadete de Sousa Maia⁶

Destaques

- (1) Ratas gestantes com dieta ocidental intensificam a resposta inflamatória aguda na prole.
- (2) O consumo materno da dieta ocidental altera a eficácia farmacológica da nimesulida na prole.
- (3) A peroxidação lipídica é aumentada na prole de ratos expostos a uma dieta ocidental durante a gestação.

RESUMO

O tipo de dieta consumida durante a gestação e início da vida aumenta a possibilidade do desenvolvimento de síndrome metabólica que pode resultar em alteração da eficácia de alguns fármacos. Objetivou-se avaliar a resposta inflamatória nos descendentes de ratas *Wistar*, alimentadas com dieta ocidental (DO), e o efeito anti-inflamatório da nimesulida. Utilizou-se 20 ratas *Wistar* e sua prole de ratos machos. As matrizes foram divididas no 1º dia de gestação em dois grupos: 1) DPgl: recebeu dieta padrão (DP); e 2) DOgl: recebeu DO, ambos da gestação até o final da lactação. No 21º dia de lactação os descendentes machos foram distribuídos em seis grupos ($n=5$ animais/grupo) e direcionados a diferentes protocolos experimentais para se avaliar no 60º dia de vida a influência do tipo de dieta na resposta inflamatória (por meio do edema de pata induzido por carragenina) e ação anti-inflamatória da nimesulida (5 mg/kg, i.p), pela quantificação dos níveis de IL-6, TNF- α e mieloperoxidase (MPO) no tecido plantar dos ratos. O volume do edema foi maior nos descendentes de matrizes DOgl, independente de terem recebido DP ou DO no pós-desmame; naqueles que receberam DO, a atividade da nimesulida foi reduzida e os níveis de IL-6, TNF- α e MPO foram elevados. Nos descendentes de matrizes DPgl, que receberam no pós-desmame DP, a atividade anti-inflamatória da nimesulida, verificada no volume da pata, foi mantida nos três tempos de avaliação. Dessa forma, a resposta inflamatória foi mais importante nos animais descendentes de DOgl que receberam DO, e estes apresentaram redução do efeito anti-inflamatório da nimesulida.

Palavras-chave: dieta ocidental; inflamação aguda; nimesulida.

¹ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife/PE, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-5864-7980>

² Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife/PE, Brasil. <http://lattes.cnpq.br/7361791587574905>

³ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife/PE, Brasil. <http://lattes.cnpq.br/9835477588068349>

⁴ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife/PE, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-0958-4455>

⁵ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife/PE, Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-3618-2673>

⁶ Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Recife/PE, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-4616-2681>

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença metabólica crônica, caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal¹ e considerada fator de risco para o desenvolvimento de outras morbidades, como diabetes, dislipidemias e cardiopatias². Atualmente a obesidade é denominada doença crônica não transmissível, e, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2021³, mais de 1,9 milhão adultos estavam acima do peso, e, dentre esses, 600 milhões encontravam-se obesos. Os hábitos da sociedade atual, como o alto consumo de *junk food*, a expansão das redes de *fast food*, aliada à redução da atividade física, têm sido associados à predominância da obesidade no Ocidente⁴. Tais condutas estão ligadas à disponibilidade e à alta palatabilidade dos alimentos consumidos, em paralelo à ingestão de alimentos processados e/ou ultraprocessados, que colaboram com o aumento dos índices de obesidade no mundo Ocidental⁵.

A associação entre obesidade e inflamação está relacionada ao alto nível de citocinas e proteínas de fase aguda. Os adipócitos sintetizam uma variedade de citocinas e outras proteínas de fase aguda da inflamação que, em última instância, aumentam a síntese e a circulação desses mediadores químicos^{6,7}. O excesso de gordura induz ao aumento na produção de adipocinas, resultando em impactos na fisiologia corpórea, como alterações na pressão arterial, no balanço energético, no sistema imunológico, na sensibilidade insulínica e na angiogênese⁸. Entre as adipocinas sintetizadas pelo tecido adiposo, destacam-se a adiponectina, a leptina, a interleucina 1 (IL-1), a interleucina 6 (IL-6), o Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), o ligante 2 de quimiocina com motivo C-C (CCL2) e os inibidores de serina proteases^{9,10}.

Para atenuar o desequilíbrio entre mediadores pró-inflamatórios são utilizados, na terapêutica, os anti-inflamatórios, a exemplo da nimesulida, que é um medicamento da classe dos anti-inflamatório não esteroides (AINE) e apresenta propriedades analgésicas e antipiréticas.

Estudos demonstraram o potencial terapêutico da nimesulida sobre *doença hepática gordurosa não alcoólica* (DHGNA) e resistência insulínica em modelos de camundongos submetidos à dieta hiperlipídica¹¹. Além disso, outros trabalhos verificaram o efeito benéfico da nimesulida na inibição do crescimento de vários tumores (cérnix, pâncreas, mama, pulmão) e na potencialização das atividades de enzimas antioxidantes específicas, como a glutathione peroxidase (GSH-Px), superóxido dismutase (SOD) bem como antioxidantes totais (ANTOX)¹²⁻¹⁴.

Neste contexto, nossa hipótese é que o consumo da dieta ocidental durante o período de desenvolvimento fetal até o desmame pode provocar exacerbação da resposta inflamatória aguda induzida por agente edematogênico e diminuição da eficácia farmacológica da nimesulida. Dessa forma, buscamos avaliar a fase aguda da resposta inflamatória, bem como a atividade anti-inflamatória da nimesulida na prole adulta de ratos *Wistar* proveniente de matrizes alimentadas com a dieta ocidental durante a gestação e lactação e/ou pós-desmame. Para isso utilizou-se o modelo de edema de pata induzida por carragenina e a quantificação das citocinas (IL-6 e TNF- α) e da mieloperoxidase (MPO).

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Produtos Bioativos (LFPB) no Departamento de Fisiologia e Farmacologia e no Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética do Departamento de Nutrição localizado na Universidade Federal de Pernambuco – UFPE –, *Campus Recife*.

Modelo Animal

Foram utilizadas 20 ratas albinas primíparas da linhagem *Wistar* e sua prole composta por 30 ratos machos. Os animais foram obtidos da colônia de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. O acasalamento ocorreu na proporção de um macho ($n=10$) para duas fêmeas ($n=20$). Todos foram mantidos em biotério de experimentação e alojados em gaiolas de polipropileno com dimensões de 46x31x21 cm (CxLxA) em um ambiente com temperatura de $22 \pm 1^\circ \text{C}$, ciclo claro-escuro invertido de 12/12 h e água filtrada e dietas *ad libitum*.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (Protocolo nº 23076.003.845/2015-63).

Dieta

A dieta ocidental (DO), caracterizada por possuir maior quantidade de lipídios saturados que a dieta padrão (DP), foi produzida a partir de uma diversidade de alimentos naturais e purificados, triturados e homogeneizados até obtenção de *pellets*. A composição da DO encontra descrita por Ferro-Cavalcante et al.^{15,16}. A composição dos macronutrientes das dietas utilizadas em razão de seu valor energético total encontra-se descrita na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1 – Macronutrientes segundo o Valor Energético Total (VET) da dieta padrão (Presence*) ou ocidental

Dieta	Proteína (% kcal VET)	Carboidrato (% kcal VET)	Lipídio (% kcal VET)	VET (kcal/g)
Ocidental*	20	49	31	4,2
Presence **	26	63	11	3,6

* Os cálculos da composição centesimal de macronutrientes foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (Taco). VET= valor energético total.

** Determinado pelo Instituto Adolfo Lutz, 1985 .

Manipulação nutricional

A partir do 1º dia de gestação (confirmada pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal), as matrizes foram divididas aleatoriamente em dois grupos: 1) DPgl, que receberam a DP de biotério (Presence*) durante a gestação e lactação; e 2) DOgl, que receberam DO durante a gestação e lactação.

No 21º dia de lactação, que correspondeu ao dia do desmame, apenas os descendentes machos permaneceram no experimento e foram alocados em seis grupos ($n=5$ animais/grupo), divididos da seguinte maneira:

- DPgl-DP – matrizes que receberam a DP durante a gestação e lactação, sendo a prole, de machos, mantida com DP do pós-desmame até o 60º dia de vida;
- DOgl-DO – matrizes que receberam DO durante a gestação e lactação, sendo a prole, de machos, mantida com DO do pós-desmame até o 60º dia de vida;
- DPgl-DO – matrizes que receberam DP durante a gestação e lactação, sendo a prole, de machos, alimentada com DO do pós-desmame até o 60º dia de vida;
- DOgl-DP – matrizes que receberam DO durante a gestação e lactação, sendo a prole, de machos, alimentada com DP do pós-desmame até o 60º dia de vida.
- DPgl-DPn – matrizes que receberam DP durante a gestação e lactação, sendo a prole, de machos, alimentada com DP do pós-desmame até o 60º dia de vida, e para avaliar a eficácia da nimesulida receberam 5 mg/kg, i.p. única aplicação;

- vi. DOgl-DOn – matrizes que receberam DO durante a gestação e lactação, sendo a prole, de machos, alimentada com DO do pós-desmame até o 60º dia de vida, e para avaliar a eficácia da nimesulida receberam 5 mg/kg, i.p. única aplicação.

Evolução ponderal das matrizes alimentadas com DP ou DO e de suas respectivas proles

A aferição do peso corporal foi realizada semanalmente nas matrizes durante a gestação e lactação e em suas respectivas proles, de machos, ao nascimento e do 21º dia até 60º dia de vida.

Determinação do consumo alimentar

O consumo alimentar das matrizes durante a gestação e lactação e de suas proles no período pós-desmame até os 60 dias de vida foi avaliado a cada dois dias e calculado por meio da subtração do peso inicial da alimentação ofertada pela sobra da gaiola no período de 48 horas.

Determinação do perfil bioquímico e hematológico

Aos 60 dias de vida os animais foram colocados em jejum por 10 horas e submetidos à indução do edema de pata. Após o término da realização dos experimentos os animais foram anestesiados com tiopental (30 mg/kg) para obtenção de amostras de sangue (5mL) durante a decapitação por guilhotina para determinação de variáveis bioquímicas (Albumina sérica e Proteína C Reativa (PCR)) e hematológicas (contagem total e diferencial dos leucócitos). A amostra foi centrifugada para obtenção do soro e armazenada em freezer -20º C para posterior análise das proteínas de fase aguda. A determinação da albumina foi realizada no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, e para Proteína C Reativa foi utilizado *kit* comercial específico para ratos (Boster Biological Technology Co., Ltd., Fremont, Califórnia, EUA).

Para a determinação do número total de leucócitos e contagem diferencial, foi utilizado o método automatizado, realizado no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Influência da DO na intensidade da resposta inflamatória aguda e na atividade anti-inflamatória da nimesulida em ratos Wistar

Para o estudo da resposta inflamatória aguda e do efeito anti-inflamatório da nimesulida, foi utilizado o modelo de edema induzido por carragenina¹⁷. Para isso, foram estruturados seis grupos ($n=5$ animais/grupo). Todos os animais estavam com 60 dias de vida e foram colocados em jejum por 10 horas antes de serem submetidos à indução do edema de pata. Os grupos foram compostos da seguinte forma: I) controle – DPgl-DP, DOgl-DO, DPgl-DO e DOgl-DP; e II) tratados com nimesulida, (DPgl-DPn, DOgl-DOn) e foram submetidos aos seguintes experimentos:

Experimento A: os animais dos grupos DPgl-DP, DOgl-DO, DPgl-DO e DOgl-DP foram tratados com água destilada (5 mg/kg, i.p) 45 minutos antes de receber a injeção subplantar de carragenina (0,1 mL – 1% v/v em salina) na pata traseira esquerda.

Experimento B: os grupos DPgl-DPn e DOgl-DOn foram previamente tratados com nimesulida (5 mg/kg, i.p) 45 minutos antes da injeção subplantar do agente edematogênico (carragenina) nas mesmas condições descritas no experimento A.

O volume da pata injetada foi medido em pletismômetro digital (Panlab – Harvard Apparatus, Modelo LE 7500) antes (0 min) e 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após a injeção da carragenina. A variação do volume das patas foi expressa em mililitros pela diferença registrada no volume das patas antes (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 DOgl-DO, DOgl-DP e DPgl-DO foi comparada com o grupo DPgl-DP.

Porcentagem de inibição = $1 - V_t/V_c \times 100$, onde V_t corresponde à média das diferenças resultantes das medidas das patas nos grupos tratados com nimesulida (DPgl-DPn e DOgl-DOn) e V_c corresponde à média das diferenças resultantes das medidas das patas nos grupos controle (DPgl-DP e DOgl-DO).

Ao final dos experimentos foram coletadas amostras de sangue para avaliação das variáveis bioquímicas e hematológicas e toda região subplantar da pata esquerda dos animais para a quantificação das citocinas (IL-6 e TNF- α) e da MPO.

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

Com quatro horas de injeção do agente edematogênico (carragenina) os animais foram submetidos à eutanásia para retirada de tecido da região plantar das patas, e estes foram homogeneizados em 500 μ L de solução tampão. Para determinação dos níveis de TNF- α e IL-6 foi empregado o método Elisa, utilizando-se *kits* comerciais específicos (Boster Biological Technology Co., Ltd., Fremont, Califórnia, EUA). As amostras foram testadas em triplicata e os resultados gerados mediante a comparação da absorbância com as curvas padrões.

Atividade da Mieloperoxidase

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima presente nos grânulos azurófilos dos neutrófilos e tem sido utilizada como marcador para quantificação de migração de neutrófilos em processos inflamatórios em diversos tecidos. Para avaliar a infiltração celular para o sítio inflamatório por intermédio da quantificação da mieloperoxidase (MPO), foram utilizadas amostras da região subplantar da pata edemaciada dos animais, coletadas e armazenadas em 500 μ L de tampão CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio pH 6,0, 1 g/ml) a 0,5% em um freezer de -80°C. Para análise, as amostras foram homogeneizadas em um Politron (Teclab®) com tampão CTAB. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 14.000 rpm por 10 minuto a 4°C e o sobrenadante coletado.

A atividade da mieloperoxidase por mL de tecido foi mensurada por meio da técnica descrita por Bradley; Christensen; Rothstein¹⁸. Foram distribuídos 7 μ L de sobrenadante em placa de 96 poços. A seguir, foi adicionado 200 μ L de solução de o-dianisidina por poço (16,7 mg de o-dianisidina; 90 mL de água MilliQ; 10 mL de tampão fosfato de potássio). Foi utilizado como substrato para MPO o peróxido de hidrogênio a 1%. A unidade da atividade de MPO foi definida como aquela capaz de converter 1 μ mol de peróxido de hidrogênio em água em 1 minuto a 22°C. À medida que o peróxido de hidrogênio é degradado, ocorre a produção de ânion superóxido que converte a o-dianisidina em um composto de cor marrom. Os resultados foram expressos como atividade de MPO/mL.

Análise estatística

Os resultados obtidos foram expressos em média $\pm$ desvio padrão e a normalidade dos dados foi verificada a partir do teste de Kolmogorov Smirnov. Para avaliação do peso corporal, volume do edema, intensidade da resposta inflamatória aguda e porcentagem de inibição de edema pela nimesulida, foram utilizados o teste Anova *two-way*, seguido de teste de *Bonferroni*. Foi empregado o teste *T-Student* para avaliação do peso das mães durante a gestação e lactação. Para comparação entre os grupos e análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, quantificação de citocinas e da atividade da mieloperoxidase, foram usados o teste Anova *one-way* seguido do teste de Tukey. A análise estatística foi realizada no software *Graphpad Prism Software Prisma*® 8.0. Foi considerado para fins estatísticos o nível de significância $P < 0,05$ (5%).

RESULTADOS

Evolução ponderal das matrizes alimentadas com DP ou DO e de suas respectivas proles

Durante a gestação e lactação não houve diferenças entre o peso das mães, grupos DPgl ou DOgl ou no peso das proles ao nascimento ou ao desmame (tabela 2). Aos 60 dias de vida, contudo, os grupos DOgl-DO, DOgl-DP e DPgl-DO apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($P<0,05$) quando comparados ao grupo alimentado com DP (DPgl-DP).

Tabela 2 – Peso corporal (grama) das matrizes alimentadas com dieta padrão (DP) ou dieta ocidental (DO) durante a gestação e lactação e de suas respectivas proles

MATRIZES	DP		DO	
Final da Gestação	297,60 ± 18,36		305,6 ± 29,74	
Final da Lactação	288,60 ± 46,81		281,8 ± 20,9	
PROLES	DPgl-DP	DPgl-DO	DOgl-DO	DOgl-DP
Ao nascer	6,50 ± 0,70	7,30 ± 0,60	6,80 ± 0,50	7,10 ± 0,30
Ao desmame (22 dias)	53,40 ± 8,99	57,80 ± 2,48	51,90 ± 4,04	49,10 ± 4,77
Aos 60 dias	229,70 ± 16,34	276,00 ± 26,44*	291,80 ± 24,29*	275,30 ± 12,61*

Valores expressos em média ± DP. Significância obtida a partir da Anova *two way* seguido do teste de *Bonferroni* (* $P<0,05$) quando comparado DP *versus* DO ou DPgl-DP *versus* DOgl-DO, DOgl-DP ou DPgl-DO ou ($n=5$ animais/grupo).

A evolução ponderal (g) semanal dos grupos alimentados com DP ou DO durante a gestação, lactação e/ou pós-desmame encontra-se representado na Figura 1. Os animais do grupo DOgl-DO apresentaram ganho de 16% no peso corporal significativamente ($P<0,05$) maior nas 3ª, 6ª e 7ª semanas de consumo de dieta, quando comparados aos animais do grupo DPgl-DP (Figura 1). Enquanto o grupo DOgl-DP apresentou ganho de peso maior que o DPgl-DP a partir da 4ª semana até a 7ª semana (Figura 1). Quanto ao peso corporal do DPgl-DO, foi observado uma diferença no ganho de peso, sendo maior que DPgl-DP a partir da 5ª semana até 7ª semana (Figura 1).

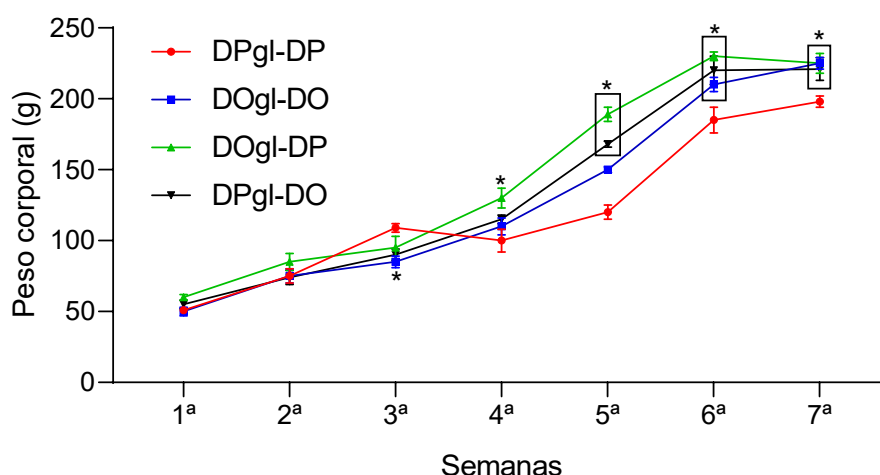


Figura 1 – Média do peso corporal (g) de ratos *Wistar* ($n=5$ animais/grupo) alimentados com dieta padrão (DP) ou dieta ocidental (DO) nos períodos de gestação, lactação e/ou pós-desmame.

Valores expressos em média ± DP. Significância obtida a partir da Anova *two way* seguido de teste de *Bonferroni* (* $P<0,05$). O * refere-se a diferença verificada entre os grupos experimentais (DOgl-DO ou DPgl-DO ou DOgl-DP) comparado ao grupo controle (DPgl-DP).

Consumo alimentar

O consumo alimentar (g) diário dos grupos alimentados com DP ou DO durante a gestação, lactação e/ou pós-desmame encontra-se representado na Figura 2. Conforme pode ser observado, os animais do grupo DOgl-DO apresentaram uma redução do consumo alimentar na 3ª e 4ª semana de oferta de dieta em relação ao grupo DPgl-DP. Os grupos que tiveram a dieta permutada nos períodos da gestação, lactação e/ou no pós-desmame (DPgl-DO e DOgl-DP) também foram comparados com o grupo DPgl-DP. Verificou-se que o consumo alimentar do grupo DOgl-DP não difere do grupo DPgl-DP. Por sua vez, quando realizada a comparação entre o DPgl-DO com o DPgl-DP, foi observado que o DPgl-DO reduziu o consumo na 4ª semana pós-desmame.

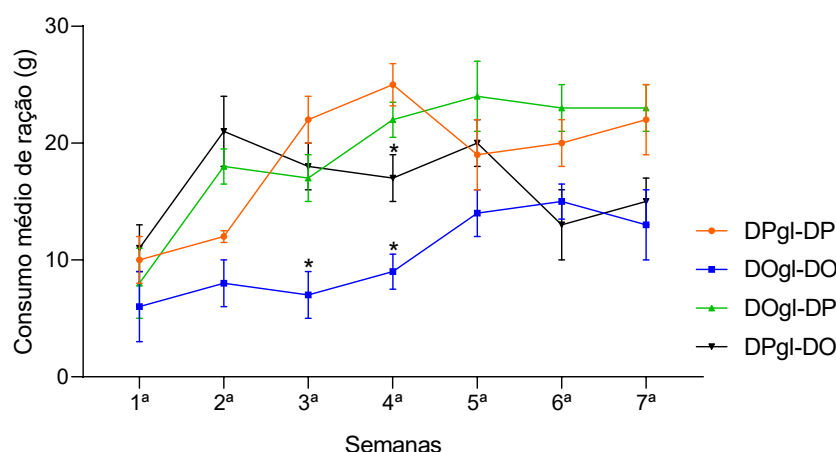


Figura 2 – Média do consumo alimentar diário (g) de ratos *Wistar* (n=5 animais/grupo) alimentados com dieta padrão (DP) ou dieta ocidental (DO) nos períodos de gestação, lactação e/ou pós-desmame.

Valores expressos em média $\pm$ DP. Significância obtida a partir da Anova *two way* seguida de teste de Bonferroni (* $P<0,05$). O * refere-se a diferença verificada entre os grupos experimentais (DOgl-DO ou DPgl-DO ou DOgl-DP) comparado ao grupo controle (DPgl-DP)

Parâmetros bioquímicos e hematológicos

A análise dos parâmetros bioquímicos e hematológicos não revelou nenhuma diferença estatística entre os grupos (DPgl-DP e DOgl-DO; DOgl-DP e DPgl-DO) aos 60 dias de vida (Tabela 3)

Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos e hematológicos da prole de ratos *Wistar* adultos (n=5 animais/grupo) alimentados com DP ou DO durante a gestação, lactação e do pós-desmame até ao 60º dia de vida (DPgl-DP e DOgl-DO, respectivamente) ou submetidas à permuta de dietas (DOgl-DP e DPgl-DO) após o período pós desmame

Parâmetros	DPgl-DP	DOgl-DO	DOgl-DP	DPgl-DO
Albumina (g/dL)	2,38 $\pm$ 0,24	2,18 $\pm$ 0,49	2,22 $\pm$ 0,21	2,44 $\pm$ 0,08
Proteínas totais (g/dL)	5,02 $\pm$ 0,34	4,72 $\pm$ 0,69	4,76 $\pm$ 0,32	4,98 $\pm$ 0,49
PCR (ng/dL)	6,74 $\pm$ 24,1	6,75 $\pm$ 4,70	6,75 $\pm$ 4,70	6,75 $\pm$ 3,80
Leucócitos (10 ³ mm ³)	9,53 $\pm$ 0,52	8,57 $\pm$ 1,16	9,06 $\pm$ 0,96	8,08 $\pm$ 2,01
Neutrófilos (%)	2,96 $\pm$ 0,62	2,96 $\pm$ 1,12	1,99 $\pm$ 0,51	2,91 $\pm$ 1,23
Eosinófilos (%)	0,12 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,05
Basófilos (%)	0,03 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01
Linfócitos (%)	4,46 $\pm$ 1,04	5,88 $\pm$ 1,21	5,52 $\pm$ 1,30	4,11 $\pm$ 8,06
Monócitos (%)	2,19 $\pm$ 2,85	1,70 $\pm$ 3,01	2,09 $\pm$ 1,30	2,15 $\pm$ 2,84

Os valores são apresentados como média $\pm$ DP. Significância obtida a partir da Anova *One-Way* seguida do teste de *Tukey* ($*P<0,05$). PCR: Proteína C reativa; DPgl-DP: prole das matrizes que receberam a DP durante a gestação, lactação e pós-desmame até o 60º dia de vida; DOgl-DO: prole das matrizes que receberam DO durante a gestação, lactação e no pós-desmame até o 60º dia de vida; DPgl-DO: prole de matrizes que receberam DP durante a gestação e lactação, e DO no pós-desmame até o 60º dia de vida e DOgl-DP: prole das matrizes que receberam DO durante a gestação e lactação e DP no pós-desmame até o 60º dia de vida.

Influência da DO na intensidade da resposta inflamatória aguda de ratos *Wistar*

A resposta inflamatória aguda induzida por carragenina foi mais severa nos grupos DOgl-DO, DOgl-DP e DPgl-DO nos intervalos de 120, 180 e 240 minutos quando comparados ao grupo DPgl-DP (Tabela 4).

Tabela 4 – Média do volume da pata nos grupos DPgl-DP, DOgl-DO, DPgl-DO e DOgl-DP (n=5 animais/grupo) com edema de pata induzido por injeção subplantar de carragenina (0,1 mL)

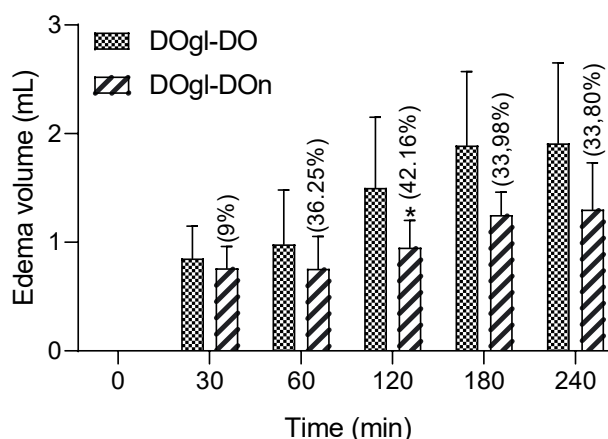
Grupos	Edema de Pata (mL)				
	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
DPgl-DP	0,38 $\pm$ 0,12 (100%)	0,56 $\pm$ 0,18 (100%)	0,93 $\pm$ 0,20 (100%)	1,11 $\pm$ 0,26 (100%)	1,07 $\pm$ 0,14 (100%)
DOgl-DO	0,71 $\pm$ 0,25 (+86%)	0,91 $\pm$ 0,23 (+62%)	1,66 $\pm$ 0,61* (+78%)	2,06 $\pm$ 0,62* (+85%)	2,10 $\pm$ 0,67* (+96%)
DPgl-DO	0,49 $\pm$ 0,17 (+28%)	0,68 $\pm$ 0,14 (+21%)	1,35 $\pm$ 0,16* (+45%)	1,55 $\pm$ 0,23* (+39%)	1,27 $\pm$ 0,34 (+18%)
DOgl-DP	0,77 $\pm$ 0,07 (+102%)	1,03 $\pm$ 0,10* (+83%)	1,62 $\pm$ 0,16* (+74%)	1,92 $\pm$ 0,36* (+72%)	1,51 $\pm$ 0,37* (+41%)

() percentagem de aumento nos volumes das patas (intensidade de resposta inflamatória) em relação ao grupo DPgl-DP. Valores expressos em média $\pm$ SD. * $P<0,05$. O * refere-se à diferença verificada entre os grupos experimentais (DOgl-DO ou DPgl-DO ou DOgl-DP) comparado ao grupo controle (DPgl-DP).

Influência do consumo da DO na atividade anti-inflamatória da nimesulida em ratos *Wistar*

A Figura 3 (A e B) apresenta a evolução do edema de pata nos animais alimentados com DP ou DO e tratados com nimesulida no modelo de inflamação aguda induzida por carragenina. Como pode ser verificado, o efeito anti-inflamatório da nimesulida (% de inibição do edema de pata) foi significativamente menor no grupo DOgl-DO, quando comparado ao grupo DPgl-DP. Adicionalmente, nos animais do grupo DPgl-DP o efeito anti-inflamatório da nimesulida foi verificado nos intervalos de 120 (38,70%), 180 (38,73%) e 240 minutos (38,31%); enquanto nos animais do grupo DOgl-DO apenas no intervalo de 120 min (42,16%).

A



B

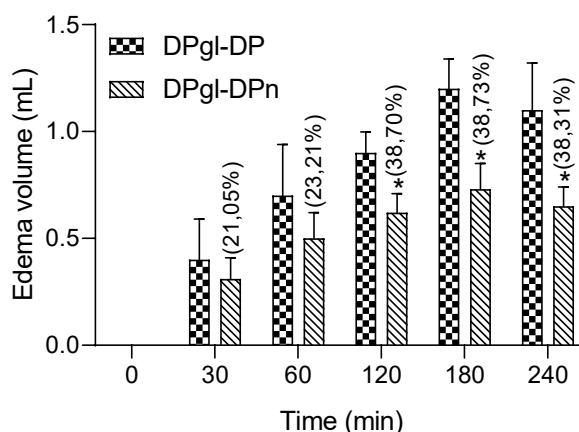


Figura 3 – Efeito do tratamento com Nimesulida (5 mg/kg, i.p. única aplicação) sobre o edema de pata induzido por injeção subplantar de carragenina nos grupos DPgl–DPn (A), e DOgl–DON (B). Valores expressos em média $\pm$ DP. Significância obtida a partir da ANOVA *two way* seguida do teste de Bonferroni. * $P < 0,05$ quando comparado a seus respectivos grupos controles (DPgl–DP versus DPgl–DPn, e DOgl–DO versus DOgl–DON).

Níveis de IL-6 e TNF- α

A Figura 4 (A e B) apresenta os dados das concentrações das citocinas pró-inflamatórias IL-6 e TNF- α , no homogenato da região subplantar dos grupos DPgl-DPn, DOgl-DOn, e DPgl-DP e DOgl-DO. Os resultados obtidos revelam uma elevação significativa dos níveis dessas citocinas nos animais dos grupos DOgl-DO quando comparados ao grupo DPgl-DP. O grupo tratado com nimesulida (DPgl-DPn) apresentou redução significativa nos níveis de IL-6 e TNF- α quando comparado ao seu grupo controle (DPgl-DP). O grupo DOgl-Don, contudo, não apresentou diferença nos níveis de IL-6 e TNF- α quando comparado com o seu grupo controle (DOgl-DO).

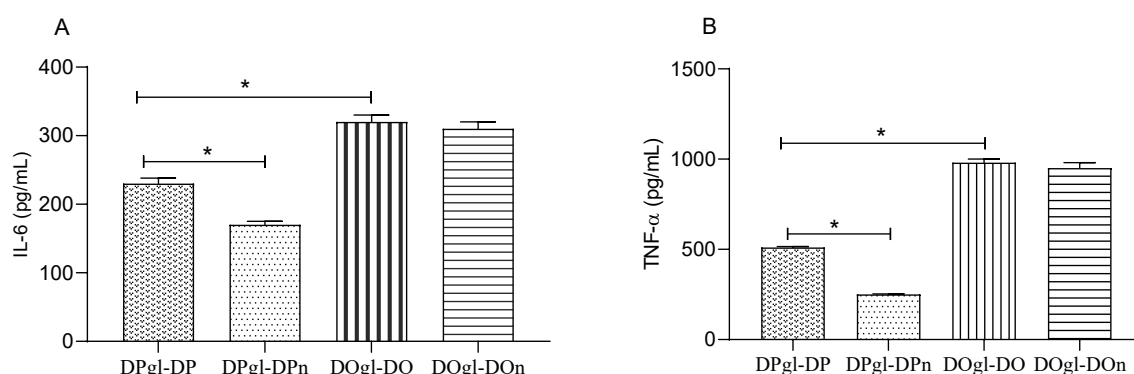


Figura 4 – Níveis de IL-6 (A) e TNF- α (B) no homogenato da região subplantar dos grupos tratados (DPgl-DPn, DOgl-DOn) e de respectivos grupos controles (DPgl-DP e DOgl-DO) quatro horas após a injeção de carragenina. Valores expressos em média $\pm$ DP. Significância obtida a partir da Anova *one way* seguida do teste de Tukey * $P < 0,05$.

Atividade da enzima mieloperoxidase (MPO)

Os animais do grupo DOgl-DO apresentaram atividade de MPO maior quando comparado ao grupo DPgl-DP (Figura 5). No que se refere ao tratamento com a nimesulida (5 mg/kg; i.p. única aplicação), os animais do grupo DPgl-DPn apresentaram significativa redução da atividade da MPO

quando comparado a seu respectivo grupo controle (DPgl-DP), enquanto nenhuma alteração foi verificada no grupo DOgl-DOn em relação ao seu respectivo controle DOgl-DO.

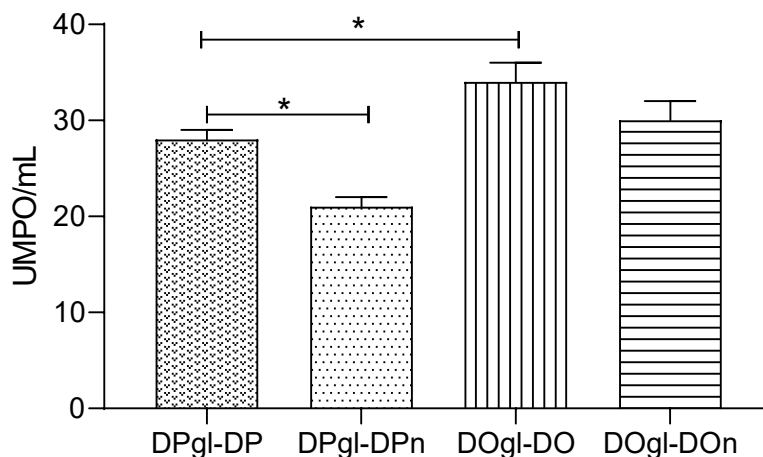


Figura 5 – Atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) no sobrenadante de homogenato da região supltar de ratos *Wistar* quatro horas após a injeção de carragenina nos grupos tratados com nimesulida (DPgl-DPn, DOgl-DOn) e de seus respectivos grupos controles (DPgl-DP e DOgl-DO). Valores expressos em média $\pm$ DP. Significância obtida a partir da Anova *one way seguido* do teste de Tukey. $P < 0,05^*$.

DISCUSSÃO

Estudos revelam que o aumento da quantidade de gordura ou da carga energética mediada pelos carboidratos nas dietas levam à redução do consumo alimentar em modelo animal¹⁹. Provavelmente nos animais sem distúrbio metabólico, esse equilíbrio ocorre mediado pelo ajuste no balanço energético. Nossos resultados estão em concordância com esses autores, posto que, em diferentes momentos do acompanhamento, houve redução do consumo de alimentos. Esta redução, por sua vez, não foi acompanhada de redução de peso corporal, mas, ao contrário, a dieta ocidental causou aumento de peso em todos os grupos. Sugerimos, portanto, que a proporção energética oriunda dos diversos tipos de ácidos graxos (saturados e insaturados) provavelmente contribuiu para este ganho excessivo, uma vez que a dieta ocidental possui maior teor de ácido graxo saturado¹⁵. O metabolismo das gorduras saturadas é distinto das insaturadas, contribuindo para o maior armazenamento de gordura corporal. Por sua vez, Turchi et al.²⁰ relataram dano no metabolismo mitocondrial, com a predisposição de ganho de peso corporal excessivo, em mamíferos, quando alimentados com dieta hipercalórica semelhante à dieta consumida pela população do Ocidente.

Estudos clínicos e não clínicos sugerem que a obesidade durante o período da gestação afeta negativamente a saúde da prole em curto e longo prazos, aumentando o risco de desenvolvimento da obesidade e outras comorbidades, e pode resultar em morte prematura²¹. Segundo Drozd et al.²² e Faienza et al.²³, o peso corporal no início da vida é um indicador-chave do risco para doenças metabólicas na idade adulta. Em nosso estudo, a DO foi capaz de induzir aumento do peso corporal (16%) dos animais que receberam a dieta durante a gestação, lactação e/ou pós-desmame.

Desai et al.²⁴ observaram que os diferentes efeitos causados pela dieta materna no fenótipo da prole dependem do período de suprimento, ou seja, na gestação e/ou na lactação. Os mesmos autores constataram que a exposição à dieta hipercalórica durante a gestação e lactação resultou em fenótipo

alterado na prole, caracterizado por uma obesidade exagerada quando comparada ao grupo derivado de matrizes alimentadas com a mesma dieta apenas durante a gestação. Dentro desse contexto, Buzinaro et al.²⁵, em seus estudos, demonstraram que mulheres com diabetes *mellitus* gestacional e que apresentavam glicemia de jejum e diária elevadas, deram à luz a filhos com maior peso ao nascer, e esses, durante a adolescência, apresentaram maior frequência de sobrepeso. Esses resultados são sugestivos de que quanto maior a exposição à dieta que leve a um quadro de obesidade e alterações metabólicas, maior a possibilidade de os descendentes apresentarem complicações metabólicas na idade adulta. Ademais, estudos em camundongos C57BL/6 com obesidade induzida por dieta verificaram aumento da adiposidade, intolerância à glicose, hiperlipidemia e alterações estruturais nos rins em suas proles²⁶.

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que todos os grupos alimentados com DO em diversos momentos do período experimental (DOgl-DO; DOgl-DP e DPgl-DO) apresentaram perfil metabólico semelhante ao perfil de obesos, mostrando uma exacerbada resposta inflamatória pelo aumento do volume de pata e corroborado por elevação do nível de citocinas. Neste estudo demonstramos que o nível de TNF- α e IL-6 em animais que consumiram dieta ocidental foram superiores quando comparados aos animais alimentados com dieta padrão. Estes resultados sugerem a associação da obesidade ao estado subclínico da inflamação dos animais expostos à dieta hipercalórica ou rica em lipídios.

Os níveis de citocinas dos ratos pré-tratados com nimesulida (5 mg/kg, i.p. única aplicação) em nosso estudo não demonstraram diferença estatística entre os grupos (DOgl-DO x DOgl-Don), ou seja, a nimesulida não foi capaz de diminuir o nível de TNF- α e IL-6. No trabalho realizado por Azab; Kaplanski²⁷ em ratos pré-tratados com nimesulida (30 mg/kg, i.p.), no entanto, verificou-se uma diminuição na produção de TNF- α . Sugerimos que a dose e o veículo utilizado por Azab; Kaplanski²⁷ influenciaram na redução da síntese desta citocina (5 mg/kg vs. 30 mg/kg; carboximetilcelulose vs DMSO). Nossos resultados corroboram os encontrados por Liang et al.²⁸, que demonstraram que a nimesulida não foi capaz de diminuir o nível de TNF- α quantificada no fígado e na aorta em camundongos alimentados com dieta hipercalórica.

Semelhante aos resultados encontrados no presente estudo, a exacerbada inflamação induzida pela carragenina foi demonstrada em ratos obesos Zucker comparados aos controles²⁹. Em adição, elevada expressão de moléculas de adesão e infiltração de macrófagos foi encontrada como resposta à inflamação vascular em ratos Zucker com obesidade³⁰.

De acordo com Hosogai et al.³¹, na obesidade os adipócitos são hipertrofiados e comprometem a vascularização do tecido adiposo, causando uma restrição na disponibilidade de oxigênio, resultando em hipóxia tecidual³². À medida que o tecido se expande, há infiltração de macrófagos com ativação da produção de TNF- α , de IL-6, de interleucina-1 β , da leptina, da resistina e da proteína quimiotática de monócitos (MCP-1)³³. Fantuzzi³⁴ sugere que a leptina induz o estresse oxidativo e contribui para a acumulação de macrófagos, facilitando a adesão de macrófagos e células endoteliais.

A relação entre aumento do peso corporal e infiltração de neutrófilos no parênquima do tecido adiposo intra-abdominal foi demonstrada após início da ingestão de dieta hipercalórica em camundongos C57BL/6J³⁵. Alta ingestão de gordura resulta no aumento da infiltração de neutrófilos e expressão da atividade da MPO no tecido adiposo branco epididimal, juntamente com aumento do peso e sinalização insulínica alterada³⁶. Os níveis plasmáticos da enzima MPO mostraram-se elevados em indivíduos obesos com inflamação sistêmica, incrementando o risco de doença cardiovascular.

Os anti-inflamatórios não esteroidais (Aines), a exemplo da nimesulida utilizada neste estudo, estão entre as categorias de medicamentos mais utilizados para atenuar as consequências decorrentes de um estímulo inflamatório. Sua ação consiste em inibir seletivamente a atividade da enzima

ciclooxigenase-2 (COX2)³⁷. Alguns estudos mostram que a composição funcional e corporal em obesos podem alterar a distribuição do fármaco, não observando no volume de distribuição a depuração renal, a hepática e a ligação às proteínas plasmáticas³⁸⁻³⁹. A nimesulida é um composto lipofílico, isto é, apresenta maior afinidade com a gordura, e a ligação do fármaco às proteínas plasmáticas não é modificada na obesidade. Estudos atuais sobre o assunto são necessários para entender melhor o mecanismo farmacológico em indivíduos obesos, posto que a obesidade é uma doença que cresce de forma incontrolável em todo o mundo e os Aines são os fármacos mais utilizados.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o consumo da dieta ocidental pelas matrizes durante o período de desenvolvimento da prole (gestação, lactação e/ou pós-desmame), provoca aumento na intensidade da resposta inflamatória na fase aguda, bem como alteração da eficácia farmacológica da nimesulida na prole de ratos *Wistar*.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro dado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

REFERÊNCIAS

- ¹ Ward ZJ, et al. Projected US state-level prevalence of adult obesity and severe obesity. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(25):2440-2450. DOI: 10.1056/NEJMsa1909301
- ² Malindisa EK, et al. The magnitude of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease risk factors among young adults in urban settings: a cross-sectional survey in Mwanza, Tanzania. *The Pan African Medical Journal*. 2022;42. DOI: 10.11604/pamj.2022.42.19.22184
- ³ OMS. Organização Mundial da Saúde. Doenças não comunicáveis. 2021. [Acesso 12 jul. 2023]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- ⁴ WHO. World Health Organization. Obesidad y sobrepeso. [Acesso 20 jun. 2024]. 2024. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1
- ⁵ Pan F, et al. Association between Ultra-Processed Food Consumption and Metabolic Syndrome among Adults in China – Results from the China Health and Nutrition Survey. *Nutrients*. 2023;15(3):752. DOI: 10.3390/nu15030752
- ⁶ Speelman T et al. The association of acute phase proteins in stress and inflammation-induced T2D. *Cells*. 2022;11(14):2163. DOI: 10.3390/cells11142163
- ⁷ Mantovani A, Garlanda C. Humoral innate immunity and acute-phase proteins. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(5):439-452. DOI: 10.1056/NEJMra2206346
- ⁸ Iacobellis G. Epicardial adipose tissue in contemporary cardiology. *Nat Rev Cardiol*. 2022 set.;19(9):593-606. DOI: 10.1038/s41569-022-00679-9
- ⁹ Pagano C et al. Advances in “adiponcosis”: Insights in the inner mechanisms at the base of adipose and tumour tissues interplay. *International Journal of Cancer*. 15 jun. 2023;152(12):2464-2473. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.34355>
- ¹⁰ Lessa PM et al. Major evidence of nutrological regulation in obese patients with meta-inflammation: a systematic review. *International Journal of Nutrology*, 2022;15(3). DOI: 10.54448/IJN22307
- ¹¹ 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 . *Int J Mol Med*. 2016;38(3):721-728. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2674
- ¹² Nowak P, BIL-LULA I, Śliwińska-Mossoń M. A Cross-Talk about Radioresistance in Lung Cancer – How to Improve Radiosensitivity According to Chinese Medicine and Medicaments That Commonly Occur in Pharmacies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(13):11206. DOI: 10.3390/ijms241311206

- ¹³ Li Z.-M. Role of antioxidants in preventing testicular ischemia-reperfusion injury: a narrative review. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*. 2022;26(24). DOI: 10.26355/eurrev_202212_30663
- ¹⁴ Ozleyen A et al. Looking at NSAIDs from a historical perspective and their current status in drug repurposing for cancer treatment and prevention. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2023;149(5):2095-2113. DOI: 10.1007/s00432-022-04187-8
- ¹⁵ Ferro-Cavalcante TC et al. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. *Lipids*. 2013;48:1157-1168, DOI: 10.1007/s11745-013-3833-z
- ¹⁶ Ferro-Cavalcante TC. et al. Early exposure of dams to a westernized diet has long-term consequences on food intake and physiometabolic homeostasis of the rat offspring. *Int J Food Sci Nutr*. 2014;65:989-993. DOI: 10.3109/09637486.2014.950208
- ¹⁷ Winter CA. et al. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1962,111, 544-547. DOI: 10.3181/00379727-111-27849
- ¹⁸ Bradley PP, Christensen RD, Rothstein G (1982) Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. *Blood*. 1982;60:618-622. DOI: org/10.1182/blood.V60.3.618.618
- ¹⁹ Chakaroun RM, Olsson LM, Bäckhed F. The potential of tailoring the gut microbiome to prevent and treat cardiometabolic disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2023;20(4):217-235. DOI: 10.1038/s41569-022-00771-0
- ²⁰ Turchi R, Tortolici F, Guidobaldi G et al. Frataxin deficiency induces lipid accumulation and affects thermogenesis in brown adipose tissue. *Cell Death Dis*. 2020;11:51. DOI: https://doi.org/10.1038/s41419-020-2253-2
- ²¹ Garcia BM, et al. Mice born to females with oocyte-specific deletion of mitofusin 2 have increased weight gain and impaired glucose homeostasis. *Molecular Human Reproduction*. 2020 dez.;26(12):938-952. DOI: https://doi.org/10.1093/molehr/gaaa071
- ²² Drozd D et al. Obesity and cardiometabolic risk factors: from childhood to adulthood. *Nutrients*. 2021;13(11):4176. DOI: 10.3390/nu13114176
- ²³ Faienza MFelicia et al. Childhood obesity, cardiovascular and liver health: a growing epidemic with age. *World Journal of Pediatrics*. 2020;16:438-445. DOI: 10.1007/s12519-020-00341-9
- ²⁴ Desai M. et al. Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;211(3):237.e1-237.e13. DOI: 10.1016/j.ajog.2014.03.025
- ²⁵ Buzinaro EF, Berchieri CB, Haddad ALM, Padovani CR, Pimenta WP. Sobrepeso na adolescência de filhos de mães que tiveram distúrbios glicêmicos na gestação. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2008;52(1):85-92.
- ²⁶ Glasstras SJ, Chen H, Tsang M, Teh R, McGrath RT, Zaky A, Chen J, Wong MG, Pollock CA, Saad S. The renal consequences of maternal obesity in offspring are overwhelmed by postnatal high fat diet. *PloS One*. 22 fev. 2017;22;12(2):e0172644. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172644
- ²⁷ Azab AN, Kaplanski J. A reduction of tumor necrosis factor-alpha in paw exudate of lipopolysaccharide treated rats by nimesulide. *Life Sci*. 13 fev. 2001;68(14):1667-1675. DOI: 10.1016/s0024-3205(01)00960-2. PMID: 11263679
- ²⁸ Liang Y, Huang B, Song E, Bai B, Wang Y. Constitutive activation of AMPK α 1 in vascular endothelium promotes high-fat diet-induced fatty liver injury: role of COX-2 induction. *Br J Pharmacol*. jan. 2014;171(2):498-508. DOI: 10.1111/bph.12482. PMID: 24372551; PMCID: PMC3904267
- ²⁹ 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. *Exp Physiol*. nov. 2012;97(11):1236-1245. DOI: 10.1113/expphysiol.2011.064220. Epub 2012 Apr 20. PMID: 22523380
- ³⁰ Ngcobo SR, Nkambule BB, Nyambuya TM, Mokgalaboni K, Ntsethe A, Mxinwa V, Ziqubu K, Ntamo Y, Nyawo TA, Dlodla PV. Activated monocytes as a therapeutic target to attenuate vascular inflammation and lower cardiovascular disease-risk in patients with type 2 diabetes: A systematic review of preclinical and clinical studies. *Biomed Pharmacother*. fev. 2022;146:112579. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112579. Epub 2021 Dec 30. PMID: 35062054
- ³¹ Hosogai N et al. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes*. 2007;56:901-911. DOI: 10.2337/db06-0911
- ³² Warbrick I, Rabkin SW. Hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1 α) as a factor mediating the relationship between obesity and heart failure with preserved ejection fraction. *Obes Rev*. maio 2019;20(5):701-712. DOI: 10.1111/obr.12828. Epub 2019 Mar 3. PMID: 30828970
- ³³ Sun K. et al. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest*. jun. 2011;121(6):2094-2101. DOI: 10.1172/JCI45887
- ³⁴ Fantuzzi, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:911-919. DOI: 10.1016/j.jaci.2005.02.023

- ³⁵ White PA, Cercato LM, Araújo JM, Souza LA, Soares AF, Barbosa AP, Neto JM, Marçal AC, Machado UF, Camargo EA, Santos MR, Brito LC. Model of high-fat diet-induced obesity associated to insulin resistance and glucose intolerance. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* jul. 2013;57(5):339-345. DOI: 10.1590/s0004-27302013000500002. PMID: 23896799
- ³⁶ Lacerda DR, Nunes-Silva A, Silveira ALM, Costa KA, Rodrigues DF, Moraes MM, Pinho V, Menezes GB, Teixeira MM, Wanner SP, Soares DD, Ferreira AVM. Acute exercise modulates the inflammatory response in adipose tissue in both lean and obese mice. *Nutrition.* nov. 2023;115:112092. DOI: 10.1016/j.nut.2023.112092. Epub 2023 May 30. PMID: 37549454
- ³⁷ Catarro M, Serrano JL, Ramos SS, Silvestre S, Almeida P. Nimesulide analogues: From anti-inflammatory to antitumor agents. *Bioorg Chem.* 2019 jul;88:102966. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.102966. Epub. 30 abr. 2019. PMID: 31075744
- ³⁸ Hanley MJ, Abernethy DR, Greenblatt DJ. Effect of obesity on the pharmacokinetics of drugs in humans. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(2):71-87. DOI: 10.2165/11318100-000000000-00000. PMID: 20067334
- ³⁹ Morrish GA, Pai MP, Green B. The effects of obesity on drug pharmacokinetics in humans. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology.* 2011;697-706. DOI: 10.1517/17425255.2011.570331

Submetido em: 26/7/2023

Aceito em: 25/7/2024

Publicado em: 24/3/2025

Contribuições dos autores

Eryvelton de Souza Franco: Data curation, Formal analysis, Methodology, Supervision, Validation, Writing – review & editing.

Tamires Meira Menezes: Data curation, Investigation, Writing – original draft.

Larissa Caroline de Almeida Sousa Lima: Data curation, Investigation, Writing – original draft

Vera Kaissa Souza Santos Bacelar: Data curation, Investigation, Writing – original draft

Elizabeth do Nascimento: Data curation, Formal analysis, Methodology, Supervision, Validation, Writing – review & editing.

Maria Bernadete de Sousa Maia: Data curation, Formal analysis, Methodology, Project administration, Supervision, Validation, Writing – review & editing.

Todos os autores aprovaram a versão final do texto.

Conflito de interesse: Não há conflito de interesse.

Autor correspondente

Eryvelton de Souza Franco

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional

Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife – PE, Brasil. CEP 50670-901

eryvelton_franco@hotmail.com

Editor. Dr. Matias Nunes Frizzo

Editora chefe: Dra. Adriane Cristina Bernat Kolankiewicz

Este é um artigo de acesso aberto distribuído
sob os termos da licença Creative Commons.

