

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA**

JEOADÃ KAROLLYNE SILVA

**EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DAS SEMENTES DA *MORINGA OLEIFERA* E
LECTINA WSMOL NA PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA DE HIPERTENSÃO E
ESTRESSE OXIDATIVO RENAL INDUZIDA PELA ENDOTOXEMIA MATERNA EM
RATOS WISTAR**

JEOADÃ KAROLLYNE SILVA

**EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DAS SEMENTES DA *MORINGA OLEIFERA* E
LECTINA WSMOL NA PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA DE HIPERTENSÃO E
ESTRESSE OXIDATIVO RENAL INDUZIDA PELA ENDOTOXEMIA MATERNA EM
RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia
da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Bioquímica e Fisiologia.
Área de concentração: Bioquímica e
Fisiologia

Orientador: Leucio Duarte Vieira

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Silva, Jeoadã Karollyne

Efeito do extrato aquoso das sementes da *Moringa Oleífera* e Lectina WSMOL na programação intrauterina de hipertensão e estresse oxidativo renal induzida pela endotoxemia materna em ratos wistar / Jeoadã Karollyne Silva. – 2020.

102 f. : il.

Orientador: Leucio Duarte Vieira

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2020. Inclui referências.

1. Gestação. 2. Influências pré-natais. 3. Lectinas. I. Vieira, Leucio Duarte (orientadora). II. Título.

618.326

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-250

Dedico esse trabalho aos integrantes do LFPR, meus familiares, amigos, e todos que de maneira direta e indireta contribuíram para sua execução.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, acredito que tudo o que acontece na minha vida é sob sua permissão e com um propósito, Ele que me dá forças e sei que sem Ele nada disso seria possível.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Leucio Duarte Vieira Filho, pela orientação, paciência e por fazer parte da minha formação, minha referência de professor. A Ana Durce Oliveira da Paixão pelo acolhimento e orientação no início do trabalho.

Ao laboratório de Bioquímica de Proteínas, em nome da Prof. Patrícia Paiva pela parceria na execução do trabalho.

Ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia pela disponibilidade do Biotério e equipamentos.

A todos os integrantes do laboratório de Fisiopatologia Renal da UFPE, Jéssica Schirato, Shirley Souza, Gabriela Rodrigues, Natália Kryzia, Fernanda Ribeiro, Leiliandry Melo, Marry Aneyts, Lucas Siqueira, Manoel Marcelino, Valéria Bianca, Jennyfer Martins, Tarciana Lima e Nielson Melo, pela rotina diária, ajuda nos experimentos e motivação para não desistir em meio as dificuldades e obstáculos que apareceram.

A toda minha família pelo apoio, compreensão e afeto, essa conquista também é de vocês. E em especial a meus pais, Quitéria Maria da Silva e Josinaldo Djalma da Silva, meus avós, Edinilda Luiza; Djalma Artur; Maria do Carmo e João Costa, meu irmão, Josinaldo Djalma da Silva Júnior e meu namorado, Janderry Antônio Ferreira..

Por fim, a Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade de ingresso no mestrado e aos órgãos de fomento, em especial ao CNPq pela concessão da bolsa

RESUMO

A endotoxemia materna representa um fator que afeta o ambiente intrauterino, prejudica a nefrogênese e programa o surgimento de hipertensão e doença renal na vida adulta. O impacto ocorre por mecanismos que envolvem a ativação de processos inflamatórios e estresse oxidativo no ambiente materno-fetal. Os extratos obtidos de componentes da *Moringa oleifera* (MO), espécie arbórea nativa da Índia, demonstra propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, e de sua semente pode ser isolada uma lectina que apresenta atividades imunomodulatória e anti-inflamatória, a WSMoL (Water Soluble *Moringa oleifera* Lectin). Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar se a administração do extrato aquoso da MO (EASMO) ou da WSMoL previne a programação da hipertensão e estresse oxidativo renal na prole adulta obtida de ratos fêmeas submetidas a endotoxemia materna. Para isso ratos fêmeas foram submetidas a endotoxemia, por meio da administração de LPS (0,5 mg/kg de massa corporal) nos dias 13, 15, 17 e 19 de gestação, e tratadas diariamente (13°-17° dia de gestação) com EASMO (200 mg/kg de massa corporal) ou WSMoL (1,1 mg/kg de massa corporal). Na vida adulta, a prole de ratos machos foi submetida a avaliação da função renal e pressão arterial sistólica (PAS). Além disso, foi avaliado no rim os níveis de peroxidação lipídica, níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), atividade da NADPH oxidase, níveis de nitrato/nitrito e conteúdo proteico de IL-6 e TNF- α . A prole obtida de mães LPS sem tratamento apresentou maiores níveis de PAS do que o grupo Controle. Adicionalmente, foi observado no rim maior peroxidação lipídica, níveis de EROS, atividade da NADPH oxidase, níveis de nitrato/nitrito e conteúdo proteico de TNF- α . A prole proveniente de mães LPS tratadas com o EASMO ou com a WSMoL não apresentaram alteração da PAS, bem como da peroxidação lipídica, dos níveis EROs e da atividade da NADPH oxidase no rim em relação ao grupo Controle. Apenas o EASMO preveniu a elevação do TNF- α renal. Os presentes dados demonstram que ambos tratamentos previnem a programação intrauterina da hipertensão induzida pela endotoxemia materna em paralelo a efeitos antioxidantes renais. Além disso, é demonstrado que apesar do EASMO e da WSMoL apresentarem efeitos antioxidantes semelhantes, os dois produtos da *Moringa oleifera* também apresentam alguns mecanismos de ação distintos.

Palavras-chave: Inflamação; Planta; Proteína; Hipertensão

ABSTRACT

Maternal endotoxemia is a clinical issue that affects the intrauterine environment, impairs nephrogenesis and induces the onset of hypertension and kidney disease in adulthood offspring. These changes occur through mechanisms that involve inflammatory mediators and oxidative stress in the maternal-fetal environment. The extracts obtained from components of *Moringa oleifera* (MO), a native tree from India, shows antioxidant and anti-inflammatory properties, and from its seed, a lectin that has immunomodulatory and anti-inflammatory activities, WSMoL (Water Soluble *Moringa oleifera* Lectin), can be isolated.. Thus, we aim to evaluate whether the administration of aqueous extract of seeds of MO (AEMOS) or WSMoL prevents the programming of hypertension and renal oxidative stress in adult offspring obtained from female rats subjected to maternal endotoxemia. For that, female rats were submitted to endotoxemia through the administration of LPS (0.5 mg/kg of body mass) on days 13, 15, 17 and 19 of gestation, and treated daily (13^o-17^o day of gestation) with AEMOS (200 mg/kg body weight) or WSMoL (1.1 mg/kg body mass). In adulthood, the offspring of male rats underwent assessment of renal function and systolic blood pressure (SBP). In addition, lipid peroxidation levels, reactive oxygen species (ROS), NADPH oxidase activity, nitrate/nitrite (NO_x) levels and protein content of IL-6 and TNF- α were evaluated in the kidney. Offspring obtained from untreated LPS mothers had higher levels of SBP than the Control group. Additionally, greater lipid peroxidation, ROS, NADPH oxidase activity, NO_x levels and protein content of TNF- α were observed in the kidney. Offspring from LPS mothers treated with AEMO or WSMoL did not present different SBP, lipid peroxidation, ROS levels and NADPH oxidase activity in the kidney compared to the Control group. Only AEMOS group presented lower levels of renal TNF- α in comparison to non-treated LPS group. The present data demonstrate that both treatments prevent intrauterine programming of hypertension induced by maternal endotoxemia in parallel to renal antioxidant effects. In addition, it is shown that although AEMOS and WSMoL have similar antioxidant effects, the two products of *M. oleifera* also have some distinct mechanisms of action.

Keywords: Inflammation; Plant; Protein; Hypertension

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Disfunções geradas no ambiente intrauterino repercutem na placenta e geram consequências funcionais no feto.....	18
Figura 2 – Mecanismo de reconhecimento e ação do LPS....	26
Figura 3 – Geração de EROs e mecanismos de defesa antioxidante... ..	28
Figura 4 – Partes da Moringa oleifera. (A) Árvore (B) Flores (C).	37
Figura 5 – Estruturas das lectinas com relação ao domínio de ligação a carboidratos, representados em preto e domínio que exerce atividade biológica em azul.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGT	Angiotensinogênio
AT1R	Receptor de angiotensina 1
AT2R	Receptor de angiotensina 2
CAM	Coriomnionite
CAT	Catalase
cMoL	Coagulant <i>M. oleifera</i> lectin
DAMPs	Padrões moleculares associados ao dano
DBP	Displasia broncopulmonar
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Duox	Dupla oxidase
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EASMO	Extrato aquoso das sementes da <i>Moringa oleifera</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FAD	Dinucleótido de flavina e adenina
FIRS	Síndrome da resposta inflamatória
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
HSP70	Proteínas de choque térmico de 70 kilodaltons
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IMC	Índice de massa corpórea
LBP	Proteína ligante de LPS
LPS	Lipopolissacarídeo
IL	Interleucina
IUGR	Restrição do crescimento intrauterino
NKCC2	Cotransportador Na ⁺ /K ⁺ /Cl ⁻
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LP	Restrição proteica
MAP quinases	Proteínas-quinases ativadas por mitógenos
MCP1	Proteína 1 quimioatrativa de monócitos
MDA	Malondialdeído
MO	<i>Moringa oleifera</i>

MoL	<i>M. oleifera</i> lectin
MPO	Mieloperoxidase
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase
NF-Kb	Fator nuclear kappa B
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
Nox	NADPH oxidase
O ₂	Superóxido
OH	Hidroxila
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PAMPs	Padrões moleculares associados ao patógeno
PAS	Pressão arterial sistólica
Poldip 2	Gene da proteína 2 que interage com a polimerase-δ
PRPs	Receptores de reconhecimento de padrões
SRA	Sistema renina-angiotensina
SOD	Superóxido dismutase
TLR4	Receptores <i>toll like</i> 4
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TFG	Taxa de filtração glomerular
Treg	Células T reguladoras periféricas
VSMC	Células do músculo liso vascular
WSMoL	Lectina solúvel em água do extrato de sementes da <i>Moringa oleifera</i>
11β-HSD2	11β-hidroxisteróide desidrogenase tipo 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1 PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA.....	14
2.1.1 Papel da placenta no desenvolvimento embrionário.....	15
2.1.2 Repercussões da programação intrauterina na prole.....	16
2.1.3 Programação da hipertensão e papel do rim... ..	17
2.2 ENDOTOXEMIA MATERNA.....	20
2.2.1 Mecanismo de indução da inflamação pelo LPS... ..	23
2.3 ESTRESSE OXIDATIVO... ..	25
2.3.1 Estresse oxidativo na programação intrauterina... ..	28
2.3.2 Estresse oxidativo na hipertensão e disfunção renal... ..	30
2.3.3 NADPH oxidase como fonte de EROs.....	32
2.4 PREVENÇÃO DA PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA... ..	34
2.5 <i>MORINGA OLEIFERA</i>	35
2.6 LECTINAS.....	39
2.6.1 WSMoL.....	41
3 ARTIGO 1.....	43
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS... ..	73
REFERÊNCIAS....	74

1 INTRODUÇÃO

A presença de eventos intrauterinos adversos aumenta o risco do surgimento de alterações funcionais renais e cardiovasculares na vida pós-natal (NÜSKEN et al., 2018). Sabe-se que vários distúrbios que afetam a gestação resultam em estresse oxidativo na placenta ou nos tecidos maternos (PEREIRA e MARTEL, 2014). O estresse oxidativo pode ser um elo de ligação entre o insulto intrauterino e as consequências da programação após o nascimento (THOMPSON e AL-HASAN, 2012). Embora outros mecanismos contribuam claramente para a etiologia dessa condição, o estresse oxidativo interage com outras vias mecanicistas conhecidas, incluindo alteração da angiogênese e inflamação (HOLDSWORTH-CARSON, 2010).

A endotoxemia materna é uma situação relacionada ao retardo do desenvolvimento intrauterino e a programação de doenças na vida adulta. A exposição materna ao LPS, endotoxina presente na parede celular de bactérias gram-negativas, induz uma resposta imunológica sistêmica pela via do receptor *Toll-like* 4 (TLR4) através da liberação de inúmeras citocinas pró-inflamatórias, que podem ativar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ALEXANDER et al., 2001; Schrier e Wang, 2004), que por sua vez, estão associados a prejuízos na nefrogênese e dano estrutural renal (HAO et al., 2010; WANG et al., 2014), aumento da pressão arterial (HAO et al., 2010; WEI et al., 2007) e anormalidades morfológicas do miocárdio e da aorta (ZHAO et al., 2014; WANG et al., 2015; CHEN et al., 2015).

A busca por abordagens terapêuticas antioxidantes capazes de “reprogramar” condições deletérias geradas no ambiente materno parece interessante na prevenção de complicações da prole na idade adulta. A *Moringa oleífera* (MO), espécie arbórea nativa da Índia, é amplamente cultivada na África, América Central e do Sul e na Ásia (AYERZA, 2012). As folhas e sementes da árvore são ricas em polifenóis, mostrando uma série de efeitos benéficos, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antimicrobianas (MUANGNOI et al., 2012; PONTUAL et al., 2014). Já é descrito que o extrato das folhas da MO apresenta efeitos renoprotetores, por mecanismos antioxidantes (OKWARI et al., 2015), contudo ainda não existem dados que descrevam se esse efeito existe em extratos obtidos das sementes. Por outro lado, das sementes da MO é isolada a lectina WSMoL (do inglês water-soluble M. oleífera lectin) (SANTOS et al., 2005),

uma proteína com descritas atividades *in vitro* imunomodulatória (CORIOLANO et al., 2018), anti-inflamatória e antioxidante (ARAÚJO et al, 2013).

Tendo visto que o extrato das sementes da MO e a WSMoL apresentam efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, é possível que essas duas preparações sejam viáveis na prevenção das alterações renais induzidas pela endotoxemia materna. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos renoprotetores e antioxidantes das sementes da *Moringa oleifera* e da lectina WSMoL em ratos obtidos de mães submetidas a indução de endotoxemia materna pela administração do LPS.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA

Achados epidemiológicos em humanos mostram que insultos provocados no ambiente intrauterino comprometem o desenvolvimento fetal por mediar alterações permanentes na morfologia e função dos tecidos (LUCAS, 1991). A restrição do crescimento intrauterino (IUGR), uma condição na qual o feto não atinge seu potencial de crescimento genético, é uma complicação comum da gravidez (WARDLAW, 2004). Cerca de 14,8 milhões de crianças nasceram prematuras em 2014 (10,6% dos nascidos vivos), com 81% dos nascimentos prematuros na Ásia e África Subsaariana. Aproximadamente 15% dos recém-nascidos prematuros nasceram antes das 32 semanas de gestação e necessitaram de cuidados especiais hospitalares (LEE et al., 2019).

O crescimento intrauterino comprometido está associado a um aumento da incidência de distúrbios reprodutivos e neurológicos, e a um maior risco de doenças cardiovasculares e metabólicas, como hipertensão, doença coronariana, obesidade e diabetes tipo 2 na vida adulta (BARKER, 1994, LUCAS, 1991). O conceito de que a doença no adulto se origina no útero devido alterações durante o desenvolvimento intrauterino, frequentemente associadas ao comprometimento do crescimento fetal, é conhecido como programação intrauterina (BARKER, 1994).

Estudos com mais de 400.000 indivíduos, vinculam o peso ao nascer com níveis mais altos de pressão arterial mais tarde na vida (HUXLEY, 2000). No entanto, evidências sugerem que o crescimento intrauterino não é o único determinante de 'risco' em modelos animais (ratos e ovelhas), já que a hipertensão na vida adulta foi programada por tratamentos do feto que não causaram redução no peso ao nascer (LANGLEY-EVANS et al., 1996; DODIC et al., 1998).

Estudos em animais demonstram que o momento, a duração e a natureza exata do insulto durante a gravidez são determinantes importantes do padrão de crescimento intrauterino e dos resultados fisiológicos específicos (BERTRAM e HANSON, 2001). Como diferentes órgãos fetais crescem em taxas diferentes, o momento do insulto é importante para determinar a especificidade tecidual dos efeitos programados (FOWDEN et al., 1998; HARDING e JOHNSTON, 1995). A

programação intrauterina pode ocorrer em qualquer nível do sistema fisiológico afetado e pode envolver alterações estruturais e funcionais em genes, células, tecidos e até órgãos inteiros (GLUCKMAN, 2004; MCMILLEN e ROBINSON, 2005).

Durante o desenvolvimento, o ácido desoxirribonucleico (DNA) pode ser modificado epigeneticamente, e a interação com as proteínas reguladoras nos promotores pode ser alterada, resultando em efeitos na ativação e repressão gênica (VICKARYOUS e WHITELOW, 2005; WATERLAND e GARZA, 1999). A síntese proteica também pode ser modificada, juntamente com mudanças permanentes na abundância de proteínas celulares. Nas células, as condições intrauterinas podem induzir alterações na função, número e tamanho, alterando a proliferação, a seleção clonal e a remodelação apoptótica das populações celulares, que por sua vez, podem alterar a morfologia e fisiologia dos tecidos e órgãos como um todo (FOWDEN et al., 2006). Se o insulto ocorrer no tempo da organogênese, as alterações podem ser graves e levar a um déficit permanente de desenvolvimento. As alterações funcionais programadas no útero podem, portanto, ser um meio de adaptação para manter o desenvolvimento de tecidos essenciais, como o cérebro e a placenta, e/ou um mecanismo para definir um fenótipo adequado para as condições ambientais oriundas do útero (BATESON et al, 2004; MCMILLEN e ROBINSON, 2005).

2.1.1 Papel da placenta no desenvolvimento embrionário

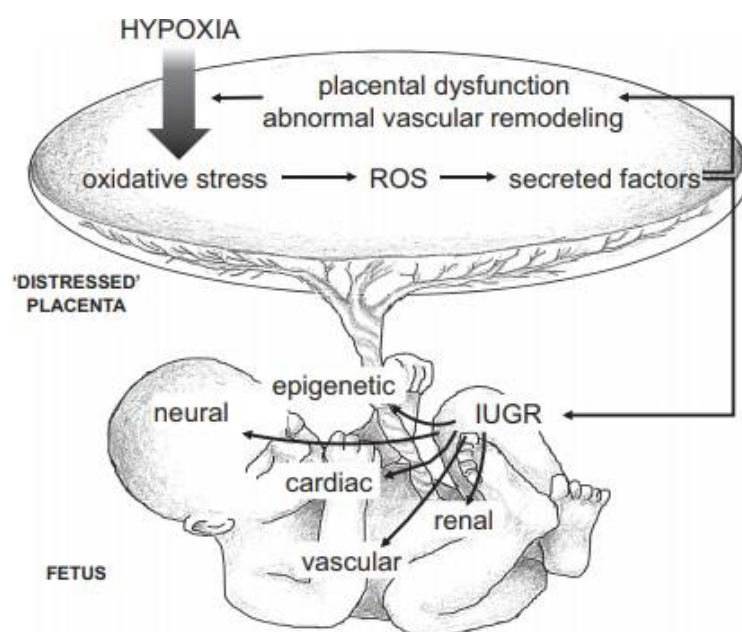
O desenvolvimento adequado da placenta é fundamental para o desenvolvimento fetal normal. A placenta tem papel primordial no suprimento ideal de nutrientes e oxigênio, libera hormônios nas circulações materna e fetal para afetar a função uterina, metabolismo materno, crescimento e desenvolvimento fetal. Além disso, metaboliza algumas substâncias e pode liberar produtos metabólicos nas circulações fetal e materna. A placenta pode ajudar a proteger o feto contra certas moléculas xenobióticas, infecções e doenças maternas. Qualquer anormalidade no desenvolvimento será crucial para a função placentária resultante (SULTANA, 2017).

Desde a implantação até o parto, citocinas são secretadas pelos citotrofoblastos, sinciciotrofoblasto e células de Hofbauer, incluindo TNF- α e IL-6, e são fundamentais na manutenção da gravidez (HAUGUEL-DE MOUZON e

GUERRE-MILLO, 2006; THOMSON, 1999; ROMERO et al, 2006). Entretanto, algumas citocinas podem impactar o desenvolvimento fetal, mesmo sem atravessar a placenta, através de um mecanismo indireto de alteração do fluxo de nutrientes o que gera um fenótipo metabólico deletério na prole (INGVORSEN et al., 2015; ROBBINS e BAKARDJIEV, 2012; GACCIOLI et al., 2013).

A placenta altera sua expressão gênica e atividade transportadora de nutrientes, para manter o crescimento fetal, em situações de hipóxia e nutrição materna anormal (KREBS et al., 1996; JANSSON et al., 2002) (Figura 1). Essas situações alteram o desenvolvimento da placenta e interferem no crescimento fetal, resultando em regulação epigenética da placenta (JANSSON et al., 2002; MYATT, 2006). O estresse por hipóxia, oxidação e nitrificação associados a função placentária pode ser o mecanismo fundamental geral subjacente à programação fetal (MYATT, 2006; FRIEDMAN e CLEARY, 2014; ROBERTS, 2014).

Figura 1 - Disfunções geradas no ambiente intrauterino repercutem na placenta e geram consequências funcionais no feto



Fonte: Aljunaidy et al. (2017).

2.1.2 Repercussões da programação intrauterina na prole

A programação fetal pode afetar a expressão de genes individuais em qualquer estágio, desde alterações nas funções biológicas moleculares, como densidade ou sensibilidade das células receptoras, até alterações hormonais permanentes ou alterações no metabolismo ou respostas a estressores fisiológicos (CUNNINGHAM e CAMERON, 2003).

O retardo no crescimento intrauterino atestou que o baixo peso ao nascer está associado a hipertensão pós-natal, intolerância à glicose e alterações no funcionamento de vários eixos endócrinos, incluindo ilhotas pancreáticas, sistema renina-angiotensina e o eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal (FOWDEN et al., 2005).

A restrição calórica, privação isocalórica de proteínas, restrição placentária e reduções nos fluxos sanguíneos umbilicais e/ou uterinos prejudica o crescimento fetal e leva a anormalidades nas funções cardiovascular, metabólica e endócrina antes e após o nascimento (MCMILLEN e ROBINSON, 2005).

Em modelos animais, a obesidade materna aumenta o risco de adiposidade, intolerância à glicose, redução da função das células beta pancreáticas, hipertensão, doença hepática gordurosa não alcoólica, além de alterar a imunidade inata da prole (SAMUELSSON et al., 2008; SHANKAR et al., 2008; OBEN et al., 2010; HAN et al., 2005; ELAHI et al., 2009; BRUCE et al., 2009; MCCURDY et al., 2009; MOURALIDARANE et al., 2013). O perfil inflamatório de gestantes obesas é caracterizado pelo aumento da produção das citocinas TNF- α e IL-6 que interfere na disponibilidade de nutrientes e lipídeos para o feto (KIRWAN et al., 2002; CHALLIER et al., 2008; FARLEY et al., 2009; INGVORSEN et al., 2015).

Dieta com redução proteica durante a gestação em ratos diminui a expressão da 11 β -hidroxisteróide desidrogenase renal tipo 2 (11 β -HSD2) e aumenta a expressão do receptor de glicocorticóide renal na prole (ÖSTREICHER et al., 2010; BERTRAM et al., 2001).

Em ovelhas prenhas, a administração de glicocorticoides, por dois dias, quando o rim mesonefrico se desenvolve no final do primeiro mês de gestação, causa uma redução permanente no número de néfrons e leva à hipertensão na prole adulta (MORITZ et al., 2003).

2.1.3 Programação da hipertensão e papel do rim

A hipertensão é o fator de risco mais importante para eventos cardiovasculares e mortalidade em todo o mundo (LOPEZ et al., 2006). A pressão arterial elevada contribui para a progressão da insuficiência renal (WINGEN et al., 1997) e é um forte fator de risco independente para doença renal em estágio terminal (KLAG et al., 1996). A diminuição da função renal também é associada ao aumento da pressão arterial e morbidade cardiovascular, e vice-versa (VANHOLDER et al., 2005). Por isso, a detecção precoce da elevação da pressão arterial desempenha um papel importante na prevenção da doença renal terminal (SCHMIEDER, 2010).

Como as etapas do desenvolvimento ocorrem durante períodos únicos, o tempo e a duração de um evento adverso afetam especificamente a programação do desenvolvimento. Programação renal adversa aumenta a incidência de sequelas renais e cardiovasculares graves mais tarde na vida. Isso inclui hipertensão arterial e lesão de órgão final associada, agravamento da doença inflamatória glomerular e ocorrência de doença renal em estágio terminal (NÜSKEN et al., 2018).

O risco de aumento da pressão arterial e perda da função renal é visto em condições em que há anormalidades no peso ao nascer, baixo ou alto (VANHOLDER et al., 2005; SCHMIEDER, 2010; EDVARDSSON et al., 2012; LACKLAND et al., 2000; LUYCKX e BRENNER, 2015; VIKSE et al., 2008; HALLAN et al., 2008; THE LOW BIRTH WEIGHT AND NEPHRON NUMBER WORKING GROUP, 2017), alto IMC (índice de massa corpórea) materno (PERNG et al., 2014) ou proporção elevada de proteína/carboidrato na dieta materna durante a gravidez (HROLFSDOTTIR et al., 2017; CAMPBELL et al., 1996) e rápido ganho de peso pós-natal (BEN-SHLOMO et al., 2008). Além disso, o baixo peso ao nascer está associado a riscos elevados de albuminúria, doença renal em estágio terminal, ou redução da taxa de filtração glomerular (TFG) (VIKSE et al., 2008; JUNG et al., 2011; RUGGAJO et al., 2016), que até já pode ser detectada na infância (VIKSE et al., 2008; LÓPEZ-BERMEJO et al., 2008; FRANCO et al., 2008).

Os rins são excepcionalmente vulneráveis aos efeitos da restrição de crescimento. Os parâmetros marcadores são o tamanho do rim e o número de néfrons, que se correlaciona positivamente com o peso ao nascer (HUGHSON et al., 2003, BARKER, 1992). Nos seres humanos, o processo de nefrogênese é iniciado por volta do dia 22 da gestação, com os pronefrons, a produção de urina começa após 10 semanas (QUIGLEY, 2012) e o crescimento renal máximo ocorre entre 26 e

34 semanas de gestação (KONJE, 1996). Por volta da semana 36, a nefrogênese é concluída e o número de néfrons é determinado (QUIGLEY, 2012; SEELY, 2017). Em prematuros, a adaptação a condições extra-uterinas prejudica a nefrogênese e as crianças acabam com menos néfrons e uma porcentagem maior de glomérulos morfollogicamente anormais (STRITZKE, 2017; LUYCKX, 2017; RODRIGUEZ et al., 2004; SUTHERLAND et al., 2011).

O número de néfrons em humanos varia de aproximadamente 200.000 a 2,5 milhões de néfrons por rim (DAVIES et al., 2012). Esse número é reduzido após dieta com baixo conteúdo de proteína durante a gravidez (LANGLEY-EVANS et al., 1999; JONES et al., 2001, WOODS, et al., 2004; SAMPOGNA et al., 2015; VEHASKARI et al., 2001), insuficiência utero-placentária (GILBERT e MERLET-BÉNICHOU, 2000; SCHREUDER et al., 2005; SANDERS et al., 2004), exposição intrauterina a glicocorticoides (TAYLOR et al., 2007), nascimento prematuro (RODRIGUEZ et al., 2004, STELLOH et al., 2012) e estresse oxidativo (YZYDORCZYK et al., 2008). A redução do número de néfrons está associado com o tamanho glomerular aumentado, hiperfiltração, hipertensão e lesão glomerular progressiva (LUYCKX e BRENNER, 2005; BRENNER et al., 1996).

Liga-se esta alteração à taxa de crescimento fetal e apoia a teoria da massa corporal programada. Posteriormente, qualquer aumento nas taxas de crescimento e peso corporal na idade adulta excede a capacidade funcional dos rins, levando a uma taxa de filtração glomerular anormal, acúmulo de água e hipertensão (MACKENZIE et al., 1996; MAÑALICH et al., 2000).

Um sistema conhecido por estar envolvido no desenvolvimento “normal” e programação do rim é o sistema renina-angiotensina (SRA), que demonstra ser necessário para o funcionamento do rim fetal, em particular, na manutenção e regulação da taxa de filtração glomerular (BRENNER et al., 1996).

A desregulação de todos ou de componentes únicos do sistema renina-angiotensina-aldosterona pode prejudicar gravemente o desenvolvimento renal (GURON e FRIBERG, 2000; TERADA et al., 2017) e induzir um desequilíbrio hormonal persistente que pode contribuir para o desenvolvimento de hipertensão arterial e insuficiência renal. Em ratos neonatais, após dieta com baixo teor de proteínas durante a gestação, os níveis de renina renal e angiotensina II (WOODS et al., 2001), bem como as expressões proteicas dos receptores de angiotensina tipo 1 (AT1R) e tipo 2 (AT2R) (ALWASEL et al., 2010) foram reduzidas. Em filhotes adultos,

submetidos a essa dieta durante estágio intrauterino, foi demonstrado pressão arterial elevada (VEHASKARI et al., 2001), expressão aumentada de AT1R (LUZARDO et al., 2011; SAHAJPAL e ASHTON, 2003) e atividade enzimática conversora de angiotensina no plasma acompanhando níveis levemente elevados de angiotensina II (LANGLEY e JACKSON, 1994; NÜSKEN et al., 2018). Em mães diabéticas, a prole de ratos apresenta acentuada regulação positiva da expressão do gene de angiotensinogênio (AGT) e AT1R, bem como aumento da proporção de mRNA de ECA: ACE2 (CHEN et al., 2010).

A organogênese pode ser significativamente afetada pela metilação alterada do DNA, a modificação de histonas e outros mecanismos que podem predispor a doença renal (DRESSLER e PATEL, 2015). Alterações globais de metilação associadas à hipertensão foram observadas após deficiência periconcepcional significativa de vitaminas do complexo B e metionina (SINCLAIR et al., 2007). Assim, modificações nutricionais podem induzir alterações epigenéticas temporárias ou permanentes que certamente têm o potencial de modular a doença renal.

Na vida pós-natal, modelos experimentais também demonstram condições deletérias na prole. O rápido ganho de peso pós-natal e a obesidade precoce têm sido associados a desfechos renais adversos (YIM e YOO, 2015; WANG et al., 2006). Superalimentação pós-natal precoce em ratos pela redução do tamanho da ninhada induziu aumento precoce de peso pós-natal e foi associado ao aumento da pressão arterial, glomerulosclerose e proteinúria na idade adulta (BOUBRED et al., 2009). Em um estudo semelhante, a superalimentação pós-natal resultou na TFG diminuída, aumento da proteinúria e aumento da deposição de colágeno (ALCAZAR et al., 2012).

2.2 ENDOTOXEMIA MATERNA

Diferentes técnicas experimentais foram estabelecidas na indução do retardo do crescimento intrauterino para posterior avaliação dos seus efeitos na prole. Esses métodos incluem estresse materno, hipoxemia, administração de glicocorticoides, restrição do fluxo sanguíneo uterino, supernutrição e subnutrição e manipulação do conteúdo de macro e micronutrientes da dieta (FOWDEN et al., 2006; MCMILLEN e ROBINSON, 2005; FOWDEN et al., 2006). A inflamação intrauterina é uma situação

clínica de alta relevância que pode repercutir no desenvolvimento intrauterino de maneira semelhante aos processos acima, e é utilizada como modelo experimental.

No período gestacional, o perfil inflamatório é alterado, daí a necessidade de um equilíbrio entre a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias para implantação normal, invasão de trofoblastos e placentação, o que apoia a percepção de que o sistema imune e, principalmente, a resposta inflamatória desempenham papel importante na manutenção da gestação e desencadeamento do trabalho de parto (MOR et al., 2011).

A inflamação e a infecção crônicas continuam sendo a principal causa de morte em recém-nascidos, e especialmente em prematuros (GOLDENBERG et al., 2000). Cerca de 30% dos nascimentos prematuros ocorrem devido a infecções maternas ou fetais (GOLDENBERG et al., 2008). A exposição pré-natal a um ambiente intrauterino pró-inflamatório está associada à patogênese do parto prematuro e complicações neonatais graves, lesão cerebral, enterocolite necrosante, e displasia broncopulmonar (DBP) (HOWSON et al., 2012; GOLDENBERG et al., 2008; WU et al., 2003; BEEN et al., 2013; LAPCHAROENSAP et al., 2015).

Um típico perfil de citocinas que caracteriza as respostas imunes fetais, decorrente inflamação na placenta, consiste em altos níveis de citocinas inflamatórias inatas IL-1 β , IL-6, IL-23, TNF- α e IL-10, além de quimiocinas IL-8, MCP1 e RANTES (KIM et al., 2015). É provável que essas alterações aumentem significativamente a suscetibilidade dos neonatos a doenças de natureza inflamatória (LU e CLAUD, 2018).

A inflamação intra-amniótica, decorrente de infecção intrauterina, conhecida como corioamnionite (CAM), é caracterizada pela infiltração de células mononucleadas na placenta e nas membranas fetais. A CAM interrompe o fenótipo de macrófagos, promove ativação de células T_H17 e leva o sistema imunológico materno e fetal a produção de citocinas de polarização celular TH1. Esse quadro imunológico pode desencadear uma síndrome da resposta inflamatória fetal (FIRS), traduzindo a CAM em uma doença fetal sistêmica com alta morbidade. Além desses efeitos agudos, a ativação imune precoce por estímulos pró-inflamatórios tem efeitos duradouros no desenvolvimento e na imunidade durante a infância (ANDREWS et al., 2006; AMARA et al., 2013; ITO et al., 2010; GARGANO et al., 2008; GANTERT et al., 2010; HOFER et al., 2013; LEVY, 2007).

Além disso, Luciano et al. (2014) relataram que a exposição pré-natal à inflamação e corioamnionite leva a alterações no pool de células T reguladoras periféricas (Treg) no sangue do cordão umbilical, podendo influenciar na tolerância periférica e no controle das respostas imunes aos patógenos. Esses estudos sugerem possíveis mecanismos celulares pelos quais a infecção/inflamação materna durante a gravidez provoca uma reprogramação do sistema imunológico inato e adaptativo do feto (LU e CLAUD, 2018).

O sistema imune inato constitui mecanismo de defesa na prevenção, controle e eliminação de infecções, no reconhecimento e eliminação de produtos de células danificadas e mortas e no estímulo de mecanismos ativadores da imunidade adaptativa (ABBAS et al., 2008). A detecção dos patógenos ocorre através do reconhecimento de estruturas moleculares características, chamadas de padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs) e através de moléculas endógenas liberadas por células danificadas ou mortas, denominadas padrões moleculares associados ao dano (DAMPs). Ambos são reconhecidos pelos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) e quando ativados, mediam a opsonização, ativação do sistema complemento, fagocitose, indução de apoptose e ativação de vias de sinalização de citocinas pró-inflamatórias (FINKEL, 1998; ABBAS et al., 2008).

As células inflamatórias ativadas liberam uma grande quantidade de radicais e proteases de oxigênio, resultando em lesão direta do tecido, além de levar à produção de citocinas pró-inflamatórias que também atuam como biomarcadores da lesão subjacente. O processo inflamatório pode finalmente ser uma fonte de produção excessiva de EROs com danos subsequentes aos componentes celulares e disfunção endotelial quando as respostas inflamatórias são sustentadas. Além disso, as citocinas produzidas como resultado da inflamação foram associadas a alterações nos padrões de produção de óxido nítrico sintase (NOS), contribuindo ainda mais para o estresse oxidativo por meio de reações de NO com O_2^- levando a uma produção ainda maior de oxidantes reativos, como o peroxinitrito ($ONOO^-$) (PEREZ et al, 2019).

Modelos experimentais de indução de um ambiente inflamatório intrauterino utilizam o LPS como meio de promoção da endotoxemia materna na avaliação das consequências dessa condição na prole (YU et al., 2018). A administração de LPS na indução da endotoxemia materna demonstrou induzir o nascimento prematuro e a

morte fetal. Apesar do LPS permanecer em grande parte na circulação materna ou não passar para o tecido fetal, citocinas maternas e mediadores pró-inflamatórios podem passar pela placenta e desencadear a ativação, recrutamento e infiltração de leucócitos fetais para os órgãos (SALMINEN et al., 2008; CARPENTIER et al., 2011; ASHDOWN et al., 2006). Enquanto em neonatos, o perfil imunológico demonstrou redução da quantidade de neutrófilos, monócitos e eosinófilos circulantes (HODYL et al., 2008). Propõe-se que é a interação da inflamação materna e o estágio de desenvolvimento fetal que medeia o resultado neonatal adverso na endotoxemia (INGVORSEN et al., 2015).

Estudos demonstram que a exposição pré-natal ao LPS resulta em aumento da pressão arterial na prole que é associada a alterações no sistema renina-angiotensina no rim e aumento da leptina circulante, o que pode aumentar a atividade do nervo simpático (HAO et al., 2010; WEI et al., 2007). A exposição materna ao LPS induz anormalidades morfológicas do miocárdio e da aorta, além de prejudicar a função vascular da prole (ZHAO et al., 2014; WANG et al., 2015; CHEN et al., 2015). Essas anormalidades são causadas em parte pela disfunção vascular mesentérica devido ao aumento de EROs que esgota o óxido nítrico (WANG et al., 2015). A regulação positiva das isoformas da NADPH oxidase e do receptor da angiotensina tipo 1 (AT1R) são eventos iniciais na disfunção vascular mesentérica (DENG et al., 2016).

Danos renais também são observados pela programação da hipertensão através da exposição pré-natal ao LPS, que está associado a nefrogênese prejudicada, dano estrutural renal e baixa depuração da creatinina na idade adulta (HAO et al., 2010). Além disso, o receptor de dopamina tipo 1 que diminui a excreção renal de sódio também é prejudicado devido ao aumento de EROs pelo LPS materno (WANG et al., 2014).

2.2.1 Mecanismo de indução da inflamação pelo LPS

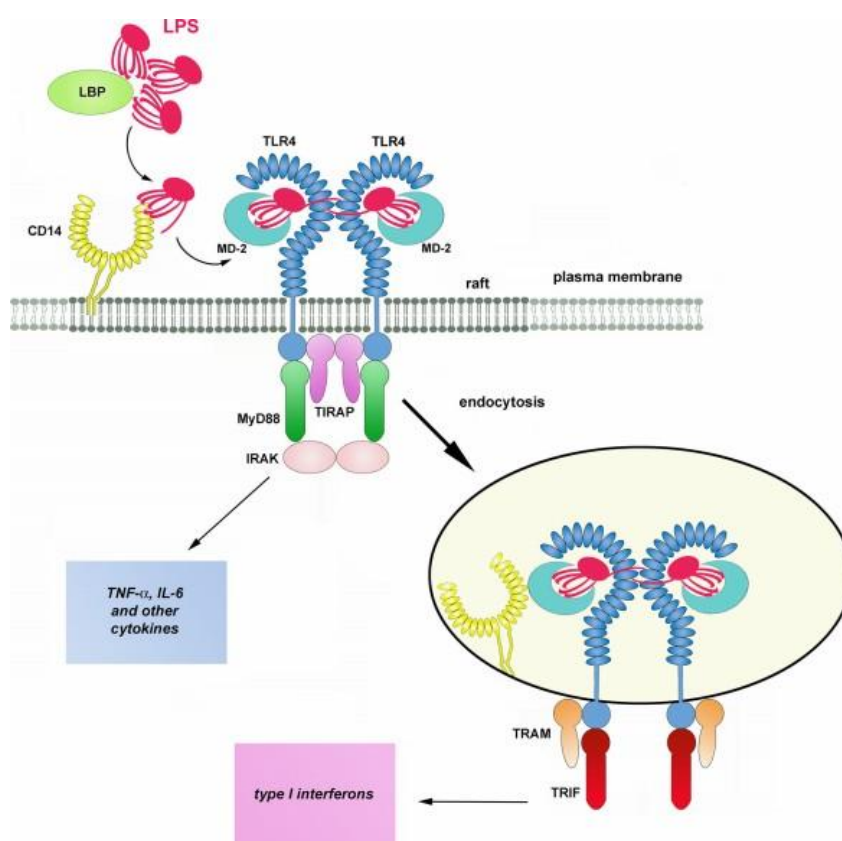
O lipopolissacarídeo (LPS), componente da membrana externa de bactérias gram-negativas, é composto por três domínios distintos, covalentemente ligados entre si: uma porção glicolípídica denominada lipídeo A, um glicano, e entre eles um oligossacarídeo central. O glicano geralmente é o polissacarídeo O-específico (ou O-antígeno). O LPS é ancorado na membrana por até sete cadeias acila que

compõem o lipídeo A, que é a unidade biologicamente ativa. O lipídeo A é a parte do LPS mais evolutivamente conservada responsável por sua atividade pró-inflamatória, condição crucial para conter infecções bacterianas, entretanto, respostas excessivas do hospedeiro ao LPS podem levar a condições inflamatórias sistêmicas, como sepse, sepse grave e choque séptico fatal (O'NEILL et al., 2009; WIJNAND et al., 2010; TROTTA et al., 2014; HOMMA et al., 1985).

O LPS é reconhecido pelo receptor *Toll-like 4* (TLR4) (Figura 2), receptor ativador de macrófagos e choque séptico. Primariamente, o LPS liga-se a proteína ligante de LPS (LBP) presente na corrente sanguínea, e é levado ao co-receptor CD14. O CD14 é uma glicoproteína encontrada na superfície da membrana plasmática de monócitos, macrófagos, células dendríticas e neutrófilos (GOYERT et al., 1988; SIMMONS et al., 1989). A transferência do LPS para o CD14 é facilitada pela albumina, que posteriormente, ajuda novamente a transferência para o MD2, outro co-receptor, formando o complexo TLR4-MD2-LPS (AKIRA, 2003; WANG et al., 2014; GIOANNINI et al., 2002; DA SILVA CORREIA et al., 2001; GIOANNINI et al., 2005)

A dimerização do TLR4 facilita o recrutamento de dois pares de proteínas adaptadoras, TIRAP / MyD88 e TRAM / TRIF, para o domínio TIR do receptor por meio de interações homotípicas TIR-TIR. O MyD88, então, recruta as cinases IRAK4 e IRAK2 (ou IRAK1) desencadeando uma cascata de sinalização que leva à ativação de NF- κ B e MAP cinases e controla a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6). Já o TRIF inicia uma via de sinalização que ativa o fator de transcrição do IRF3, levando à expressão de interferons do tipo I (IFN) e quimiocinas induzíveis ao IFN como IL-10 e RANTES, além da ativação tardia do NF- κ B e MAP quinases. Os adaptadores TRAM / TRIF são recrutados para TLR4 após a endocitose do receptor (MOTSHWENE et al., 2009; LIN et al., 2010; KAWAI e AKIRA, 2011; HUSEBYE et al., 2006; KAGAN et al., 2008; ZANONI et al., 2011)

Figura 2 - Mecanismo de reconhecimento e ação do LPS



Fonte: Pło'ciennikowska et al. (2015).

2.3 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é uma consequência do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante. Isso pode ocorrer devido ao aumento da geração de EROs, do sistema antioxidante prejudicado, ou pela combinação de ambos (SIES, 2015). EROs são moléculas que possuem em sua estrutura atômica um elétron não emparelhado no orbital externo, o que lhes propicia grande instabilidade. Essa condição as torna extremamente reativas e de curta duração, mas com uma grande capacidade de interação não específica com diferentes moléculas, como carboidratos, lipídios, proteínas e ácidos nucléicos (VENEREO GUTIÉRREZ, 2002).

Em condições fisiológicas, espécies reativas de oxigênio, como o superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) são produzidos decorrente metabolismo do oxigênio e desempenham papéis biologicamente importantes na transdução de

sinal, regulação do crescimento celular e apoptose, desenvolvimento fetal e imunidade inata (SIES, 2015).

As principais fontes de EROs incluem a cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria e enzimas oxidases, dentre elas a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase (NADPH) oxidase, xantina oxidase, cicloxigenase, lipoxigenase, enzimas P450, glicose oxidase e óxido nítrico sintase desacoplada (SIES, 2015) (Figura 3). Os principais tipos de células envolvidas na formação de EROs são células vasculares, como células endoteliais, musculares lisas, fibroblastos, adipócitos e células fagocíticas (MOENS e KASS, 2006; MAYNE, 2003).

A redução de um elétron do oxigênio molecular gera a primeira EROs, o superóxido. É uma molécula que possui vida curta, altamente reativa e potencialmente citotóxica que pode modificar moléculas adjacentes, como o que ocorre com o óxido nítrico. A reação do superóxido com o óxido nítrico inativa-o e forma o peroxinitrito, espécie de nitrogênio extremamente reativa. O superóxido e o peroxinitrito atacam, desnaturam e danificam lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (SIES, 2015). Os biomarcadores da lesão oxidativa causada pelo peroxinitrito nos tecidos envolvem 3-nitrotirosina (decorrente lesão proteica), além de isoprostanos e malondialdeído, ambos produtos da peroxidação lipídica (CABASSI et al., 2001; GRIENDLING e FITZGERALD, 2003).

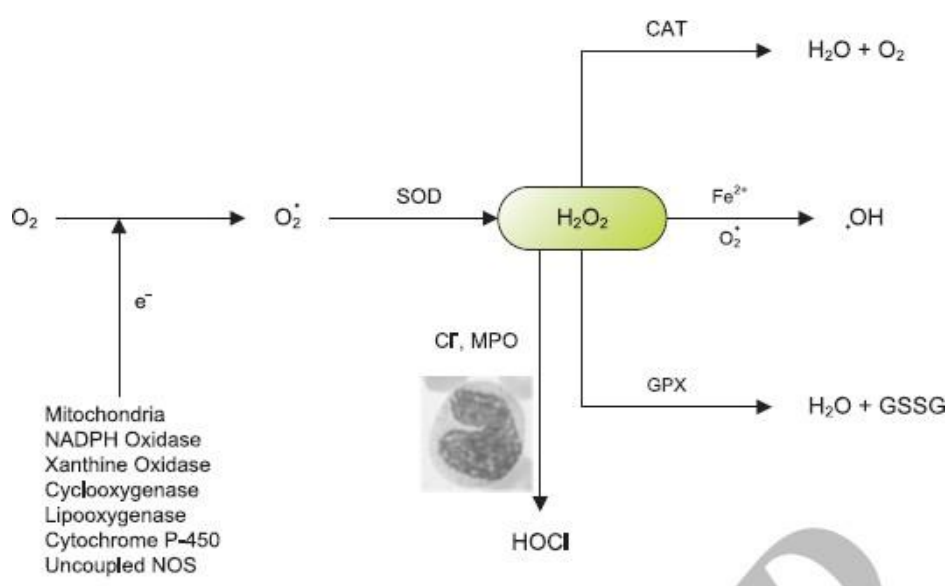
As EROs e os subprodutos de suas reações com várias biomoléculas são neutralizadas e convertidas em outras moléculas pelo sistema antioxidante natural, que inclui inúmeras enzimas e moléculas sequestradoras derivadas de fontes endógenas e exógenas (SIES, 2015). Isso previne as consequências potencialmente perigosas da oxidação de proteínas, como a formação de agregados de proteínas oxidadas. O tratamento com oxidantes ou alterações no metabolismo pode perturbar o equilíbrio entre a formação e remoção de EROs e induzir o estresse oxidativo (SABHARWAL e SCHUMACKER, 2014).

Os mecanismos de defesa antioxidante podem ser enzimáticos e não enzimáticos. Os enzimáticos incluem a superóxido dismutase (SOD), a catalase e glutathione peroxidase. Enquanto os não enzimáticos incluem α -tocoferol associado à membrana (vitamina E), ascorbato (vitamina C), flavonóides, carotenóides, tióis e glutathione (STRÅLIN et al., 1995; FINKEL, 1998).

Normalmente, o superóxido é convertido em H_2O_2 pela enzima superóxido dismutase (SOD). A SOD possui três isoformas identificadas: isoforma

citoplasmática (contendo zinco); isoforma mitocondrial (mangânês SOD) e SOD extracelular. O H_2O_2 por sua vez é convertido em água pela catalase (CAT) ou glutathione peroxidase (GPX) que utiliza a glutathione reduzida (GSH) como substrato. Entretanto, na presença de doadores de elétrons, como o ferro (Fe^{2+}) e outros metais de transição (por exemplo, Cu^{2+}) ou superóxido, o H_2O_2 é convertido em radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$), que é o radical citotóxico mais reativo conhecido (SIES, 2015).

Figura 3 - Geração de EROs e mecanismos de defesa antioxidante



Fonte: Vaziri (2008).

Além disso, na presença de inflamação, o fagócito produz e converte o H_2O_2 em ácido hipocloroso por meio da enzima mieloperoxidase (MPO), que é altamente abundante nessas células. O ácido hipocloroso é uma espécie de cloro altamente reativa que pode oxidar uma variedade de moléculas, incluindo proteínas (SIES, 2015).

O estresse oxidativo induz a peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e alteração na estrutura química do DNA que leva a disfunção celular devido a lesões de lipídios, proteínas e DNA (VALKO et al., 2007). Além disso, as mitocôndrias são alvos predominantes do estresse oxidativo porque o genoma mitocondrial carece de histonas e possui menos mecanismos de reparo do DNA que o núcleo (ZIECH et al., 2011). O dano às proteínas e membranas mitocondriais pode levar a uma disfunção mitocondrial adicional. Isso pode resultar em um mecanismo de feedback positivo

pelo qual falhas de apenas algumas mitocôndrias, afetadas pelo estresse oxidativo, podem recrutar uma rede inteira de mitocôndrias para falhar (AON et al., 2006).

Assim, órgãos com alta dependência de fosforilação oxidativa e oxidação de ácidos graxos β podem ser mais vulneráveis ao estresse oxidativo tanto no útero quanto após o nascimento, sendo considerado um mecanismo subjacente à patogênese de doenças comuns não transmissíveis, incluindo aterosclerose, diabetes tipo 2, doenças neurodegenerativas e câncer (GHEORGHE et al., 2010).

2.3.1 Estresse oxidativo na programação intrauterina

O papel do estresse oxidativo na programação fetal é apoiado por evidências epidemiológicas de índices de oxidantes e baixo peso ao nascer em associação com diabetes tipo 2 (PEUCHANT et al., 2004), doença cardiovascular (BLOCK et al., 2002) e pré-eclâmpsia (ROBERTS e LAIN, 2002). Assim, o estresse oxidativo pode ser um elo de ligação entre o insulto intrauterino e as consequências da programação após o nascimento (THOMPSON e AL-HASAN, 2012).

Crianças (8 a 13 anos) nascidas com restrição de crescimento intrauterino demonstram aumento dos níveis de peroxidação lipídica e aumento da pressão em comparação com crianças de mesma idade, nascidas com peso normal (MOHN et al., 2007; FRANCO et al., 2007; CHIAVAROLI et al., 2009). Lactentes com crescimento intrauterino restrito (RCIU) apresentam elevados níveis séricos de índices de oxidantes (peroxidação lipídica e danos ao DNA) e antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase) (HRACSKO et al., 2008). Os índices de peroxidação lipídica são elevados na placenta de mulheres com pré-eclâmpsia (BAYHAN et al., 2005; ATAMER et al., 2005) e no plasma ou soro de mulheres com fetos de IUGR (KAROWICZ-BILIŃSKA et al., 2003; KAROWICZ-BILINSKA et al., 2007; BIRI et al., 2007).

Sabe-se que vários distúrbios da gravidez resultam na produção de estresse oxidativo na placenta ou nos tecidos maternos (PEREIRA e MARTEL, 2014). Embora outros mecanismos contribuam claramente para a etiologia dessas condições, o estresse oxidativo demonstrou interagir com outras vias mecanicistas conhecidas, incluindo angiogênese alterada e inflamação para regular os resultados da doença (HOLDSWORTH-CARSON et al., 2010).

O desenvolvimento do embrião ocorre em um ambiente com pouco oxigênio e é altamente sensível à lesão de moléculas oxidantes devido à sua baixa capacidade antioxidante (DENNERY, 2010; HITCHLER e DOMANN, 2007). À medida que a placenta progride, aumenta-se a transferência de oxigênio, necessária durante a maturação placentária para sustentar o aumento da taxa metabólica durante a fase de rápido crescimento fetal, e consequentemente, aumenta a geração celular de EROs (BURTON, 2009; SYMONDS et al., 2006).

A placenta produz EROs sob condições normais de gravidez por meio de fontes celulares como NADPH oxidase, transporte de elétrons nas mitocôndrias, óxido nítrico sintase (NOS) e lipídios. Oxidantes na placenta, como o ânion superóxido e peroxinitrito são importantes para a proliferação de trofoblastos, diferenciação e respostas vasculares da placenta durante a gravidez normal (HELMO et al., 2018). As EROs também servem como moléculas de sinalização que induzem a transcrição de vários genes (por exemplo, HIF1A, CREB1, NFKB1) importantes na detecção de oxigênio, diferenciação celular e proliferação (BURTON, 2009; SCHAFER e BUETTNER, 2001; CASTAGNE et al., 1999). No entanto, um aumento anormal na produção de EROs pode levar a alterações na função placentária (IMAI et al., 2018).

As mitocôndrias são sensores de fatores ambientais e são consideradas mediadores iniciais do estresse oxidativo induzido por EROs, disfunção orgânica e programação fetal de doenças (LEDUC et al., 2010; SIMMONS, 2012; STANGENBERG et al., 2015). A atividade metabólica das mitocôndrias placentárias causa estresse oxidativo, e essa condição é intensificada em quadros de retardo de crescimento intrauterino, diabetes e pré-eclâmpsia (GIUGLIANO et al., 1996).

Estudos em animais sustentam a hipótese de que o estresse induz fenótipos programados na prole adulta. Ratas prenhes alimentadas com uma dieta pobre em proteínas têm filhos (10 a 12 semanas) que exibem pressões sanguíneas arteriais elevadas e aumento da resposta vasoconstritora à angiotensina II. (CAMBONIE et al., 2007)

Foi demonstrado que a hipóxia pré-natal gera estresse oxidativo nos corações fetais em uma variedade de espécies animais, como ovelhas (DERKS et al., 2010), ratos (GIUSSANI et al., 2012; ZHANG, 2005) e porquinhos-da-índia (THOMPSON e DONG, 2005; EVANS et al., 2012; DONG e THOMPSON, 2006). A hipóxia materna aumenta os níveis de expressão da NO sintase induzível cardíaca fetal

(THOMPSON e DONG, 2005; DONG e THOMPSON, 2006), nitrotirosina (GIUSSANI et al., 2012; EVANS et al., 2012), proteína de choque térmico 70 (HSP70) (GIUSSANI et al., 2012; LI et al., 2003), citocinas pró-inflamatórias (OH et al., 2008) e metaloproteinases de matriz (DONG e THOMPSON, 2006; OH et al., 2008; TONG e ZHANG, 2012; TONG et al., 2011), sugerindo a geração de estresse oxidativo e inflamatório como causador. Além disso, a exposição hiperóxica de ratos neonatais aumenta a produção de EROs e está associada ao aumento da pressão arterial sistólica e disfunção vascular em adultos (YZYDORCZYK et al., 2008).

2.3.2 Estresse oxidativo na hipertensão e disfunção renal

O estresse oxidativo e a inflamação são os principais contribuintes para o remodelamento vascular e a hipertensão (GUZIK e TOUZY, 2017). Nos modelos de restrição proteica (CAMBONIE et al., 2007; COSTA et al., 2016) e tabagismo materno (STANGENBERG et al., 2015), foi demonstrado que o estresse oxidativo durante etapas críticas do desenvolvimento pode contribuir significativamente para a suscetibilidade à doença renal. Portanto, a redução do estresse oxidativo durante o início da vida pode prevenir a hipertensão programada e os danos renais (CAMBONIE et al., 2007; COSTA et al., 2016; STANGENBERG et al., 2015).

Os efeitos adversos da hipertensão são mediados por alterações na estrutura e função da parede da artéria (THOM, 1997; HEAGERTY et al., 2010; MULVANY, 2018). As alterações funcionais, na forma de reatividade vascular alterada, ocorrem nos estágios iniciais da hipertensão e contribuem para o desenvolvimento e reforço da condição (WILSON et al., 2019). A elevação de EROs no estresse oxidativo está envolvido na disfunção endotelial no rim associados com a reatividade vascular do endotélio e pressão arterial sistólica (ZIMMERMAN et al., 2004).

Em vasos sanguíneos saudáveis, o revestimento celular endotelial controla a reatividade vascular e, portanto, a pressão sanguínea, liberando moléculas de sinalização parácrinas, como óxido nítrico (NO) e prostaciclina. A ativação dos canais endoteliais de potássio também pode iniciar uma hiperpolarização da membrana plasmática que se espalha para as células musculares lisas vizinhas (WANG et al., 1995).

Essas vias de sinalização endotelial normalmente atuam para atenuar a contração vascular, ou promover vasodilatação, ou ambas (FARACI et al., 1994;

OHASHI et al., 2005; PLANE et al., 1998; CHATAIGNEAU et al., 1998; CHATAIGNEAU et al., 1998; LAMPING e FARACI, 2001), mas sua ação é diminuída em várias fisiopatologias cardiovasculares. A influência modulatória reduzida - denominada disfunção endotelial - é, pelo menos em parte, responsável pelas respostas vasculares disfuncionais (aumento das contrações e diminuição das respostas do dilatador), que acompanham e agravam elevações crônicas da pressão arterial (RIOS et al., 2006; WANG et al., 1995). Na hipertensão, a interrupção da função endotelial altera a liberação de fatores vasoativos derivados do endotélio e resulta em aumento do tônus vascular (WILSON et al., 2019).

Em distúrbios renais, as EROs desempenham um papel crucial nos processos fisiopatológicos relacionados com a hipertensão, e a NADPH oxidase parece ser particularmente importante na patogênese (MOENS e KASS, 2006; MAYNE, 2003; ZHANG et al., 2010). As EROs podem ocasionar lesões glomerulares por mediar a produção de lipoproteínas glomerulopáticas e lesões inflamatórias (ZHANG et al., 2010), danos aos podócitos que pode causar glomeruloesclerose, mediados pela hemocistéina decorrente ativação da NADPH oxidase por conglomerados lipídicos (SINHA e KUMAR DABLA, 2015). A exposição ao LDL é um mecanismo subjacente da lesão do túbulo intersticial devido à produção de EROs pela NADPH oxidase, que também é ativada pela Angiotensina II que participa da progressão da lesão no túbulo intersticial por causar hipertrofia das células tubulares renais (FENG et al., 2012; MORI et al., 2006).

Uma consequência da elevação de superóxido na medula renal é uma redução no fluxo sanguíneo medular e um aumento na reabsorção de sódio (Na^+), levando à hipertensão sustentada (FENG et al., 2012; MORI et al., 2006). Um componente da ação do superóxido no tecido renal é mediado por uma redução nos níveis locais de óxido nítrico (EVANS e FITZGERALD, 2005) que podem aumentar a reabsorção de Na^+ devido ao aumento da atividade do cotransportador $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ (NKCC2) no ramo ascendente da alça de Henle (EVANS et al., 2005). Além disso, sabe-se que o estresse oxidativo altera a interação entre o receptor mineralocorticoide e uma de suas moléculas de sinalização intracelular, a guanosina trifosfatase Rac1, para aumentar a reabsorção de Na^+ e induzir hipertensão (KAWARAZAKI et al., 2012).

Como Rac1 também é uma subunidade da NADPH oxidase, a ação da aldosterona, o principal mineralocorticoide, promove um aumento no estresse

oxidativo resultante da ativação da NADPH oxidase e reabsorção aumentada de Na^+ durante a regulação positiva de canais epiteliais de sódio, cotransportador Na^+/Cl^- e transportador Na^+/K^+ -ATPase localizados no túbulo contorcido distal (ROZANSKY, 2006).

2.3.3 NADPH oxidase como fonte de EROs

As NADPH oxidases (Nox) são uma família de proteínas transmembranares que são oxidoredutases dependentes de oxigênio e NADPH que produzem O_2^- e / ou H_2O_2 em vários tipos de células e tecidos, geralmente em resposta a hormônios, fatores de crescimento e mediadores imunes (NISIMOTO et al., 2014; LAMBETH, 2004; BEDARD e KRAUSE, 2007). Nos rins, as Nox são as principais fontes de estresse oxidativo (GORIN et al., 2015; VAZIRI et al., 2003; YOU et al., 2013). Fisiologicamente, essas enzimas são críticas para as vias de sinalização envolvidas na expressão gênica, apoptose, diferenciação, migração e proliferação (BROWN e GRIENDLING, 2009).

Em mamíferos, a família NADPH oxidase inclui sete isoformas: Nox1, Nox2, Nox3, Nox4, Nox5, Duox1 e Duox2. Nox1-4 tem estrutura de domínio previsto semelhante com seis domínios transmembranares α -helicoidais no terminal N e um domínio citoplasmático do terminal C desidrogenase contendo terminais de ligação conservados para FAD e NADPH (LAMBETH, 2004; BEDARD e KRAUSE, 2007).

As enzimas Nox compreendem várias subunidades que incluem isoformas catalíticas ligadas à membrana, como Nox1-5 ou oxidase dupla 1/2 e p22phox, além de componentes citosólicos reguladores, como p47phox, p67phox, NoxA1, NoxO1, Rac1 e proteína 2 interagindo com a polimerase- δ (Poldip2) (BASI et al., 2008).

Vários estímulos, incluindo hiperglicemia, lipoproteínas oxidativamente modificadas e produtos finais de glicação avançada, promovem a montagem da subunidade em um complexo funcional. Uma vez montado, o complexo enzima Nox gera O_2^- por transferência de um elétron a partir de NADPH para o oxigênio molecular (BEDARD e KRAUSE, 2007). Ao contrário de outros Nox contendo NADPH oxidases, Nox4 é constitutivamente ativa e produz principalmente H_2O_2 (LYLE et al., 2009; MARTYN et al., 2006; MILLER e Francis, 2009). Embora Nox4 não exija que a montagem de subunidades citosólicas seja funcional (GEISZT

et al., 2000), sua atividade é aumentada pela associação com Poldip2 (LYLE et al., 2009; MILLER e Francis, 2009).

Somente Nox1, Nox2, Nox3 e Nox4 requerem associação com p22phox para atividade enzimática (NAUSEEF, 2014). A atividade da Nox1 envolve a interação de p47phox com NoxA1 nas células do músculo liso vascular do camundongo (VSMC), indicando que a expressão e composição da subunidade NADPH oxidase podem variar em vários leitos e espécies vasculares. A Nox5 é distinta da Nox1-4 por conter um domínio EF do tipo calmodulina no terminal N com quatro locais de ligação a Ca^{2+} (NIU et al., 2010; AMBASTA et al., 2006).

As enzimas Duox (dupla oxidase) são semelhantes ao Nox5 por possuir um domínio EF, mas também contêm uma α -hélice transmembranar adicional do terminal N, seguida por um domínio extracelular estendido que compartilha aproximadamente 20% de identidade com a mieloperoxidase no nível de aminoácidos (NAUSEEF, 2014). As enzimas Nox5 e Duox são constitutivamente ativas e não requerem proteínas citosólicas para atividade. Além disso, eles são ativados agudamente por níveis elevados de cálcio celular via seu domínio EF em resposta a estímulos ligados a receptores.

As células renais expressam diferencialmente as subunidades NADPH oxidase: p47phox, p67phox e p22phox são expressas em células mesangiais, podócitos, células endoteliais, células musculares lisas vasculares, fibroblastos, membro ascendente espesso, túbulos convolutos distais, incluindo células da mácula densa e ductos coletores corticais (GILL, 2006; ORIENT et al., 2007); Nox2 em podócitos, células mesangiais e endotélio; Nox4 no glomérulo, túbulo proximal e túbulo contorcido distal; e Nox3 no rim fetal (BABIOR, 2004; BEDARD et al., 2007; GILL, 2006; LASSÈGUE e CLEMPUS, 2003; ORIENT et al., 2007; SEDEEK et al., 2009). Das isoformas Nox, a Nox4 é abundantemente expressa no rim e é uma fonte importante de EROs renal. Outras NADPH oxidases, como Nox1 e Nox2, também foram identificadas nos rins, mas seu significado funcional permanece incerto. As EROs derivadas de Nox estão implicadas nos processos fisiológicos do rim, incluindo gliconeogênese, transporte de glicose, feedback tubuloglomerular, hemodinâmica e transporte de eletrólitos (SEDEEK et al., 2013).

Nox1, Nox2, Nox4 e Nox5 são expressos no sistema cardiovascular. Essas isoformas são encontradas em tipos celulares específicos no coração, incluindo cardiomiócitos, fibroblastos cardíacos, células do músculo liso vascular (VSMCs),

células epiteliais e leucócitos residentes e infiltrados. Nox2 e Nox4 são as isoformas predominantes expressas nos cardiomiócitos e estão envolvidas na regulação de vários processos (ZHANG et al., 2013). Na fisiopatologia vascular, a NADPH oxidase é ativada por vários estímulos relevantes, incluindo angiotensina II, noradrenalina, TNF- α e aumento das forças mecânicas (GRIENDLING et al., 2000; BABIOR, 1999)

Estudos apontam que p22phox (SORESCU et al., 2002; GORLACH et al., 2000; SZÖCS et al., 2002) e Nox4 (435, SORESCU et al., 2002; SZÖCS et al., 2002; KALININA et al., 2002; PARAVICINI et al., 2002) sejam expressos em todas as células vasculares, enquanto a expressão da NOX2 predomina no endotélio (GORLACH et al., 2000) e na adventícia (REY e PAGANO, 2002) nos vasos condutos. A expressão vascular de Nox1 é baixa (SUH et al., 1999; PAGANO et al., 1998; SZÖCS et al., 2002), e um papel do Nox1 na geração vascular de O_2^- foi demonstrado principalmente em VSMC (LASSÈGUE et al., 2001). Com relação às subunidades citoplasmáticas, Rac1 e p47phox foram observados em todas as camadas vasculares (LASSÈGUE e CLEMPUS, 2003), enquanto o p67phox foi encontrado apenas no endotélio (JONES et al., 1996) e adventícia (PAGANO et al., 1998), mas não na camada do músculo liso (PATTERSON et al., 1999). As NOX vasculares têm um papel no desenvolvimento da hipertensão, disfunção endotelial, arteriosclerose, reestenose e hipertrofia (CAI et al., 2003) e pode ser ativa por Angiotensina II (GRIENDLING et al., 1994), fatores de crescimento (SESHIAH et al., 2002; BRANDES et al., 2001), citocinas (DE KEULENAER et al., 1998), forças mecânicas (DE KEULENAER et al., 1998) e lipídios (HE e LAPOINTE, 2001).

2.4 PREVENÇÃO DA PROGRAMAÇÃO INTRAUTERINA

Os estudos desenvolvidos com programação intrauterina visam desenvolver estratégias de reprogramação, que se baseiam em diferentes abordagens, incluindo alimentares, farmacológicas, antioxidantes.

Sabe-se que o pré-tratamento de mães desnutridas durante a gestação com antioxidantes impede o desenvolvimento de hipertensão na prole (VIEIRA-FILHO et al., 2013), como demonstrado em ratos adultos submetidos a uma dieta de restrição proteica na gestação, em que a administração de um inibidor da peroxidação lipídica, lazaroid evitou a elevação da pressão arterial, resposta vasomotora aumentada a angiotensina II, vasodilatação prejudicada ao nitroprussiato de sódio e

rarefação microvascular (CAMBONIE et al., 2007). Tratamento com α -tocoferol durante a lactação impediu o desenvolvimento de hipertensão na prole, regulou os níveis de angiotensina II e expressão de Cox-2 no túbulo intersticial a níveis similares ao controle, além de impedir o estresse oxidativo e infiltração de macrófagos (VIEIRA-FILHO et al., 2014). Administração de difenileno iodônio ou apocinina (inibidor do complexo NADPH oxidase), é capaz de impedir o aumento da produção de superóxido mediado pela angiotensina II (YZYDORCZYK et al., 2006). Tratamento com tempol durante a gravidez evita a disfunção da aorta e hipertensão pré-natais induzidas por glicocorticóides (ROGHAIR et al., 2011), além da disfunção endotelial programada pela desnutrição no rato pré-natal (REXHAIJ et al., 2011).

Além disso, o modelo de desnutrição intrauterina causa oligonefria, condição evitada pela administração de ouabaína durante a gravidez. Ouabaína, um inibidor dos transportadores de Na^+/K^+ -ATPase, aumenta o cálcio intracelular e evita a apoptose para melhorar as reduções na produção de néfrons (LI et al., 2010). Tratamento com enalapril, um inibidor da ECA (enzima conversora de angiotensina) (MANNING e VEHASKARI, 2005) ou exposição a uma dieta com baixo teor de sódio por um período de 3 semanas após o desmame, impede a hipertensão adulta em ratos expostos à desnutrição durante a vida pré-natal (STEWART et al., 2009).

A administração de vitamina C no pré-natal inibiu o aumento induzido por hipóxia na expressão cardíaca fetal de HSP70 e na contratilidade miocárdica do adulto associada à estimulação do receptor adrenérgico $\beta 1$ na prole de ratos (GIUSSANI et al., 2012).

2.5 MORINGA OLEIFERA

A *Moringa oleifera*, espécie arbórea nativa da Índia, é também conhecida como Lírio Branco, Quiabo de Quina, Acácia-branca, Árvore-rabanete-de-cavalo, cedro e moringueiro. Pertencente à família Moringaceae, o gênero *Moringa* inclui 13 espécies, sendo 11 originárias da África e Arábia (*M. drouhardii*, *M. stenopetala*, *M. hildebrandtii*, *M. ovalifolia*, *M. peregrino*, *M. rivaie*, *M. ruspoliana*, *M. arborea*, *M. borziana*, *M. pygmaea* e *M. longituba*) e 2 da Índia (*M. concanensis* e *M. oleifera*) (NASIR et al., 1972; ARAÚJO et al., 2013). No Brasil, os primeiros registros são da década de 1950, no estado do Maranhão e, atualmente, encontra-se disseminada por todo o Nordeste (AMAYA et al., 1992).

É uma árvore de madeira perene, decídua e de crescimento rápido que chega a alcançar 12 metros de altura. Apresenta numerosos ramos com folhas bi ou tripinadas. As flores tem aparência branco-amareladas e estão dispostas em inflorescências. Os frutos assemelham-se a vagens, cada um com cerca de 20 sementes (ARAÚJO et al, 2013). É cultivada em países tropicais e subtropicais devido a suas características adaptativas (NDUBUAKU et al., 2015) relacionadas com a capacidade de resistir à baixa pluviosidade e tolerar solos ácidos, alcalinos e pouco férteis (ARAÚJO et al, 2013).

As sementes da *Moringa oleifera* são utilizadas como solução alternativa para clarificar água de casas isoladas da zona rural, considerando-se a escassez de água potável nessas áreas na região Nordeste (GERDES, 1997; BORBA e BORBA, 2001). Este tipo de tratamento é considerado útil para controle de surtos diarreicos, inclusive da cólera, especialmente nas áreas onde outras medidas sanitárias são dificilmente aplicáveis (FOLKARD et al., 1992). Uma semente de moringa triturada tem a capacidade de purificar um litro de água o que demonstra que além de um processo simples e seguro, é econômico e ecologicamente correto. Essa característica de agente clarificante é atribuída as proteínas catiônicas, que tem ação de desestabilização das partículas contidas na água em estado líquido (CARDOSO et al., 2008).

Figura 4 - *Moringa oleifera*. (A) Árvore (B) Flores (C) Sementes



Fonte: (A) Disponível em <http://www.saemas.com.br/conteudo/patrolha-ambiental-inicia-plantacao-de-moringa-a-arvore-milagrosa.html>/> Acesso em Dez. 2019.
(B) e (C) Disponível em <https://appverde.wordpress.com/2015/09/17/moringa-moringa-oleifera/>> Acesso em Dez. 2019

Folha, raiz, casca, semente, flor e vagem são comestíveis e ricas em proteínas, aminoácidos essenciais, minerais, vitaminas, ácidos graxos e outros compostos bioativos (Moyo et al., 2012; Valdez-Solana et al., 2015). Os tecidos da planta possuem componentes com atividades antioxidantes e inflamatórias, dentre eles ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico, isotocianato e derivados fenólicos. (DILLARD e GERMAN, 2000; SIDDHURAJU e BECKER, 2003; ANWAR et al., 2005).

Vários suplementos alimentares demonstram o valor nutricional e antioxidante da moringa, além de produtos cosméticos com propriedades de antienvhecimento (FEJÉR et al., 2019). Diferentes estudos afirmam os potenciais antioxidantes, anti-úlceras, antidiabéticos (MA et al., 2019), diuréticos, anti-hipertensivos, imunomodulatório (SANDEEP et al., 2019), anticâncer (KHOR et al., 2018), antienvhecimento (ALI et al., 2014), antimicrobianos (ARÉVALO-HÍJAR et al., 2018), anti-inflamatórios, cardioprotetor, analgésicos (SULTANA et al., 2018) e gastoprotetor (BEZERRA et al., 2016).

Nas folhas, a maior parte de ácidos graxos é do tipo insaturado (57%), sendo o ácido linolênico o de mais alto valor, e os outros 43%, de ácidos graxos saturados. Contém cerca de 16 a 19 aminoácidos, sendo 10 deles aminoácidos essenciais (treonina, tirosina, metionina, valina, fenilalanina, isoleucina, leucina, histidina, lisina e triptofano), além de possuir um elevado teor de cálcio, potássio, magnésio, ferro e β -caroteno, atuando como uma boa fonte de antioxidantes naturais. A composição fenólica do extrato das folhas demonstra a presença de 9 compostos, sendo a neohesperidina, o ácido clorogênico e a quercetina os de maior quantidade (MOYO et al., 2011; DUBEY et al., 2013; FEJÉR ET AL., 2019).

Devido à alta concentração de vitaminas A, B, C e E, as folhas podem ser utilizadas para combater a desnutrição (Oz, 2014). A suplementação diária de 10g de folhas em pó de *M. oleifera* em crianças desnutridas melhorou o ganho de peso em 6 meses em comparação ao grupo controle demonstrando uma contribuição na recuperação nutricional (ZONGO et al., 2013).

Atividade antioxidante *in vivo* foi observada nas folhas da MO através da inibição da toxicidade produzida por tetracloreto de carbono, redução da peroxidação lipídica e elevação dos níveis de glutathione reduzida, superóxido dismutase e catalase, devido a presença de ácidos fenólicos e flavonoides (VERMA et al, 2009).

No caule e raízes são relatadas atividades hipogliceminate, antiurolitíaca e ação citotóxica contra células de leucemia (HL-60 e CEM) e melanoma (COSTA-LOTUFO et al., 2005; KARADI et al., 2006; KAR et al., 2003). As flores possuem antioxidantes, como o α e γ -tocoferol, aminoácidos, sacarose, D-glicose, cera, íons potássio e cálcio, além de conter inibidor de tripsina, compostos com atividade inseticida, antibacteriana e moluscicida (SÁNCHEZ-MACHADO, et al., 2006; SANTOS et al., 2015; VIANA PONTUAL, 2010; MOURA et al., 2011; PONTUAL et al., 2012; PONTUAL et al., 2014; ROCHA-FILHO et al., 2015). As flores são utilizadas no tratamento de ascite, reumatismo e picadas venenosas (ANWAR et al., 2007; ANWAR et al., 2003).

As sementes são nutricionalmente importantes devido ao elevado conteúdo lipídico, maior até que na soja, e ao alto teor de aminoácidos essenciais, tornando-a uma substituta de leguminosas, que são pobres em aminoácidos contendo enxofre. Alcalóides também foram identificados nas sementes, incluindo taninos, saponinas e antraquinonas. (KASOLO et al., 2011; KAWO et al., 2009). O óleo das sementes contém todos os ácidos graxos essenciais, podendo ser um substituto do azeite e é constituído principalmente de ácido oleico, sendo bastante utilizado na indústria de cosméticos e como matéria-prima para a produção de biodiesel (GUPTA et al., 2018; MOFIJUR et al., 2014).

As sementes apresentam atividade coagulante (FERREIRA et al., 2011), hipotensiva, de proteção cardíaca (RANDRIAMBOAVONJY et al., 2016), antioxidante (FEJÉR et al., 2019), inseticida (DE OLIVEIRA et al., 2011), antifúngica (CHUANG et al., 2007) e anti-inflamatória (KUMBHARE et al., 2012). É relatado sua utilização em situações de complicações estomacais, dores nas articulações, diabetes, anemia, hipertensão arterial, hemorróidas e distúrbios uterinos (POPOOLA e OBEMBE, 2013; ABE e OHTANI, 2013). Também são utilizadas no tratamento de água, incluindo a usada no consumo humano e possuem propriedade coagulante devido a presença de polieletrólito orgânico, proteínas catiônicas e lectinas (FREITAS et al., 2016).

2.6 LECTINAS

As lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não-imune, com propriedade hemaglutinante que existem nos vírus e em todas as formas de vida. Essas proteínas interagem seletiva e reversivelmente com resíduos de açúcares específicos, tais como monossacarídeo e oligossacarídeo (FRANCO-FRAGUAS et al., 2003). As lectinas se ligam aos carboidratos de forma reversível e seletiva através de ligações de hidrogênio e pontes de Van der Waals (CORREIA et al., 2008; PEUMANS et al., 2001, SHARON e LIS, 2004; SHARON, 2007).

As mais conhecidas são extraídas de plantas, especialmente de sementes, (JEYAPRAKASH et al., 2005) entretanto, também podem ser isoladas de folhas (NAPOLEÃO et al., 2011), flores (ITO, 1986), raízes (SOUZA et al., 2011), frutos (THAKUR et al., 2007) e rizomas (ALBUQUERQUE et al., 2012), além de vírus, bactérias e fungos (TRIGUEIROS et al., 2003, ZHAO et al., 2009, WANG et al., 2009). Os métodos de isolamento das lectinas baseiam-se em técnicas de purificação, o que inclui cromatografias de afinidade, troca iônica, interação hidrofóbica e filtração em gel (LAM e NG, 2011).

Quando sintetizadas, as lectinas podem ser armazenadas nos vacúolos de reserva proteica, podem ser translocadas para o núcleo da célula ou secretadas para o meio extracelular. Extracelularmente, podem atuar como receptores de carboidratos de agentes patogênicos, podem estabelecer ligações entre si e formar complexos ao se ligar com carboidratos presentes na célula que a sintetizou e a carboidratos da matriz extracelular. Além disso, também podem desencadear cascatas de sinalização (apoptose, migração celular, liberação de mediadores) ou promover interações célula-célula e célula-matriz. (VASTA et al., 2012).

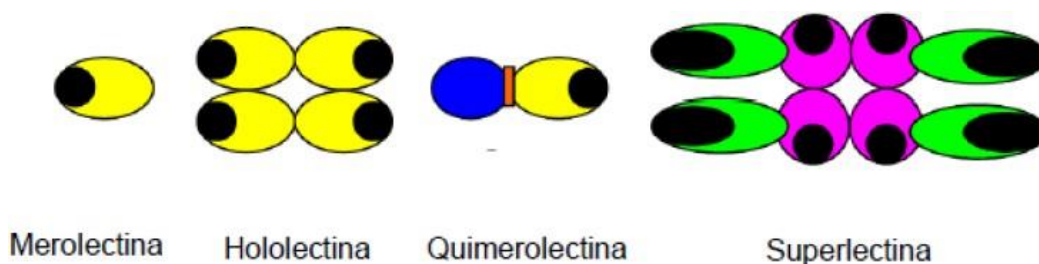
Estruturalmente possui pelo menos dois sítios moleculares de ligação específicos a carboidratos e outros glicoconjugados, devido a sua estrutura quaternária, o que leva a aglutinação de polissacarídeos ou precipitação de células sem alterar suas estruturas. Essa condição permite que as lectinas interajam com as moléculas dos fluidos biológicos e as da superfície celular (CORREIA et al., 2008). Por essa razão, elas podem substituir ligantes naturais e ativar respostas celulares através de diferentes caminhos de sinalização intracelular ou endocitose de compostos formados (BEUTH et al., 1995).

As lectinas podem ser classificadas de acordo com o domínio de reconhecimento ao carboidrato (CRD – Carbohydrate Recognition Domain), estrutura e especificidade de ligação ao carboidrato (VANDENBORRE et al., 2011).

A estrutura do domínio que reconhece a ligação ao carboidrato é atribuída a classificação CRD. Em virtude disso, as lectinas vegetais são classificadas em quatro grupos: lectinas de monocotiledôneas que se ligam a carboidratos α -D-manose, lectinas de domínio folhas- β , domínio homólogo à cianovirina-N e lectinas de leguminosas. (VARROT et al., 2011; JONH et al., 2013).

Referindo-se a estrutura, as lectinas enquadram-se em quatro grupos (Figura 5). As merolectinas são proteínas que contêm apenas um domínio de ligação a carboidratos, o que as torna incapazes de precipitar glicoconjugados e aglutinar células. As hololectinas possuem pelo menos dois domínios de ligação a carboidratos idênticos. As quimerolectinas contêm um ou mais domínios de ligação a carboidratos com outros domínios que exercem outra atividade biológica e as superlectinas são as que apresentam pelo menos dois domínios de ligação a carboidratos estruturalmente diferentes (VANDENBORRE et al., 2011; KARNCHANATAT, 2012; FREIRE et al., 2015).

Figura 5 - Estruturas das lectinas com relação ao domínio de ligação a carboidratos, representados em preto e domínio que exerce atividade biológica em azul.



Fonte: Da Silva (2016).

De acordo com a especificidade de ligação ao carboidrato, as lectinas classificam-se em: ligadoras de glicose/manose, de galactose/N-acetilgalactosamina, de N-acetilglicosamina, de Lfucose, de ácido siálico, de glicanos complexos (PEUMANS et al., 1995; KARNCHANATAT, 2012), xilose (LIU et al., 2006), lactose (HAN et al., 2005), arabinose (WANG e NG, 2005) e raminose (NITTA et al., 2007).

Atividades citotóxica, mitogênica, antitumoral, antimicrobiana, inseticida, de aglutinação de células bacterianas, de agregação plaquetária (RADI-BAPTISTA et al., 2006), antimitogênica (LIU et al., 2006) e atividade anti ou pró-inflamatória (PIRES et al., 2016; SANTIAGO et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2014) foram encontradas em lectinas (CORREIA et al., 2008).

Nas sementes da MO, três lectinas foram identificadas: MoL (do inglês *M. oleifera* lectin) (KATRE et al., 2008); cMoL (do inglês coagulant *M. oleifera* lectin) (SANTOS et al., 2009) e; WSMoL (do inglês water-soluble *M. oleifera* lectin) (SANTOS et al., 2005).

Mol foi isolada e caracterizada por Katre et al. (2008) através de cromatografia em DEAE-Celulose e CM-Sephadex. É uma lectina catiônica formada por subunidades de 7,1 kDa unidas por ligação dissulfeto. Extremos valores de pH e temperatura não alteraram a sua atividade hemaglutinante (AH) que foi inibida pela adição de tiroglobulina, fetuina e holotransferina.

A lectina cMol é uma proteína monomérica catiônica com peso aproximado de 26,5kDa. O protocolo de isolamento foi definido por Santos et al. (2009) através de cromatografia em gel de guar. A cMol foi ativa entre pH 4,0 e 9,0 e permaneceu com atividade após aquecimento à 100 °C durante 7 horas. cMol apresentou atividade coagulante e habilidade de se ligar a ácidos húmicos, sua atividade hemaglutinante é inibida por vários carboidratos (glicose, rafinose, lactose, arabinose, trealose, ramnose e galactose e frutose) (SANTOS et al., 2009).

2.6.1 WSMoL

A WSMoL foi detectada em extratos aquosos de sementes de *M. oleifera* por Santos et al. (2005). Posteriormente, o procedimento de isolamento foi definido por Coelho et al. (2009) que se baseia na extração de proteínas em água destilada, precipitação com sulfato de amônio e cromatografia em coluna de quitina.

De natureza catiônica, a proteína possui massa molecular de 60kDa composta por arranjos oligoméricos com subunidades de 5 kDa, foi ativa em uma ampla faixa de pH (4,5 a 9,5) e permaneceu termoestável a 100°C durante 7 horas (ROLIM et al., 2011; MOURA et al., 2016). Essa lectina reconhece D(+)-frutose e *N*-acetilglicosamina, uma vez que a presença desses carboidratos inibiu a atividade hemaglutinante (ROLIM et al., 2011). Quanto a atividade coagulante da WSMoL, a

lectina demonstrou ser semelhante ao sulfato de alumínio, coagulante muito utilizado no tratamento de água (SANTOS et al., 2005).

A WSMoL demonstrou atividades larvicide e ovicide frente ao *Aedes aegypti* (DE SANTANA SILVA et al., 2019), larvicide sobre a *Culex quinquefasciatus* provavelmente pela interferência no processo de digestão e absorção de nutrientes, anti-helmíntica, por interferir na eclosão dos ovos e no desenvolvimento larval de nematoides intestinais (DE MEDEIROS et al., 2018), além de não ter demonstrado genotoxicidade (ROLIM et al., 2011).

Recentemente, foi demonstrado atividade imunomodulatória em células mononucleares do sangue periférico humano, visto que a WSMoL induziu a liberação das citocinas TNF- α , IL-2, IL-6, IL-10 e óxido nítrico, além de ativar linfócitos T CD8 + (CORIOLANO et al., 2018). Atividade anti-inflamatória também foi observada em macrófagos murinos estimulados com LPS através da regulação de óxido nítrico, TNF- α e IL-1 β (ARAÚJO, 2013).

Devido aos efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios demonstrados pelas sementes da *Moringa oleífera* e WSMoL, a hipótese para realização do trabalho é a de que as preparações apresentem efeitos antioxidantes e renoprotetores em tecidos fetais e maternos e em ratos adultos obtidos de ratas fêmeas submetidas a endotoxemia materna por meio da administração de lipopolissacarídeo.

Estratégias fitoterápicas para prevenção da hipertensão e estresse oxidativo renal programados pela endotoxemia materna: efeitos do extrato aquoso das sementes da *Moringa oleifera* e da lectina isolada WSMoL

Jeoadã Karollyne Silva, Shirley Maria Sousa, Jessica Santos Schirato Albuquerque, Fernanda Priscila Barbosa Ribeiro, Natalia Kryzia dos Santos Lima, Thiago Henrique Napoleão, Patrícia Maria Guedes Paiva, Leucio Duarte Vieira.

Autor Correspondente: Leucio D. Vieira

Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Centro de Biociências – Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

Fax: +55 81 2126 8976

Email: leucio.vieirafo@ufpe.br

RESUMO

A endotoxemia materna representa um fator que afeta o ambiente intrauterino, prejudica a nefrogênese e programa o surgimento de hipertensão e doença renal na vida adulta. O impacto ocorre por mecanismos que envolvem a ativação de processos inflamatórios e estresse oxidativo no ambiente materno-fetal. Os extratos obtidos de componentes da *Moringa oleifera* (MO), espécie arbórea nativa da Índia, demonstra propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, e de sua semente pode ser isolada uma lectina que apresenta atividades imunomodulatória e anti-inflamatória, a WSMoL (Water Soluble *Moringa oleifera* Lectin). Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar se a administração do extrato aquoso da MO (EASMO) ou da WSMoL previne a programação da hipertensão e estresse oxidativo renal na prole adulta obtida de ratos fêmeas submetidas a endotoxemia materna. Para isso ratos fêmeas foram submetidas a endotoxemia, por meio da administração de LPS (0,5 mg/kg de massa corporal) nos dias 13, 15, 17 e 19 de gestação, e tratadas diariamente (13°-17° dia de gestação) com EASMO (200 mg/kg de massa corporal) ou WSMoL (1,1 mg/kg de massa corporal). Na vida adulta, a prole de ratos machos foi submetida a avaliação da função renal e pressão arterial sistólica (PAS). Além disso, foi avaliado no rim os níveis de peroxidação lipídica, níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), atividade da NADPH oxidase, níveis de nitrato/nitrito e conteúdo proteico de IL-6 e TNF- α . A prole obtida de mães LPS sem tratamento apresentou maiores níveis de PAS do que o grupo Controle. Adicionalmente, foi observado no rim maior peroxidação lipídica, níveis de EROS, atividade da NADPH oxidase, níveis de nitrato/nitrito e conteúdo proteico de TNF- α . A prole proveniente de mães LPS tratadas com o EASMO ou com a WSMoL não apresentaram alteração da PAS, bem como da peroxidação lipídica, dos níveis EROs e da atividade da NADPH oxidase no rim em relação ao grupo Controle. Apenas o EASMO preveniu a elevação do TNF- α renal. Os presentes dados demonstram que ambos tratamentos previnem a programação intrauterina da hipertensão induzida pela endotoxemia materna em paralelo a efeitos antioxidantes renais. Além disso, é demonstrado que apesar do EASMO e da WSMoL apresentarem efeitos antioxidantes semelhantes, os dois produtos da *Moringa oleifera* também apresentam alguns mecanismos de ação distintos.

Palavras-chave: Estresse oxidativo. Inflamação. Planta. Hipertensão

1 INTRODUÇÃO

A presença de eventos intrauterinos adversos aumenta o risco do surgimento de alterações funcionais renais e cardiovasculares na vida pós-natal (NÜSKEN et al., 2018). Sabe-se que vários distúrbios que afetam a gestação resultam em estresse oxidativo na placenta ou nos tecidos maternos (PEREIRA e MARTEL, 2014). O estresse oxidativo pode ser um elo de ligação entre o insulto intrauterino e as consequências da programação após o nascimento (THOMPSON e AL-HASAN, 2012). Embora outros mecanismos contribuam claramente para a etiologia dessa condição, o estresse oxidativo interage com outras vias mecanicistas conhecidas, incluindo alteração da angiogênese e inflamação (HOLDSWORTH-CARSON, 2010).

A endotoxemia materna é uma situação relacionada ao retardo do desenvolvimento intrauterino e a programação de doenças na vida adulta. A exposição materna ao LPS, endotoxina presente na parede celular de bactérias gram-negativas, induz uma resposta imunológica sistêmica pela via do receptor *Toll-like 4* (TLR4) através da liberação de inúmeras citocinas pró-inflamatórias, que podem ativar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ALEXANDER et al., 2001; Schrier e Wang, 2004), que por sua vez, estão associados a prejuízos na nefrogênese e dano estrutural renal (HAO et al., 2010; WANG et al., 2014), aumento da pressão arterial (HAO et al., 2010; WEI et al., 2007) e anormalidades morfológicas do miocárdio e da aorta (ZHAO et al., 2014; WANG et al., 2015; CHEN et al., 2015).

A busca por abordagens terapêuticas antioxidantes capazes de “reprogramar” condições deletérias geradas no ambiente materno é crucial na prevenção de complicações da prole na idade adulta. A *Moringa oleifera* (MO), espécie arbórea nativa da Índia, é amplamente cultivada na África, América Central e do Sul e na Ásia (AYERZA, 2012). As folhas e sementes da árvore são ricas em polifenóis, mostrando uma série de efeitos benéficos, incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antimicrobianas (MUANGNOI et al., 2012; PONTUAL et al., 2014). Já é descrito que o extrato das folhas da MO apresenta efeitos renoprotetores (OKWARI et al., 2015), contudo ainda não existem dados que descrevam esse efeito em extratos obtidos das sementes. Por outro lado, das sementes da MO é isolada a lectina WSMoL (do inglês water-soluble M. oleifera

lectin) (SANTOS et al., 2005), uma proteína com descritas atividades *in vitro* imunomodulatória, (CORIOLANO et al., 2018), anti-inflamatória e antioxidante (ARAÚJO et al, 2013).

Tendo visto que o extrato das sementes da MO e a WSMoL apresentam efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, é possível que essas duas preparações sejam viáveis na prevenção das alterações renais induzidas pela endotoxemia materna. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos renoprotetores e antioxidantes das sementes da *Moringa oleifera* e da lectina WSMoL em ratos obtidos de mães submetidas a indução de endotoxemia materna pela administração do LPS.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ‘Materiais

Lipopolissacarídeo de *Escherichia coli* (0111: B4), tempol, folin, albumina sérica bovina, malondialdeído, ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid), cisteína, inibidor de tripsina, fluoreto de fenilmetanossulfonil, dimetil sufóxido, dihidroetídeo, lucigenina, nicotinamida adeninad nucleotido fosfato e reagente de griess obtidos da Sigma-Aldrich, anticorpo primário anti-TNF- α (IM-0406) e anti-IL-6 (IM-0407) obtidos da Imuny, anti- β -actina (CS-47778) da Santa Cruz Biotechnology, anticorpo secundário anti-rabbit (BA 1054-0.5), anti-mouse (BA 1050-0.5) obtidos da Boster Biological Technology Co., Ltd. Os demais materiais foram os de maior pureza comercializados.

2.2 Extrato água das sementes da *Moringa oleifera*

As sementes da MO foram submetidas a secura a 28°C até peso constante e liofilização, posteriormente, reduzidas a pó com misturador. O pó (10g) foi homogeneizado com água destilada (100 mL) sob agitação constante por 16 horas a 25°C, e posteriormente, filtrado e centrifugado (3.000 g, 15 min, 4 °C). O sobrenadante obtido correspondeu ao extrato água das sementes da *Moringa oleifera* (EASMO).

2.3 Isolamento da lectina WSMoL

A partir do EASMO, a WSMoL foi isolada conforme previamente descrito por Coelho et al. (2009). Primariamente, o EASMO foi tratado com sulfato de amônio a 60% de saturação por 4 horas a 28°C, e a fração precipitada foi coletada por centrifugação (3.000g, 15 min, 4°C), ressuspensa e dialisada com água destilada (4h) e NaCl 0,15 M (4h). A fração dialisada (50mg de proteínas) foi então carregada numa coluna de quitina (7,5 x 1,5 cm) previamente equilibrada (0,3 mL/min) com NaCl 0,15 M. A WSMoL foi eluída com ácido acético 1,0 M e depois dialisada com água destilada (6 h, 4°C) para eliminação do eluente, proporcionando um rendimento de 3,4 mg por coluna. A concentração de proteína foi determinada de acordo com Lowry et al. (Lowry et al., 1951) usando albumina de soro bovino como padrão.

2.4 Protocolo Experimental

Os animais foram fornecidos pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), conforme aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE (autorização no. 23076.009437/2015-15), mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE, em ciclo 12h claro/escuro, temperatura em torno de 21°C e com livre acesso a água e ração.

Ratos fêmeas Wistar (90 dias) foram colocadas para acasalar, proporção de 3 fêmeas para 1 macho, e a detecção da gestação se fez através da presença de espermatozoide no esfregaço vaginal. As ratas prenhas foram separadas em gaiolas individuais e receberam a administração, via subcutânea, de solução NaCl 0,9% (0,5 mL/kg de massa corpórea) ou LPS (0,5 mg/kg de massa corpórea) nos dias 13°, 15°, 17° e 19° de gestação para formar os grupos Controle (C, n=5) e LPS (L, n=5), respectivamente. Diariamente, do 13° ao 19° dia de gestação, parte das mães LPS recebeu o tratamento, via gavagem, com o EASMO (200 mg/kg de peso corpóreo, n=4) ou com a WSMoL (1,0 mg/kg de massa corpórea). Além disso, um grupo de mães LPS foi tratado com um antioxidante mimético da superóxido dismutase, o tempol (18 mg/kg de massa corpórea, água de beber; n=6). Entre o 20° e 21° dia de prenhez as proles nasceram, as ninhadas foram reduzidas a oito filhotes e após o desmame (21° dia após o nascimento), os filhotes machos foram separados. Dessa forma, foram obtidas proles que formaram os seguintes grupos experimentais: C (n=5), L (n=5), LEASMO (n=4), LWSMoL (n=5), Ltempol (n=6) e CEASMO (n=5). A partir dos 90 dias de vida, foi utilizado um rato da prole por mãe para avaliação

quinzenal da pressão arterial sistólica, e, aos 120 dias de vida, foram mortos sob anestesia (cetamina 80 mg/kg e xilazina 10 mg/kg, ambos via i.p) para coleta dos tecidos sanguíneo, renal e hepático e armazenados a -80°C.

2.5 Pressão arterial sistólica

Os ratos foram submetidos a avaliação da pressão arterial sistólica (PAS) por meio de pletismografia de cauda (IITC Life Science B60-7/16", Life Science Instruments). Para isso, em animais acordados, foi posicionado um sensor de pulso na cauda acoplado a um manguito. Em seguida, os ratos foram aquecidos a 32°C durante 15 minutos, e então cinco aferições da pressão arterial sistólica foram captadas para obtenção de uma média. Previamente, os animais foram adaptados ao procedimento experimental por 3 dias.

2.6 Níveis plasmáticos de ureia e creatinina

Os níveis plasmáticos de ureia e creatinina foram mensurados através de ensaios comerciais colorimétricos de acordo com as instruções do fabricante.

2.7 Mensuração da peroxidação lipídica e níveis de glutathiona reduzida

A avaliação da peroxidação lipídica foi realizada pela mensuração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, do inglês thiobarbituric acid reactive substances), de acordo com Ohkawa et al. (1979), e como previamente descrito (VIEIRA et al. 2018). O córtex renal e fígado foram homogeneizados com KCl 1,15% + EDTA 3 mM em banho de gelo. Posteriormente, foi adicionado um meio de reação contendo 0,3% de ácido tiobarbitúrico, 0,4% de SDS e 7,5% de ácido acético (pH 3,5), e subsequentemente a mistura foi aquecida a 95° C por uma hora. As amostras foram centrifugadas e o sobrenadante teve a absorbância mensurada em comprimento de onda de 535 nm. Os dados obtidos foram corrigidos pela concentração de proteína do homogenato, mensurada de acordo com Lowry et al. (Lowry et al., 1951)

2.8 Produção de espécies reativas de oxigênio e atividade da NADPH oxidase

As espécies reativas de oxigênio foram mensuradas por meio de uma sonda fluorescente, o dihidroetídeo, em amostras do córtex renal. Para isso o córtex renal foi homogeneizado em tampão de radioimunoprecipitação contendo NaCl 150 mM,

Triton X-100 a 1%, Triton X-100 a 1%, desoxicolato de sódio a 0,5%, desoxicolato de sódio a 0,5%, SDS a 0,1% e 50 mM Tris, pH 8,0; contendo 2 mM de AEBSF, 1 mM de EDTA, 130 μ M de bestatina, 14 μ M de E-64, 1 μ M de leupeptina e 0,3 μ M de aprotinina. Em seguida, o homogenato foi incubado com PBS/DTPA e DHE (5 μ M), por 20 minutos, a 37° C, protegido da luz. A fluorescência foi mensurada em um comprimento de onda de excitação/emissão de 500/580nm, com o auxílio de um leitor multimodular (Varioskan Flash, ThermoScientific). O resultado foi corrigido pela concentração de proteína da amostra.

A atividade da NADPH oxidase foi realizada por meio da quantificação de superóxido produzido na presença de NADPH por meio da quimioluminescência derivada da lucigenina em amostras de córtex homogeneizados conforme descrição acima. Os homogenatos foram adicionados a um meio de reação contendo lucigenina 10 μ M e NADPH 100 μ M. A luminescência foi mensurada por meio de um leitor multimodular (Varioskan Flash, ThermoScientific). O resultado foi expresso em unidade relativa de luz por minuto e corrigido pela quantidade de proteína da amostra. A liberação de superóxido também foi avaliada na ausência de NADPH representando a produção basal.

2.9 Determinação do óxido nítrico (NO)

A produção de nitrito/nitrato foi determinada através da reação de Griess com o plasma e córtex renal. O reagente de Griess (0,1% de N- [1-naftil] etilenodiamina-HCl e 1% de sulfanilamida e 5% de H₃PO₄) foi adicionado ao soro (sem diluição) e sobrenadante dos homogenatos corticais (diluídos 5 x em PBS) na proporção de 1:1. Após incubação por 10 minutos, se obteve a leitura em espectrofotômetro a 540nm de comprimento de onda. O resultado foi corrigido pela concentração de proteína das amostras corticais.

2.10 Western Blotting

O conteúdo proteico de TNF- α e IL-6 foi avaliado no córtex renal da prole de ratos machos com 120 dias. As amostras mantidas a -80° C foram descongeladas em banho de gelo e homogeneizadas em tampão de radioimunoprecipitação (NaCl 150 mM, Triton X-100 a 1%, Triton X-100 a 1%, desoxicolato de sódio a 0,5%, desoxicolato de sódio a 0,5%, SDS a 0,1% e 50 mM Tris, pH 8,0; contendo 2 mM de

AEBSF, 1 mM de EDTA, 130 μ M de bestatina, 14 μ M de E-64, 1 μ M de leupeptina e 0,3 μ M de aprotinina). As proteínas (80 μ g) das amostras corticais foram separadas utilizando-se eletroforese em gel de poliacrilamida contendo 10% de dodecil sulfato de sódio (SDS), e transferidas a uma membrana de nitrocelulose. Em seguida, foi realizado o bloqueio de sítios de ligação não-específica através da incubação das membranas pelo período de uma hora em solução BSA 5% diluído em solução salina tamponada com Tris e suplementada (0,1%) com Tween 20 (TBS-T). Após, as membranas foram incubadas por 12h com os anticorpos primários anti-TNF- α (1:500) e anti-IL-6 (1:500), e posteriormente, as membranas foram lavadas com TBS-T e incubadas com o anticorpo secundário conjugado a peroxidase. As bandas foram visualizadas utilizando um reagente de detecção quimioluminescente (Luminata) e um sistema de aquisição de imagens (ChemiDoc MP, Bio-Rad Laboratories Inc., EUA). A quantificação densitométrica das bandas foi realizada pelo software Image Lab (versão 5.2.1, Bio-Rad Laboratories Inc., EUA). O controle da carga proteica foi avaliado por imunoquantificação da β -actina.

2.11 Análise estatística

Os resultados são expressos pela média $\pm$ erro padrão da média (SEM). Os dados foram submetidos a avaliação da normalidade através do teste de Shapiro-Wilk. Considerando a inexistência de grandes variações da distribuição Gaussiana, as médias dos grupos foram comparadas usando análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do teste de Tukey. As análises foram realizadas usando o software GraphPad Prism 5 (versão 5.01, GraphPad Software, Inc.). As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas com $P < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Parâmetros funcionais maternos e fetais

A administração materna de LPS reduziu o ganho de peso materno, peso placentário e peso do rim fetal, mas não afetou o peso corpóreo fetal. A prevenção da redução desses parâmetros foi promovida pelo tratamento com o EASMO. O

consumo alimentar avaliado não apresentou diferenças entre os grupos avaliados (Tabela 1)

Tabela 1. Parâmetros gerais maternos e fetais

	C	L	LEASMO	LWSMoL	Ltempol
Ganho de massa corpórea materna (g)	94 ± 5	69 ± 2***	79 ± 2 [#]	74 ± 4	55 ± 1 ^{##}
Massa da placenta (g)	0,53 ± 0,01	0,46 ± 0,01***	0,50 ± 0,01 [#]	0,48 ± 0,01	0,53 ± 0,01 ^{##}
Massa corpórea fetal (g),	3,77 ± 0,02	3,74 ± 0,05	3,77 ± 0,04	3,47 ± 0,07	3,12 ± 0,24 ^{###}
Massa hepática fetal (g)	0,28 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,24 ± 0,01
Massa renal fetal (mg)	14 ± 1	12 ± 1*	15 ± 1 ^{##}	12 ± 1	12 ± 1

Os dados são apresentados como média ± EPM. O ganho de massa corpórea materna representa a diferença de peso entre o dia 20 e o dia 0 de gestação. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma-via seguida pelo teste de Tukey: *P<0,05 e ***P<0,001 Vs. Controle (C); [#]P<0,05; ^{##}P<0,01 e ^{###}P<0,001 Vs. LPS (L).

3.2A programação da hipertensão pela administração materna de LPS é prevenida pela WSMoL e EASMO

Como observado na Figura 1, a administração materna de LPS programou elevação de 25% ($P<0,001$) na PAS da prole de ratos com 120 dias em comparação ao grupo controle. Os grupos LPS tratados com EASMO, WSMoL e tempol apresentaram menor PAS do que o grupo LPS sem tratamento, 10% ($P<0,01$), 26% ($P<0,001$) e 21% ($P<0,001$), respectivamente.

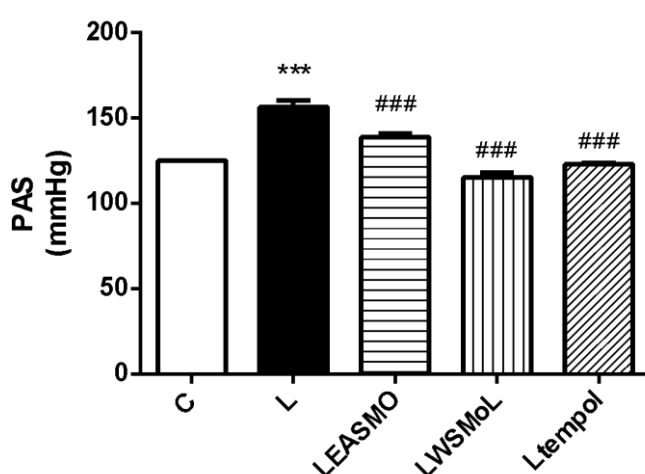


Figura 1. Efeitos do tratamento com extrato água das sementes da *Moringa oleifera* (EASMO) e da lectina hidrossolúvel da *Moringa oleifera* (WSMoL) nas alterações da pressão arterial sistólica de rato adultos provenientes de mães submetidas endotoxemia materna. Dados são expressos como média $\pm$ EPM. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma-via seguida pelo teste de Tukey: *** $P<0,001$ Vs. Controle (C); ### $P<0,001$ Vs. LPS (L).

3.3O EASMO e WSMoL preveniram a elevação plasmática de creatinina

Os níveis plasmáticos de ureia não foram diferentes entre os grupos experimentais aos 120 dias de vida, conforme demonstrado na Figura 2A. Por outro lado, foram observadas diferenças nos níveis de creatinina plasmática (Figura 2B). Apesar da administração materna do LPS não ter alterado os níveis plasmáticos de creatinina em relação ao grupo controle, os animais LPS tratados com EASMO e WSMoL apresentaram concentração sérica de creatinina inferior (45–60%, $P<0,05$) ao grupo LPS sem tratamento. O grupo WSMoL além de ter apresentado níveis

séricos de creatinina inferior ao dos animais LPS também apresentou valores menores (51%, $P < 0,05$) do que o grupo Controle.

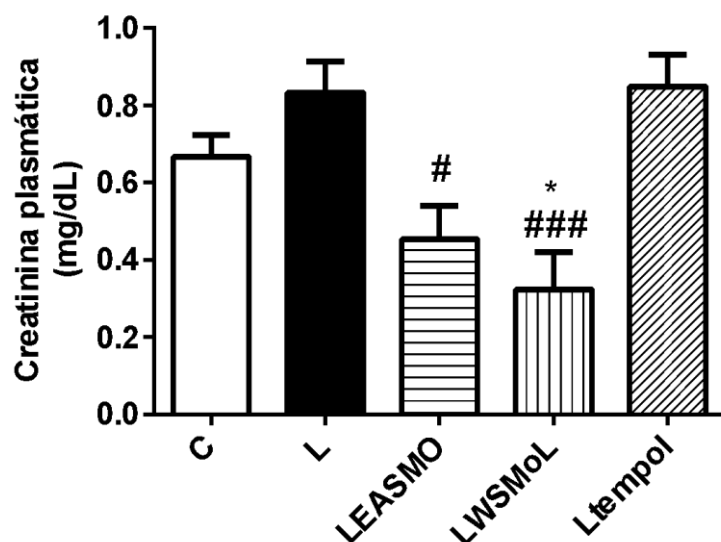


Figura 2. Efeitos do tratamento com extrato aquoso das sementes da *Moringa oleífera* (EASMO) e da lectina hidrossolúvel da *Moringa oleífera* (WSMoL) nos níveis séricos de ureia (A) e creatinina (B) de rato adultos provenientes de mães submetidas endotoxemia materna. Dados são expressos como média $\pm$ EPM. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma-via seguida pelo teste de Tukey: # $P < 0,05$ e ### $P < 0,001$ Vs. LPS (L).

3.4O aumento da peroxidação lipídica induzida pelo LPS foi reduzido pelo EASMO e WSMoL no córtex renal e fígado

A Figura 3 retrata a peroxidação lipídica no córtex renal (A) e no fígado (B) aos 120 dias de vida. No córtex renal, o nível de malondialdeído (MDA) foi 40% maior ($P<0,01$) no grupo LPS não tratado, em comparação com o grupo controle. A administração do EASMO, WSMoL e tempol preveniram a elevação da peroxidação lipídica apresentada pela prole LPS.

O nível hepático de MDA também se apresentou 40% maior ($P<0,001$) na prole LPS sem tratamento, em comparação ao grupo controle. O tratamento com EASMO reduziu a peroxidação lipídica em 11% ($P<0,05$) em relação ao grupo L, embora ainda tenha sido 25% superior ($P<0,05$) ao grupo Controle. Por outro, os níveis de malondialdeído do grupo tratado com a WSMoL foram inferiores (22%, $P<0,01$) ao do grupo L e não diferentes do grupo Controle. O tratamento com tempol não foi capaz de prevenir a elevação da peroxidação lipídica induzida pelo LPS.

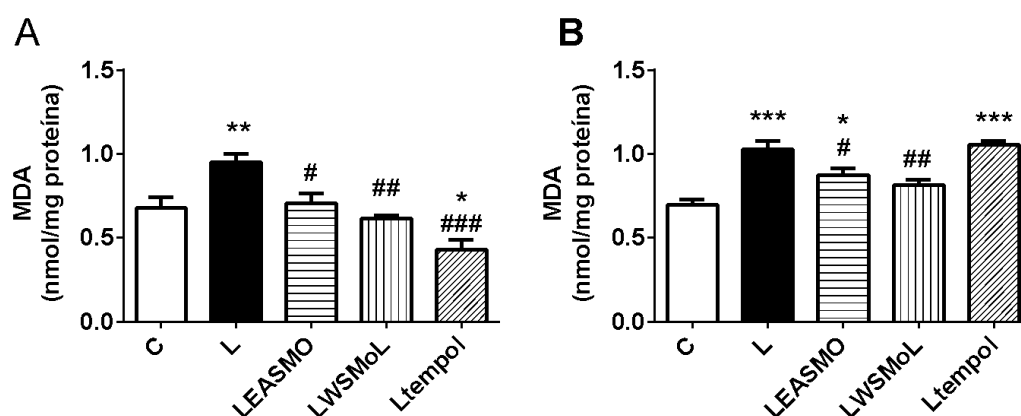


Figura 3. Efeitos do tratamento com extrato aquoso das sementes da *Moringa oleifera* (EASMO) e da lectina hidrossolúvel da *Moringa oleifera* (WSMoL) nos níveis peroxidação lipídica renal (A) e hepática (B) de rato adultos provenientes de mães submetidas endotoxemia materna. Dados são expressos como média $\pm$ EPM. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma-via seguida pelo teste de Tukey: * $P<0,05$; ** $P<0,01$ e *** $P<0,001$ Vs. Controle (C); # $P<0,05$; ## $P<0,01$ e ### $P<0,001$ Vs. LPS (L).

3.5O EASMO e a WSMoL preveniram o aumento dos níveis de EROs e da atividade da NADPH oxidase no rim programada pela administração materna de LPS

A indução da endotoxemia materna nos animais LPS elevou a produção de espécies reativas de oxigênio no córtex renal em 68% ($P<0,001$) comparativamente a prole controle. Todos os tratamentos, EASMO ($P<0,0001$), WSMoL ($P<0,0001$) e tempol ($P<0,0001$), impediram a elevação renal de EROs, ou seja, os níveis não foram diferentes dos observados nos animais Controle (Figura 4).

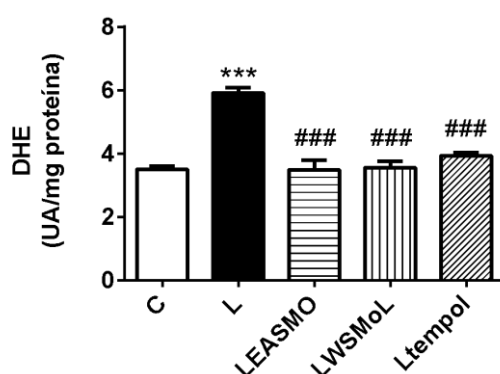


Figura 4. Efeitos do tratamento com extrato aquoso das sementes da *Moringa oleifera* (EASMO) e da lectina hidrossolúvel da *Moringa oleifera* (WSMoL) nos níveis renais de espécies reativas do oxigênio (EROs) em ratos adultos provenientes de mães submetidas endotoxemia materna. A fluorescência do DHE é expressa em unidades arbitrárias (UA) e corrigida pelo conteúdo proteico da amostra. Dados apresentados como média $\pm$ EPM. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma- via seguida pelo teste de Tukey:

*** $P<0,001$ Vs. Controle (C); ### $P<0,001$ Vs. LPS (L).

A produção basal do ânion superóxido foi superior em 89% ($P<0,01$) no grupo L em relação ao nível dos animais controle (Figura 5A). Quando comparados aos animais sem tratamento, os tratados com EASMO mostraram redução da produção de superóxido em 47% ($P<0,001$), e com a WSMoL e o tempol uma redução de 50% ($P<0,001$). Foi demonstrado que a atividade da NADPH oxidase no córtex renal é 42% ($P<0,001$) superior no grupo LPS em relação aos animais controle. Por outro lado, a atividade da enzima observada no grupo que recebeu o tratamento com

EASMO apresentou redução de 41% ($P < 0.001$) em relação a prole LPS sem tratamento, enquanto que os grupos tratados com WSMoL e tempol, apresentaram uma redução de 28% ($p < 0,001$) e 36%, respectivamente (Figura 6B).

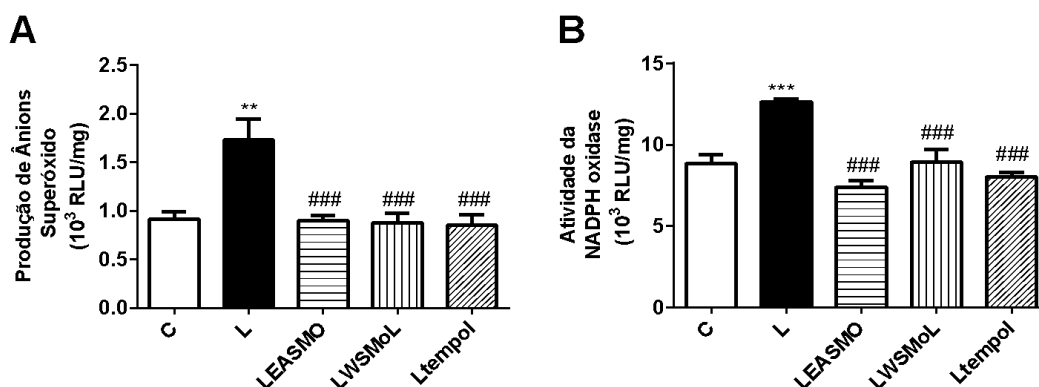


Figura 5. Efeitos do tratamento com extrato aquoso das sementes da *Moringa oleífera* (EASMO) e da lectina hidrossolúvel da *Moringa oleífera* (WSMoL) nos níveis de ânions superóxido (A) e na atividade da NADPH oxidase (B) no córtex renal de ratos adultos provenientes de mães submetidas endotoxemia materna. A avaliação dos níveis de ânions superóxido e da atividade da NADPH oxidase foi realizada pela mensuração da luminescência derivada da oxidação da lucigenina e expressa como RLU (*relative light unit*). Dados apresentados como média $\pm$ EPM. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma-via seguida pelo teste de Tukey: ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ Vs. Controle (C); ### $P < 0,001$ Vs. LPS (L).

3.6 Os tratamentos com o EASMO e a WSMoL impediram a elevação dos níveis plasmáticos de nitrato/nitrito induzido pela endotoxemia materna

Os níveis de nitrato/nitrito avaliados no plasma (Figura 6) foram 44% maiores ($P < 0,05$) no grupo LPS sem tratamento comparado ao controle. Os grupos LPS tratados com EASMO, a WSMoL e o tempol apresentaram menores, 33% ($P < 0,001$), 43% ($P < 0,0001$) e 46% ($P < 0,0001$) respectivamente, níveis plasmáticos de nitrato/nitrito em relação ao grupo LPS sem tratamento.

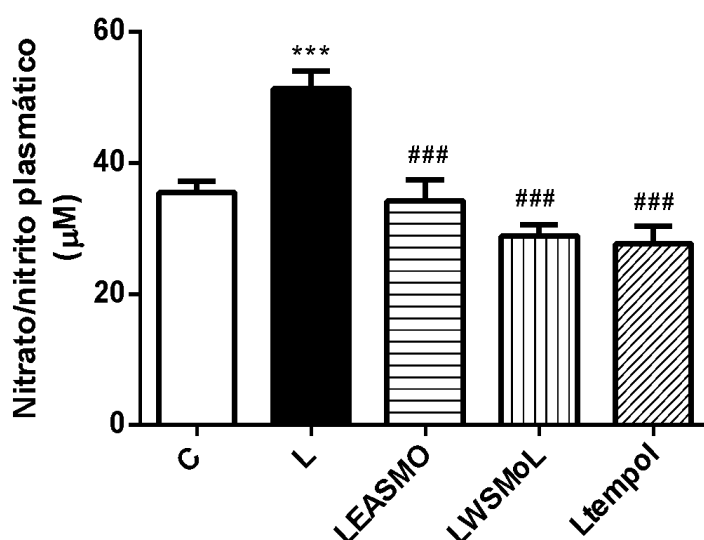


Figura 6. Efeitos do tratamento com extrato aquoso das sementes da *Moringa oleifera* (EASMO) e da lectina hidrossolúvel da *Moringa oleifera* (WSMoL) nos níveis plasmáticos de nitrato/nitrito em ratos adultos provenientes de mães submetidas endotoxemia materna. Dados apresentados como média $\pm$ EPM. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma-via seguida pelo teste de Tukey: *** $P < 0,001$ Vs. Controle (C); ### $P < 0,001$ Vs. LPS (L).

3.7 Western Blotting

O conteúdo proteico das citocinas inflamatórias TNF- α e IL-6 mensurados no córtex renal foram demonstradas na Figura 7. Os animais LPS sem tratamento apresentaram elevação de 74% ($P < 0,05$) do TNF- α em comparação a prole controle. O conteúdo renal de TNF- α do grupo LPS tratado com EASMO foi 37% ($P < 0,05$) inferior ao apresentado pelos animais LPS, enquanto que a WSMoL não reduziu significativamente. Os animais tratados com tempol tiveram o nível renal de TNF- α maiores (132%; $P < 0,001$) do que a prole controle. A endotoxemia materna não induziu alterações no conteúdo renal da IL-6, contudo o grupo LPS tratado com WSMoL apresentou maiores (35%, $P < 0,05$) níveis de IL-6 do que o grupo Controle.

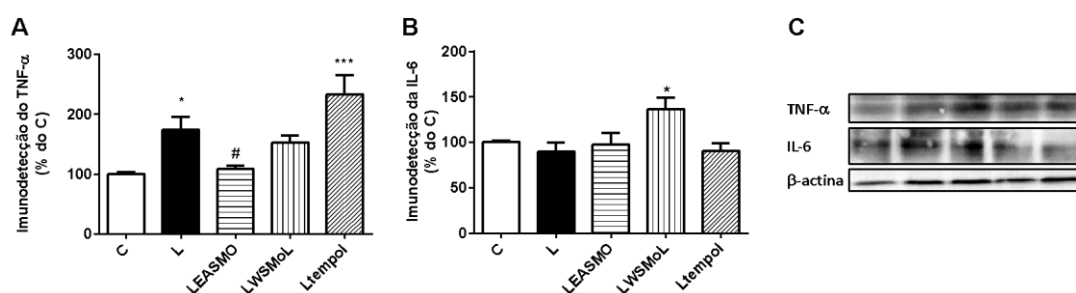


Figura 7. Efeitos do tratamento com extrato aquoso das sementes da *Moringa oleifera* (EASMO) e da lectina hidrossolúvel da *Moringa oleifera* (WSMoL) no conteúdo proteico renal de TNF-α (A) e interleucina-6 (IL-6) (B) em ratos adultos provenientes de mães submetidas endotoxemia materna. Imagens representativas da imunodeteção são apresentadas no painel C. Faixa 1: grupo C; faixa 2: grupo L; faixa 3: grupo LEASMO; faixa 4: grupo LWSMoL; e faixa 5: grupo Ltempol. Dados apresentados como média $\pm$ EPM. A comparação entre as médias dos grupos foi realizada pela análise de variância de uma-via seguida pelo teste de Tukey: * $P < 0,05$ e *** $P < 0,001$ Vs. Controle (C); # $P < 0,05$ Vs. LPS (L).

4 DISCUSSÃO

A endotoxemia materna é uma situação relacionada a programação da hipertensão na prole e o estresse oxidativo apresenta um importante papel etiológico nessa condição. O presente estudo demonstra que o tratamento materno com EASMO ou WSMoL previne a programação de hipertensão induzida pela administração de LPS. Esse efeito ocorreu paralelamente a prevenção da elevação dos níveis renais de EROs, aumento da atividade da NADPH oxidase no córtex renal e a elevação dos níveis plasmáticos de nitrato/nitrito. O efeito do tratamento com EASMO ainda foi acompanhado por prevenção da elevação do TNF- α induzida pela administração materna de LPS.

A restrição do crescimento intrauterino é observada em camundongos expostos ao LPS materno, e a hipótese é de que essa condição é atribuída a elevação do estresse oxidativo (MOENS e KASS, 2006). O mecanismo que medeia o aumento da produção de EROs envolve o reconhecimento do LPS nos receptores Toll-like (TLR) 4 e estimulação de mediadores pró-inflamatórios, incluindo iNOS, COX-2, IL-8, IL-1, TNF- α e IL-6 (PERKINS, 2000; FUJIO et al., 2000; MATSUI et al., 1999; LIU et al., 2010; WAN e LENARDO, 2010). Embora o LPS administrado na mãe não possa passar pela placenta da rata para os fetos (ASHDOWN et al., 2006), o TNF- α pode ser transferido do soro materno e do líquido amniótico (NING et al., 2008), e nas células embrionárias induzir a produção de EROs (LIN et al., 2004). Esse perfil gerado no ambiente intrauterino é comprovado com dados do nosso laboratório em que a administração materna de LPS eleva TNF- α sérico materno e promove peroxidação lipídica na placenta, fígado fetal e fígado materno (VIEIRA et al., 2008).

O tratamento com o EASMO preveniu a redução do peso corpóreo materno e do peso renal dos fetos. A prevenção da redução do peso corpóreo materno é um fator que pode contribuir para uma melhor nutrição fetal e prevenção do retardo do crescimento intrauterino. Esse efeito do tratamento com EASMO não pode ser justificado por um aumento no consumo alimentar. Dessa forma, é possível que o mecanismo envolvido na prevenção da perda de peso materno envolva a composição do extrato. A composição nutritiva das folhas, sementes e caules da MO mostram que são ricos em proteínas, aminoácidos essenciais, minerais, vitaminas e outros compostos bioativos, e que a planta pode ser usada para combater a

desnutrição, especialmente em bebês e nutrizes (MOYO et al., 2012; VALDEZ-SOLANA et al., 2015; OZ, 2014).

Por outro lado, os efeitos protetores induzidos pelo tratamento materno com EASMO deve envolver mecanismos antioxidantes. A administração materna de LPS aumenta a peroxidação lipídica no fígado materno e placenta, alterações que são prevenidas pelo tratamento com EASMO (dados não-publicados). A MO é capaz de impedir ou diminuir a velocidade da oxidação de outras moléculas, geralmente sequestrando radicais livres e reduzindo o desenvolvimento de citocinas inflamatórias devido ao seu alto conteúdo fenólico (ALHAKMANI et al., 2013; KUMAR et al., 2014). É observado nas sementes conteúdo fenólico na faixa de 4581 a 4953 mg/100 g, presença de flavonoides, (representados pela catequina, epicatequina, quercetina e kaempferol), ácidos fenólicos (predominando o ácido gálico, ácidos elágico e cafeico), além de compostos bioativos, incluindo alcalóides, glucosinolatos, isotiocianatos e tiocarbamatos (SINGH et al., 2009; SINGH et al., 2013; MARINELLI, 2016). É importante notar que os grupos tratados com o tempol e a WSMoL também previnem os efeitos antioxidantes induzidos pelo LPS (dados não-publicados) contudo não são capazes de prevenir a redução do ganho de massa corpórea materna. Isso ilustra que o EASMO apresenta efeitos protetores que ocorrem por mecanismos não-antioxidantes.

Embora haja divergências nos efeitos dos tratamentos sobre alguns parâmetros maternos, os três (EASMO, WSMoL e tempol) preveniram a programação da hipertensão induzida pela administração de LPS. Isso demonstra a importância do estresse oxidativo no mecanismo de programação intrauterina, bem como retrata a ação antioxidante protetora do EASMO e da WSMoL, comparáveis ao mimético da superóxido dismutase.

Sabe-se que o LPS medeia a interação entre a produção de EROs pela NADPH oxidase e Angiotensina II (Ang II). A Ang II modula o sistema imunológico (MCMASTER et al., 2015) e ativa a NADPH oxidase (NGUYEN DINH CAT et al., 2013), enquanto simultaneamente as EROs ativam células imunes (MCMASTER et al., 2015; KIRABO et al., 2014) e sistema renina angiotensina (LUO et al., 2015). Apesar de ambos, EASMO e WSMoL prevenirem estresse oxidativo e diminuam EROs no ambiente materno fetal, apenas o WSMoL inibe a atividade da NADPH oxidase (dados não-publicados). Isso é um outro fator que ilustra mecanismos de ação distintos entre as duas preparações.

Além do estresse oxidativo ser particularmente importante no retardo do crescimento intrauterino, ele também é importante na patogênese da hipertensão na vida adulta (ZHANG et al., 2010; MOENS e KASS, 2010). Nesse trabalho, foi observado que a ação antioxidante do EASMO e da WSMoL presente no ambiente materno-fetal é transferida para o rim da prole adulta, como constatado pela prevenção do aumento da produção de EROs e da atividade da NADPH oxidase induzidas pelo LPS materno. A repercussão tardia de tratamentos antioxidantes maternos já foi demonstrada previamente em outros trabalhos do nosso grupo de pesquisa (VIEIRA-FILHO et al., 2011; VIEIRA et al., 2018).

A prevenção do estresse oxidativo renal alcançada pelo tratamento com EASMO e WSMoL podem ter papel fundamental no mecanismo de prevenção da hipertensão e disfunção renal da prole com 120 dias. No vaso, as EROs induzem vasoconstrição, enquanto no rim causam retenção de sódio e volume. Embora esses eventos por si só possam causar hipertensão, eles também aumentam as respostas inflamatórias, que, promovem ainda mais a elevação da pressão arterial. As EROs ativam fatores de transcrição pró-inflamatórios (SEN e PACKER, 1996; IMHOFF e HANSEN, 2009), modulam a expressão de genes que codificam moléculas de adesão e quimiocinas e que estimulam o acúmulo tecidual de células inflamatórias (INNAMORATO et al., 2008; WEBER et al., 1999; DHAWAN et al., 1997; MORIUCHI et al., 1997). As células inflamatórias, como macrófagos e granulócitos, podem liberar EROs, ampliando ainda mais o ambiente oxidativo. Devido a essa interação entre lesão oxidativa e inflamação, os esforços para reduzir as EROs diminuem a inflamação e repercutem na pressão arterial (HARRISON et al., 2011).

Os tratamentos antioxidantes maternos também podem ter prevenido o desenvolvimento da hipertensão mediada pela exposição materna ao LPS por apresentar efeitos anti-inflamatórios tardios. A exposição inflamatória pré-natal leva ao aumento de citocinas inflamatórias na mãe, feto e filhos adultos (TAK e FIRESTEIN, 2001). A exposição ao LPS resultou na regulação positiva dos níveis plasmáticos de nitrato/nitrito, indicador de maior produção de NO, enquanto que os tratamentos com EASMO, WSMoL ou tempol foram capazes de prevenir essa alteração. A produção de NO via iNOS é responsável por estágios iniciais de processos inflamatórios (WANG e LAU, 2006) e já foi demonstrado que a suprarregulação da expressão da iNOS, estimulada pelo LPS pode ser abolida pelo tratamento de macrófagos com a fração acetato de etila de folhas de *Moringa*

oleifera (ARULSELVAN et al., 2016). Esse perfil pode ter ocorrido de maneira semelhante no presente trabalho.

A participação de fatores inflamatórios na programação da hipertensão induzida pelo LPS também é fundamentada na elevação do conteúdo renal do TNF- α , e nos efeitos protetores do EASMO e WSMoL. Nesse parâmetro, podemos observar que o EASMO apresentou um efeito protetor mais proeminente do que a WSMoL, uma vez que o primeiro reduziu os níveis de TNF- α a valores no mesmo patamar do grupo Controle. O efeito de lectinas na inflamação frequentemente está relacionado ao domínio de ligação à carboidratos (domínio lectínico) e inibição da migração celular para os sítios inflamados, provavelmente via inibição da adesão entre leucócito e endotélio (ASSREUY et al., 1997; ASSREUY et al., 1999; ALENCAR et al., 1999; NAPIMOGA et al., 2007; NUNES et al., 2009; ROCHA et al., 2011). Por outro lado, o maior efeito do EASMO pode ser devido a maior diversidade de componentes do extrato que atuam por diversas vias sinergicamente. Também é importante salientar que a repercussão dos tratamentos com EASMO e WSMoL nos níveis de TNF- α não são meramente dependentes de seus efeitos antioxidantes. O grupo tratado com tempol também promove inibição dos parâmetros oxidativos renais, contudo, não apresentou prevenção da elevação do TNF- α induzida pelo LPS.

A ausência do efeito do tempol na prevenção das alterações dos níveis de TNF- α induzidos pelo LPS é um fator que merece uma investigação mais profunda. Contudo, já foi demonstrado que a enzima superóxido dismutase é um importante determinante da resistência celular ao TNF- α (WONG et al., 1989), o que poderia sugerir o aumento dos níveis da citocina como um fator compensatório a resistência dessa via de sinalização. Além disso, também deve ser alvo de estudos posteriores o efeito da WSMoL sobre o conteúdo da IL-6, que a princípio é outra citocina correlacionada com a gênese da hipertensão, doença renal e estresse oxidativo.

Em conclusão, o presente trabalho demonstra que o EASMO e a WSMoL apresentam efeitos protetores sobre a endotoxemia materna, que envolvem mecanismos antioxidantes e anti-inflamatórios capazes de prevenir a programação da hipertensão. Dessa forma, fica clara a possibilidade da utilização de ambas preparações em situações clínicas que envolvam ativação de vias pró-inflamatórias

e pró-fibróticas, contudo ainda é necessária uma melhor compreensão das diferenças do mecanismo de ação das duas abordagens de tratamento.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CNPq) pela disponibilidade de bolsas de pesquisa, a Plataforma Multiusuário em Biologia Celular e Molecular, a prof. Dayane Aparecida Gomes por permitir acesso ao seu laboratório para utilização dos equipamentos, aos técnicos de laboratório Nielson T. Mello e Danielle D. Pereira, e em especial a todos os integrantes do Laboratório de Fisiopatologia Renal da Universidade Federal de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N. M. N. et al. Leguminous lectins as tools for studying the role of sugar residues in leukocyte recruitment. **Mediators of Inflammation**, v. 8, n. 2, p. 107-113, 1999.
- ALEXANDER, C.; RIETSCHER, E. Th. Invited review: bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. **Journal of endotoxin research**, v. 7, n. 3, p. 167-202, 2001.
- ALHAKMANI, F.; KUMAR, S.; KHAN, S.A. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 3, n. 8, p. 623, 2013.
- ALWASEL, S.H.; ASHTON, N. Prenatal programming of renal sodium handling in the rat. **Clinical Science**, v. 117, n. 2, p. 75-84, 2009.
- ARAÚJO, L.C.C. et al. Evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities of extract and lectins from *Moringa oleifera* seeds. *Plos One*, v. 8, n. 12, 2013.
- ARULSELVAN, P. et al. Anti-inflammatory potential of ethyl acetate fraction of *Moringa oleifera* in downregulating the NF- κ B signaling pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. **Molecules**, v. 21, n. 11, p. 1452, 2016.

ASHDOWN, H. et al. The role of cytokines in mediating effects of prenatal infection on the fetus: implications for schizophrenia. **Molecular psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 47-55, 2006.

ASSREUY, A. M. S. et al. Anti-inflammatory effect of glucose—mannose binding lectins isolated from Brazilian beans. **Mediators of inflammation**, v. 6, n. 3, p. 201-210, 1997.

ASSREUY, A. M. S. et al. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis by glucose-mannose binding plant lectins. **The Journal of urology**, v. 161, n. 6, p. 1988-1993, 1999.

AYERZA, R. Seed and oil yields of *Moringa oleifera* variety Periyakalum-1 introduced for oil production in four ecosystems of South America. **Industrial Crops & Products**, v. 36, n. 1, p. 70-73, 2012.

BAGBY, S.P. Maternal nutrition, low nephron number, and hypertension in later life: pathways of nutritional programming. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 4, p. 1066-1072, 2007.

BOUBRED, F. et al. Developmental origins of chronic renal disease: an integrative hypothesis. **International journal of nephrology**, v. 2013, 2013.

BRADLEY, J. R. TNF-mediated inflammatory disease. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 214, n. 2, p. 149-160, 2008.

BRENNER, B.M.; GARCIA, D.L.; ANDERSON, S. Glomeruli and blood pressure: less of one, more the other?. **American journal of hypertension**, v. 1, n. 4_Pt_1, p. 335-347, 1988.

CHEN, X. et al. Prenatal exposure to lipopolysaccharide results in myocardial fibrosis in rat offspring. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 5, p. 10986-10996, 2015.

CORIOLOANO, M.C. et al. Immunomodulatory effects of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) on human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Protein and peptide letters**, v. 25, n. 3, p. 295-301, 2018.

DHAWAN, S.; SINGH, S.; AGGARWAL, B.B. Induction of endothelial cell surface adhesion molecules by tumor necrosis factor is blocked by protein tyrosine phosphatase inhibitors: Role of the nuclear transcription factor NF- κ B. **European journal of immunology**, v. 27, n. 9, p. 2172-2179, 1997.

FUJIO, Y. et al. Akt promotes survival of cardiomyocytes in vitro and protects against ischemia-reperfusion injury in mouse heart. **Circulation**, v. 101, n. 6, p. 660-667, 2000.

HAO, Xue-Qin et al. Prenatal exposure to lipopolysaccharide alters the intrarenal renin–angiotensin system and renal damage in offspring rats. **Hypertension Research**, v. 33, n. 1, p. 76-82, 2010.

HARRISON, D.G. et al. Inflammation, immunity, and hypertension. **Hypertension**, v. 57, n. 2, p. 132-140, 2011.

HEO, Soo-Jin et al. Chromene suppresses the activation of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. **Food and chemical toxicology**, v. 67, p. 169-175, 2014.

HOLDSWORTH-CARSON, S. J. et al. Peroxisome proliferator-activated receptors are altered in pathologies of the human placenta: gestational diabetes mellitus, intrauterine growth restriction and preeclampsia. **Placenta**, v. 31, n. 3, p. 222-229, 2010.

IMHOFF, B.R.; HANSEN, J.M. Extracellular redox status regulates Nrf2 activation through mitochondrial reactive oxygen species. **Biochemical Journal**, v. 424, n. 3, p. 491-500, 2009.

INNAMORATO, N.G. et al. The transcription factor Nrf2 is a therapeutic target against brain inflammation. **The Journal of Immunology**, v. 181, n. 1, p. 680-689, 2008.

KIRABO, A et al. DC isoketal-modified proteins activate T cells and promote hypertension. **The Journal of clinical investigation**, v. 124, n. 10, p. 4642-4656, 2014.

KUMAR, B. et al. Retinal neuroprotective effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. **Experimental Eye Research**, v. 125, p. 193-202, 2014.

LIN, Y. et al. Tumor necrosis factor-induced nonapoptotic cell death requires receptor-interacting protein-mediated cellular reactive oxygen species accumulation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 11, p. 10822-10828, 2004.

LIU, M. et al. Protective effects of Toll-like receptor 4 inhibitor eritoran on renal ischemia-reperfusion injury. In: **Transplantation proceedings**. Elsevier, 2010. p. 1539-1544.

LOWRY, Oliver H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of biological chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUO, H. et al. Oxidative stress causes imbalance of renal renin angiotensin system (RAS) components and hypertension in obese Zucker rats. **Journal of the American Heart Association**, v. 4, n. 2, p. e001559, 2015.

LUYCKX, V.A. et al. A developmental approach to the prevention of hypertension and kidney disease: a report from the Low Birth Weight and Nephron Number Working Group. **The Lancet**, v. 390, n. 10092, p. 424-428, 2017.

LUYCKX, V.A.; BRENNER, B.M. Birth weight, malnutrition and kidney-associated outcomes—a global concern. **Nature Reviews Nephrology**, v. 11, n. 3, p. 135, 2015.

LUYCKX, V.A.; BRENNER, B.M. Low birth weight, nephron number, and kidney disease. **Kidney International**, v. 68, p. S68-S77, 2005.

MARINELLI, P.S. Farinhas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) e ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.): Biomateriais Funcionais. 2016.

MATSUI, T. et al. Adenoviral gene transfer of activated phosphatidylinositol 3'-kinase and Akt inhibits apoptosis of hypoxic cardiomyocytes in vitro. **Circulation**, v. 100, n. 23, p. 2373-2379, 1999.

MCMASTER, W.G. et al. Inflammation, immunity, and hypertensive end-organ damage. **Circulation research**, v. 116, n. 6, p. 1022-1033, 2015.

MOENS, A.L.; KASS, D.A. Tetrahydrobiopterin and cardiovascular disease. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 26, n. 11, p. 2439-2444, 2006.

MORIUCHI, H.; MORIUCHI, M.; FAUCI, A.S. Nuclear factor-kappa B potently up-regulates the promoter activity of RANTES, a chemokine that blocks HIV infection. **The Journal of Immunology**, v. 158, n. 7, p. 3483-3491, 1997.

MOYO, B.; MASIKA, P.J.; MUCHENJE, V. Effect of supplementing crossbred Xhosa lop-eared goat castrates with *Moringa oleifera* leaves on growth performance, carcass and non-carcass characteristics. **Tropical animal health and production**, v. 44, n. 4, p. 801-809, 2012.

MUANGNOI, C. et al. *Moringa oleifera* pod inhibits inflammatory mediator production by lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cell lines. **Inflammation**, v. 35, n. 2, p. 445-455, 2012.

NAPIMOGA, M. H. et al. *Lonchocarpus sericeus* lectin decreases leukocyte migration and mechanical hypernociception by inhibiting cytokine and chemokines production. **International immunopharmacology**, v. 7, n. 6, p. 824-835, 2007.

NGUYEN DINH CAT, A. et al. Angiotensin II, NADPH oxidase, and redox signaling in the vasculature. **Antioxidants & redox signaling**, v. 19, n. 10, p. 1110-1120, 2013.

NING, H. et al. Maternally-administered lipopolysaccharide (LPS) increases tumor necrosis factor alpha in fetal liver and fetal brain: its suppression by low-dose LPS pretreatment. **Toxicology letters**, v. 176, n. 1, p. 13-19, 2008.

NIU, X. et al. Isofraxidin exhibited anti-inflammatory effects in vivo and inhibited TNF- α production in LPS-induced mouse peritoneal macrophages in vitro via the MAPK pathway. **International immunopharmacology**, v. 14, n. 2, p. 164-171, 2012.

NUNES, B. S. et al. Lectin extracted from *Canavalia grandiflora* seeds presents potential anti-inflammatory and analgesic effects. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 379, n. 6, p. 609, 2009.

NÜSKEN, E. et al. Developmental programming of renal function and re-programming approaches. **Frontiers in pediatrics**, v. 6, p. 36, 2018.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

OJEDA, N.B. et al. Early renal denervation prevents development of hypertension in growth-restricted offspring. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 11, p. 1212-1216, 2007.

OKWARI, O. O. et al. Effect of aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* on some renal function indices of rats. **International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)**, v. 6, n. 4, p. 777-782, 2015.

OZ, D. Moringa news, articles and information: Moringa: A miracle tree being promoted as a solution to third world malnutrition. 2014.

PEREIRA, A.C.; MARTEL, F. Oxidative stress in pregnancy and fertility pathologies. **Cell biology and toxicology**, v. 30, n. 5, p. 301-312, 2014.

PERKINS, N.D. The Rel/NF- κ B family: friend and foe. **Trends in biochemical sciences**, v. 25, n. 9, p. 434-440, 2000.

PONTUAL, E.V. et al. Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut. **Parasitology research**, v. 113, n. 2, p. 727-733, 2014.

ROCHA, B.A.M et al. Structural basis for both pro-and anti-inflammatory response induced by mannose-specific legume lectin from *Cymbosema roseum*. **Biochimie**, v. 93, n. 5, p. 806-816, 2011.

SANTOS, A. F. S. et al. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. **Water Research**, v. 39, n. 6, p. 975-980, 2005.

SCHRIER, R.W.; WANG, W. Acute renal failure and sepsis. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 2, p. 159-169, 2004.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SEN, C.K.; PACKER, L. Antioxidant and redox regulation of gene transcription. **The FASEB journal**, v. 10, n. 7, p. 709-720, 1996.

SIMONETTI, G.D. et al. Salt sensitivity of children with low birth weight. **Hypertension**, v. 52, n. 4, p. 625-630, 2008

SINGH, B.N. et al. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1109-1116, 2009.

SINGH, R.SG.; NEGI, P.S.; RADHA, C. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera* seed flour. **Journal of functional foods**, v. 5, n. 4, p. 1883-1891, 2013.

TAK, P.P.; FIRESTEIN, G.S. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. **The Journal of clinical investigation**, v. 107, n. 1, p. 7-11, 2001.

THOMPSON, L. P.; AL-HASAN, Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. **Journal of pregnancy**, v. 2012, 2012.

VALDEZ-SOLANA, M.A. et al. Nutritional content and elemental and phytochemical analyses of *Moringa oleifera* grown in Mexico. **Journal of Chemistry**, v. 2015, 2015.

VIEIRA-FILHO, L.D. et al. Placental malnutrition changes the regulatory network of renal Na-ATPase in adult rat progeny: reprogramming by maternal α -tocopherol during lactation. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 505, n. 1, p. 91-97, 2011.

VIEIRA, L.D. et al. Oxidative stress induced by prenatal LPS leads to endothelial dysfunction and renal haemodynamic changes through angiotensin II/NADPH oxidase pathway: Prevention by early treatment with α -tocopherol. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1864, n. 12, p. 3577-3587, 2018.

WANG, X. et al. Prenatal lipopolysaccharide exposure causes mesenteric vascular dysfunction through the nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate pathway in offspring. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 86, p. 322-330, 2015.

WANG, X. et al. Prenatal lipopolysaccharide exposure results in dysfunction of the renal dopamine D1 receptor in offspring. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 76, p. 242-250, 2014.

WANG, X. S.; LAU, H. Y. A. Prostaglandin E2 potentiates the immunologically stimulated histamine release from human peripheral blood-derived mast cells through EP1/EP3 receptors. **Allergy**, v. 61, n. 4, p. 503-506, 2006.

WEBER, C. et al. Antioxidants inhibit monocyte adhesion by suppressing nuclear factor-kappa B mobilization and induction of vascular cell adhesion molecule-1 in endothelial cells stimulated to generate radicals. **Arteriosclerosis and thrombosis: a journal of vascular biology**, v. 14, n. 10, p. 1665-1673, 1994.

WEI, Yan-ling; LI, Xiao-hui; ZHOU, Jian-zhi. Prenatal exposure to lipopolysaccharide results in increases in blood pressure and body weight in rats. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 28, n. 5, p. 651-656, 2007.

WONG, G.H.W et al. Manganous superoxide dismutase is essential for cellular resistance to cytotoxicity of tumor necrosis factor. **Cell**, v. 58, n. 5, p. 923-931, 1989.

ZHANG, C. et al. Redox signaling via lipid raft clustering in homocysteine-induced injury of podocytes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1803, n. 4, p. 482-491, 2010.

ZHAO, S. et al. Lipopolysaccharide exposure during pregnancy leads to aortic dysfunction in offspring rats. **PLoS One**, v. 9, n. 7, 2014.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O EASMO e a WSMoL apresentam efeitos protetores sobre o mecanismo de programação intrauterina de hipertensão. Os mecanismos protetores de ambos tratamentos devem envolver ação antioxidante durante o ambiente intrauterino com repercussão tardia no estresse oxidativo renal. Além disso, podemos concluir que o EASMO apresenta um impacto protetor mais amplo que o WSMoL que inclui uma ação anti-inflamatória.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia celular e molecular*. 6^a edição. **Rio de**, 2008.
- ABE, R.; OHTANI, K. An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 2, p. 554-565, 2013.
- AKIRA, S. Toll-like receptor signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 40, p. 38105-38108, 2003.
- ALCAZAR, M.A.A. et al. Early postnatal hyperalimentation impairs renal function via SOCS-3 mediated renal postreceptor leptin resistance. **Endocrinology**, v. 153, n. 3, p. 1397-1410, 2012.
- ALEXANDER, C.; RIETSCHER, E. Th. Invited review: bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. **Journal of endotoxin research**, v. 7, n. 3, p. 167-202, 2001.
- ALI, A.; AKHTAR, N.; CHOWDHARY, F. Enhancement of human skin facial revitalization by moringa leaf extract cream. **Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii**, v. 31, n. 2, p. 71, 2014.
- ALJUNAIDY, M.M. et al. Prenatal hypoxia and placental oxidative stress: linkages to developmental origins of cardiovascular disease. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 313, n. 4, p. R395-R399, 2017.
- ALWASEL, S.H. et al. Maternal protein restriction reduces angiotensin II AT1 and AT2 receptor expression in the fetal rat kidney. **Kidney and Blood Pressure Research**, v. 33, n. 4, p. 251-259, 2010.
- ALWASEL, S.H.; ASHTON, N. Prenatal programming of renal sodium handling in the rat. **Clinical Science**, v. 117, n. 2, p. 75-84, 2009.
- AMARA, A.B. et al. Placental macrophages are impaired in chorioamnionitis, an infectious pathology of the placenta. **The Journal of Immunology**, v. 191, n. 11, p. 5501-5514, 2013.
- AMAYA, D. R. et al. Moringa: hortaliça arbórea rica em beta-caroteno. **Horticultura Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 126, 1992.
- AMBASTA, R.K. et al. Noxa1 is a central component of the smooth muscle NADPH oxidase in mice. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 2, p. 193-201, 2006.
- AMPBELL, D. M. et al. Diet in pregnancy and the offspring's blood pressure 40 years later. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 103, n. 3, p. 273-280, 1996.

ANDREWS, W.W. et al. The Alabama Preterm Birth study: polymorphonuclear and mononuclear cell placental infiltrations, other markers of inflammation, and outcomes in 23-to 32-week preterm newborn infants. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 195, n. 3, p. 803-808, 2006.

ANWAR, F. et al. Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 1, p. 17-25, 2007.

ANWAR, F.; ASHRAF, M.; BHANGER, M. L. Interprovenance variation in the composition of Moringa oleifera oilseeds from Pakistan. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 82, n. 1, p. 45-51, 2005.

ANWAR, F.; BHANGER, M. I.; KAZI, T. G. Relationship between rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 2, p. 151-155, 2003.

AON, M.A. et al. Mitochondrial criticality: a new concept at the turning point of life or death. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1762, n. 2, p. 232-240, 2006.

ARAÚJO, L.C.C. et al. Evaluation of cytotoxic and anti-inflammatory activities of extract and lectins from Moringa oleifera seeds. *Plos One*, v. 8, n. 12, 2013.

ARÉVALO-HÍJAR, L. et al. Antibacterial and Cytotoxic Effects of Moringa oleifera (Moringa) and Azadirachta indica (Neem) Methanolic Extracts against Strains of Enterococcus faecalis. **International journal of dentistry**, v. 2018, 2018.

ASHDOWN, H. et al. The role of cytokines in mediating effects of prenatal infection on the fetus: implications for schizophrenia. **Molecular psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 47-55, 2006.

ATAMER, Y. et al. Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 119, n. 1, p. 60-66, 2005.

AYERZA, R. Seed and oil yields of Moringa oleifera variety Periyakalum-1 introduced for oil production in four ecosystems of South America. **Industrial Crops & Products**, v. 36, n. 1, p. 70-73, 2012.

BABIOR, B.M. NADPH oxidase. **Current opinion in immunology**, v. 16, n. 1, p. 42-47, 2004.

BABIOR, B.M. NADPH oxidase: an update. **BLOOD-NEW YORK-**, v. 93, p. 1464-1476, 1999.

BAGBY, S.P. Maternal nutrition, low nephron number, and hypertension in later life: pathways of nutritional programming. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 4, p. 1066-1072, 2007.

BARKER, D.J.P. Fetal growth and adult disease. **British journal of obstetrics and gynaecology (Print)**, v. 99, n. 4, p. 275-276, 1992.

BARKER, D.J.P. Fetal growth and adult disease. **British journal of obstetrics and gynaecology (Print)**, v. 99, n. 4, p. 275-276, 1992.

BARKER, D.J.P. Programming the baby. **Mothers, babies, and disease in later life. London: BMJ Publishing Group**, v. 14, 1994.

BARKER, DJ P. Fetal growth and adult disease. **British journal of obstetrics and gynaecology (Print)**, v. 99, n. 4, p. 275-276, 1992.

BASI, S. et al. Microalbuminuria in type 2 diabetes and hypertension: a marker, treatment target, or innocent bystander?. **Diabetes care**, v. 31, n. Supplement 2, p. S194-S201, 2008.

BATESON, P. et al. Developmental plasticity and human health. **Nature**, v. 430, n. 6998, p. 419-421, 2004.

BAYHAN, G. et al. Potential atherogenic roles of lipids, lipoprotein (a) and lipid peroxidation in preeclampsia. **Gynecological endocrinology**, v. 21, n. 1, p. 1, 2005.

BEDARD, K.; KRAUSE, Karl-Heinz. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. **Physiological reviews**, v. 87, n. 1, p. 245-313, 2007.

BEDARD, K.; LARDY, B.; KRAUSE, Karl-Heinz. NOX family NADPH oxidases: not just in mammals. **Biochimie**, v. 89, n. 9, p. 1107-1112, 2007.

BEEN, J.V. et al. Chorioamnionitis as a risk factor for necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. **The Journal of pediatrics**, v. 162, n. 2, p. 236-242. e2, 2013.

BEN-SHLOMO, Y. et al. Immediate postnatal growth is associated with blood pressure in young adulthood: the Barry Caerphilly Growth Study. **Hypertension**, v. 52, n. 4, p. 638-644, 2008.

BERTRAM, C. et al. The maternal diet during pregnancy programs altered expression of the glucocorticoid receptor and type 2 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase: potential molecular mechanisms underlying the programming of hypertension in utero. **Endocrinology**, v. 142, n. 7, p. 2841-2853, 2001.

BERTRAM, C.E.; HANSON, M.A. Animal models and programming of the metabolic syndrome: Type 2 diabetes. **British medical bulletin**, v. 60, n. 1, p. 103-121, 2001.

BEZERRA, K. et al. Moringa oleifera: A new perspective for the synthesis of natural products. **MOL2NET**, v. 2, p. 1-5, 2016.

BIRI, A. et al. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. **Gynecologic and obstetric investigation**, v. 64, n. 4, p. 187-192, 2007

BLOCK, G. et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. **American journal of epidemiology**, v. 156, n. 3, p. 274-285, 2002.

BORBA, L. R.; BORBA, L. Viabilidade do uso da Moringa oleifera Lam no tratamento simplificado de água para pequenas comunidades. 2001.

BOUBRED, F. et al. Developmental origins of chronic renal disease: an integrative hypothesis. **International journal of nephrology**, v. 2013, 2013.

BOUBRED, F. et al. Early postnatal overfeeding induces early chronic renal dysfunction in adult male rats. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 297, n. 4, p. F943-F951, 2009

BRANDES, R. P. et al. Thrombin-induced MCP-1 expression involves activation of the p22phox-containing NADPH oxidase in human vascular smooth muscle cells. **Thrombosis and haemostasis**, v. 85, n. 06, p. 1104-1110, 2001.

BRENNER, B.M.; GARCIA, D.L.; ANDERSON, S. Glomeruli and blood pressure: less of one, more the other?. **American journal of hypertension**, v. 1, n. 4_Pt_1, p. 335-347, 1988.

BRENNER, B.M.; LAWLER, E.V.; MACKENZIE, H.S. The hyperfiltration theory: a paradigm shift in nephrology. **Kidney international**, v. 49, n. 6, p. 1774-1777, 1996.

BROWN, D.I.; GRIENDLING, K.K. Nox proteins in signal transduction. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 47, n. 9, p. 1239-1253, 2009.

BRUCE, K.D. et al. Maternal high-fat feeding primes steatohepatitis in adult mice offspring, involving mitochondrial dysfunction and altered lipogenesis gene expression. **Hepatology**, v. 50, n. 6, p. 1796-1808, 2009.

BURTON, G.J. Oxygen, the Janus gas; its effects on human placental development and function. **Journal of anatomy**, v. 215, n. 1, p. 27-35, 2009.

CABASSI, A. et al. Effects of chronic N-acetylcysteine treatment on the actions of peroxynitrite on aortic vascular reactivity in hypertensive rats. **Journal of hypertension**, v. 19, n. 7, p. 1233-1244, 2001.

CAI, H.; GRIENDLING, K.K.; HARRISON, D.G. The vascular NAD (P) H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. **Trends in pharmacological sciences**, v. 24, n. 9, p. 471-478, 2003.

CAMBONIE, G. et al. Antenatal antioxidant prevents adult hypertension, vascular dysfunction, and microvascular rarefaction associated with in utero exposure to a low protein diet. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, n. 3, p. R1236-R1245, 2007.

CAMPBELL, D. M. et al. Diet in pregnancy and the offspring's blood pressure 40 years later. **BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology**, v. 103, n. 3, p. 273-280, 1996.

CARDOSO, K.C. et al. Otimização dos tempos de mistura e decantação no processo de coagulação/floculação da água bruta por meio da *Moringa oleifera* Lam. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 30, n. 2, p. 193-198, 2008.

CARPENTIER, P.A.; DINGMAN, A.L.; PALMER, T.D. Placental TNF- α signaling in illness-induced complications of pregnancy. **The American journal of pathology**, v. 178, n. 6, p. 2802-2810, 2011.

CASTAGNE, V. et al. An optimal redox status for the survival of axotomized ganglion cells in the developing retina. **Neuroscience**, v. 93, n. 1, p. 313-320, 1999.

CHALLIER, J. C. et al. Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. **Placenta**, v. 29, n. 3, p. 274-281, 2008.

CHATAIGNEAU, T. et al. Cannabinoid CB1 receptor and endothelium-dependent hyperpolarization in guinea-pig carotid, rat mesenteric and porcine coronary arteries. **British journal of pharmacology**, v. 123, n. 5, p. 968-974, 1998.

CHATAIGNEAU, T. et al. Epoxyeicosatrienoic acids, potassium channel blockers and endothelium-dependent hyperpolarization in the guinea-pig carotid artery. **British journal of pharmacology**, v. 123, n. 3, p. 574-580, 1998.

CHEN, X. et al. Prenatal exposure to lipopolysaccharide results in myocardial fibrosis in rat offspring. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 5, p. 10986-10996, 2015.

CHEN, Yun-Wen et al. Maternal diabetes programs hypertension and kidney injury in offspring. **Pediatric Nephrology**, v. 25, n. 7, p. 1319-1329, 2010.

CHIAVAROLI, V. et al. Insulin resistance and oxidative stress in children born small and large for gestational age. **Pediatrics**, v. 124, n. 2, p. 695-702, 2009.

CHUANG, Ping-Hsien et al. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. **Bioresource technology**, v. 98, n. 1, p. 232-236, 2007.

COELHO, J.S. et al. Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. **Chemosphere**, v. 77, n. 7, p. 934-938, 2009.

CORIOLOANO, M.C. et al. Immunomodulatory effects of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) on human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Protein and peptide letters**, v. 25, n. 3, p. 295-301, 2018.

CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B.; PAIVA, P. M. G. Lectins, carbohydrate recognition molecules: Are they toxic. **Recent trends in toxicology**, v. 37, p. 47-59, 2008.

COSTA, M.R. et al. Grape skin extract-derived polyphenols modify programming-induced renal endowment in prenatal protein-restricted male mouse offspring. **European journal of nutrition**, v. 55, n. 4, p. 1455-1464, 2016.

COSTA-LOTUFO, L.V. et al. Studies of the anticancer potential of plants used in Bangladeshi folk medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 1, p. 21-30, 2005.

CUNNINGHAM, S.; CAMERON, L. T. Consequences of fetal growth restriction during childhood and adult life. **Current Obstetrics & Gynaecology**, v. 13, n. 4, p. 212-217, 2003.

DA SILVA CORREIA, J. et al. Lipopolysaccharide is in close proximity to each of the proteins in its membrane receptor complex transfer from CD14 to TLR4 and MD-2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 24, p. 21129-21135, 2001.

DA SILVA, J.D.F. **Purificação e caracterização de uma lectina antimicrobiana da raiz de *portulaca elatior***. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

DAVIES, J.A. et al. Dissociation of embryonic kidney followed by re-aggregation as a method for chimeric analysis. In: **Kidney Development**. Humana Press, Totowa, NJ, 2012. p. 135-146.

DE ALBUQUERQUE, L.P. et al. Effect of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on survival and digestive enzymes of *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae). **International biodeterioration & biodegradation**, v. 75, p. 158-166, 2012.

DE BOER, M.P. et al. Birth weight relates to salt sensitivity of blood pressure in healthy adults. **Hypertension**, v. 51, n. 4, p. 928-932, 2008.

DE KEULENAER, G.W. et al. Oscillatory and steady laminar shear stress differentially affect human endothelial redox state: role of a superoxide-producing NADH oxidase. **Circulation research**, v. 82, n. 10, p. 1094-1101, 1998.

DE KEULENAER, G.W. et al. Tumour necrosis factor α activates a p22phox-based NADH oxidase in vascular smooth muscle. **Biochemical Journal**, v. 329, n. 3, p. 653-657, 1998.

DE MEDEIROS, M.L.S. et al. Nematicidal activity of a water soluble lectin from seeds of *Moringa oleifera*. **International journal of biological macromolecules**, v. 108, p. 782-789, 2018.

DE MOURA, K.S. et al. Coagulant activity of water-soluble *Moringa oleifera* lectin is linked to lowering of electrical resistance and inhibited by monosaccharides and magnesium ions. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 180, n. 7, p. 1361-1371, 2016.

DE OLIVEIRA, C.F.R. et al. Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 2, p. 498-504, 2011.

DE SANTANA SILVA, L.L. et al. Exposure of mosquito (*Aedes aegypti*) larvae to the water extract and lectin-rich fraction of *Moringa oleifera* seeds impairs their development and future fecundity. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 183, p. 109583, 2019

DENG, Y. et al. Prenatal inflammation-induced NF- κ B dyshomeostasis contributes to renin-angiotensin system over-activity resulting in prenatally programmed hypertension in offspring. **Scientific reports**, v. 6, p. 21692, 2016.

DENNERY, P.A. Oxidative stress in development: nature or nurture?. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 7, p. 1147-1151, 2010.

DERKS, J.B. et al. Allopurinol reduces oxidative stress in the ovine fetal cardiovascular system after repeated episodes of ischemia-reperfusion. **Pediatric research**, v. 68, n. 5, p. 374-380, 2010.

DILLARD, C.J.; GERMAN, J.B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 12, p. 1744-1756, 2000.

DODIC, M. et al. An early prenatal exposure to excess glucocorticoid leads to hypertensive offspring in sheep. **Clinical Science**, v. 94, n. 2, p. 149-155, 1998.

DONG, Y.; THOMPSON, L.P. Differential expression of endothelial nitric oxide synthase in coronary and cardiac tissue in hypoxic fetal guinea pig hearts. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v. 13, n. 7, p. 483-490, 2006.

DRESSLER, G.R.; PATEL, S.R. Epigenetics in kidney development and renal disease. **Translational Research**, v. 165, n. 1, p. 166-176, 2015.

DUBEY, D.K. et al. A multipurpose tree—*Moringa oleifera*. **International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences**, v. 2, n. 1, p. 415-423, 2013.

EDVARDSSON, V.O. et al. Birth weight and childhood blood pressure. **Current hypertension reports**, v. 14, n. 6, p. 596-602, 2012.

ELAHI, M.M. et al. Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. **British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 4, p. 514-519, 2009.

EVANS, L. C. et al. Chronic hypoxia increases peroxynitrite, MMP9 expression, and collagen accumulation in fetal guinea pig hearts. **Pediatric research**, v. 71, n. 1, p. 25-31, 2012.

EVANS, R.G.; FITZGERALD, S.M. Nitric oxide and superoxide in the renal medulla: a delicate balancing act. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 14, n. 1, p. 9-15, 2005.

EVANS, R.G.; MAJID, D.S.A; EPPEL, G.A. Mechanisms mediating pressure natriuresis: what we know and what we need to find out. **Clinical and experimental pharmacology and physiology**, v. 32, n. 5-6, p. 400-409, 2005.

FARACI, F.M.; ORGREN, K.; HEISTAD, D.D. Impaired relaxation of the carotid artery during activation of ATP-sensitive potassium channels in atherosclerotic monkeys. **Stroke**, v. 25, n. 1, p. 178-182, 1994.

FARLEY, D. et al. Feto-placental adaptations to maternal obesity in the baboon. **Placenta**, v. 30, n. 9, p. 752-760, 2009.

FEJÉR, J. et al. First report on evaluation of basic nutritional and antioxidant properties of *Moringa oleifera* Lam. from Caribbean Island of Saint Lucia. **Plants**, v. 8, n. 12, p. 537, 2019.

FENG, Di et al. Increased expression of NAD (P) H oxidase subunit p67phox in the renal medulla contributes to excess oxidative stress and salt-sensitive hypertension. **Cell metabolism**, v. 15, n. 2, p. 201-208, 2012.

FERREIRA, R. et al. Coagulant and antibacterial activities of the water-soluble seed lectin from *Moringa oleifera*. **Letters in applied microbiology**, v. 53, n. 2, p. 186-192, 2011.

FINKEL, T. Oxygen radicals and signaling. **Current opinion in cell biology**, v. 10, n. 2, p. 248-253, 1998.

FOLKARD, G.K.; SUTHERLAND, J.P.; GRANT, W.D. Natural coagulants at pilot scale. 1992.

FOWDEN, A.L. et al. Programming placental nutrient transport capacity. **The Journal of physiology**, v. 572, n. 1, p. 5-15, 2006.

FOWDEN, A.L.; GIUSSANI, D.A.; FORHEAD, A.J. Endocrine and metabolic programming during intrauterine development. **Early human development**, v. 81, n. 9, p. 723-734, 2005.

FOWDEN, A.L.; GIUSSANI, D.A.; FORHEAD, A.J. Intrauterine programming of physiological systems: causes and consequences. **Physiology**, v. 21, n. 1, p. 29-37, 2006.

FOWDEN, A.L.; LI, J.; FORHEAD, A.J. Glucocorticoids and the preparation for life after birth: are there long-term consequences of the life insurance?. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 57, n. 1, p. 113-122, 1998.

FRANCO, M.C.P et al. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant status in children born small for gestational age: evidence of lipid peroxidation. **Pediatric research**, v. 62, n. 2, p. 204-208, 2007.

FRANCO, M.C.P; NISHIDA, S.K.; SESSO, R. GFR estimated from cystatin C versus creatinine in children born small for gestational age. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 51, n. 6, p. 925-932, 2008.

FRANCO-FRAGUAS, L. et al. Preparative purification of soybean agglutinin by affinity chromatography and its immobilization for polysaccharide isolation. **Journal of chromatography B**, v. 790, n. 1-2, p. 365-372, 2003.

FREIRE, J.E.C et al. Mo-CBP3, an antifungal chitin-binding protein from *Moringa oleifera* seeds, is a member of the 2S albumin family. **PLoS One**, v. 10, n. 3, 2015.

FREITAS, J.H.E.S. et al. Evaluation of using aluminum sulfate and water-soluble *Moringa oleifera* seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water. **Chemosphere**, v. 163, p. 133-141, 2016.

FRIEDMAN, A.M.; CLEARY, K.L. Prediction and prevention of ischemic placental disease. In: **Seminars in perinatology**. WB Saunders, 2014. p. 177-182.

GACCIOLI, F. et al. Placental transport in response to altered maternal nutrition. **Journal of developmental origins of health and disease**, v. 4, n. 2, p. 101-115, 2013.

GANTERT, M. et al. Chorioamnionitis: a multiorgan disease of the fetus?. **Journal of Perinatology**, v. 30, n. 1, p. S21-S30, 2010.

GARGANO, J.W. et al. Mid-pregnancy circulating cytokine levels, histologic chorioamnionitis and spontaneous preterm birth. **Journal of reproductive immunology**, v. 79, n. 1, p. 100-110, 2008.

GEISZT, M. et al. Identification of renox, an NAD (P) H oxidase in kidney. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 14, p. 8010-8014, 2000.

GERDES, C. Como limpar e tratar água suja com sementes de. **Moringa oleifera**, 1997.

GHEORGHE, C.P. et al. Gene expression in the placenta: maternal stress and epigenetic responses. **The International journal of developmental biology**, v. 54, n. 2-3, p. 507, 2010.

GILBERT, T.; MERLET-BÉNICHOU, C. Retinoids and nephron mass control. **Pediatric Nephrology**, v. 14, n. 12, p. 1137-1144, 2000.

GILL, P.S.W.C.S. NADPH oxidases in the kidney. **Antioxid. Redox Signal**, v. 8, p. 1597-1607, 2006.

GIOANNINI, T. L. et al. Monomeric endotoxin: protein complexes are essential for TLR4-dependent cell activation. **Journal of endotoxin research**, v. 11, n. 2, p. 117-123, 2005.

GIOANNINI, T.L. et al. An essential role for albumin in the interaction of endotoxin with lipopolysaccharide-binding protein and sCD14 and resultant cell activation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 49, p. 47818-47825, 2002.

GIUGLIANO, D.; CERIELLO, A.; PAOLISSO, G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. **Diabetes care**, v. 19, n. 3, p. 257-267, 1996.

GIUSSANI, D.A. et al. Developmental programming of cardiovascular dysfunction by prenatal hypoxia and oxidative stress. **PloS one**, v. 7, n. 2, 2012.

GLUCKMAN, P.D. **The fetal matrix: evolution, development and disease**. Cambridge University Press, 2004.

GOLDENBERG, R.L. et al. Epidemiology and causes of preterm birth. **The lancet**, v. 371, n. 9606, p. 75-84, 2008.

GOLDENBERG, R.L.; HAUTH, J.C.; ANDREWS, W.W. Intrauterine infection and preterm delivery. **New England journal of medicine**, v. 342, n. 20, p. 1500-1507, 2000.

GORIN, Y. et al. Targeting NADPH oxidase with a novel dual Nox1/Nox4 inhibitor attenuates renal pathology in type 1 diabetes. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 308, n. 11, p. F1276-F1287, 2015.

GORLACH, A. et al. A gp91phox containing NADPH oxidase selectively expressed in endothelial cells is a major source of oxygen radical generation in the arterial wall. **Circulation research**, v. 87, n. 1, p. 26-32, 2000.

GOYERT, S.M. et al. The CD14 monocyte differentiation antigen maps to a region encoding growth factors and receptors. **Science**, v. 239, n. 4839, p. 497-500, 1988.

GRIENDLING, K.K. et al. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. **Circulation research**, v. 74, n. 6, p. 1141-1148, 1994.

GRIENDLING, K.K.; FITZGERALD, G.A. Oxidative stress and cardiovascular injury: Part I: basic mechanisms and in vivo monitoring of ROS. **Circulation**, v. 108, n. 16, p. 1912-1916, 2003.

GRIENDLING, K.K.; SORESCU, D.; USHIO-FUKAI, M. NAD (P) H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. **Circulation research**, v. 86, n. 5, p. 494-501, 2000.

GUEVARA, A.P. et al. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 440, n. 2, p. 181-188, 1999.

GUPTA, S. et al. Nutritional and medicinal applications of *Moringa oleifera* Lam.—Review of current status and future possibilities. **Journal of Herbal Medicine**, v. 11, p. 1-11, 2018.

GURON, G.; FRIBERG, P. An intact renin–angiotensin system is a prerequisite for normal renal development. **Journal of hypertension**, v. 18, n. 2, p. 123-137, 2000.

GUZIK, T.J.; TOUYZ, R.M. Oxidative stress, inflammation, and vascular aging in hypertension. **Hypertension**, v. 70, n. 4, p. 660-667, 2017.

HALLAN, S. et al. Effect of intrauterine growth restriction on kidney function at young adult age: the Nord Trøndelag Health (HUNT 2) Study. **American journal of kidney diseases**, v. 51, n. 1, p. 10-20, 2008.

HAN, C.H. et al. A novel homodimeric lactose-binding lectin from the edible split gill medicinal mushroom *Schizophyllum commune*. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 336, n. 1, p. 252-257, 2005.

HAN, J. et al. Long-term effect of maternal obesity on pancreatic beta cells of offspring: reduced beta cell adaptation to high glucose and high-fat diet challenges in adult female mouse offspring. **Diabetologia**, v. 48, n. 9, p. 1810-1818, 2005.

HAO, Xue-Qin et al. Prenatal exposure to lipopolysaccharide alters the intrarenal renin–angiotensin system and renal damage in offspring rats. **Hypertension Research**, v. 33, n. 1, p. 76-82, 2010.

HARDING, J. E.; JOHNSTON, B. M. Nutrition and fetal growth. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 7, n. 3, p. 539-547, 1995.

HAUGUEL-DE MOUZON, S.; GUERRE-MILLO, M. The placenta cytokine network and inflammatory signals. **Placenta**, v. 27, n. 8, p. 794-798, 2006.

HE, Q.; LAPOINTE, M.C. Src and Rac mediate endothelin-1 and lysophosphatidic acid stimulation of the human brain natriuretic peptide promoter. **Hypertension**, v. 37, n. 2, p. 478-484, 2001.

HEAGERTY, A.M.; HEERKENS, E.H.; IZZARD, A.S. Small artery structure and function in hypertension. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 14, n. 5, p. 1037-1043, 2010.

HELMO, F.R. et al. Intrauterine infection, immune system and premature birth. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 31, n. 9, p. 1227-1233, 2018.

HITCHLER, M.J.; DOMANN, F.E. An epigenetic perspective on the free radical theory of development. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 43, n. 7, p. 1023-1036, 2007.

HODYL, N. A. et al. Innate immune dysfunction in the neonatal rat following prenatal endotoxin exposure. **Journal of neuroimmunology**, v. 204, n. 1-2, p. 126-130, 2008.

HOFER, N. et al. The fetal inflammatory response syndrome is a risk factor for morbidity in preterm neonates. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 209, n. 6, p. 542. e1-542. e11, 2013.

HOLDSWORTH-CARSON, S. J. et al. Peroxisome proliferator-activated receptors are altered in pathologies of the human placenta: gestational diabetes mellitus, intrauterine growth restriction and preeclampsia. **Placenta**, v. 31, n. 3, p. 222-229, 2010.

HOMMA, J. Y. et al. Structural requirements of lipid A responsible for the functions: a study with chemically synthesized lipid A and its analogues. **The Journal of Biochemistry**, v. 98, n. 2, p. 395-406, 1985.

HOWSON, C. P.; KINNEY, M. V.; LAWN, J. E. March of Dimes, PMNCH, Save the children,

HRACSKO, Z. et al. Evaluation of oxidative stress markers in neonates with intra-uterine growth retardation. **Redox report**, v. 13, n. 1, p. 11-16, 2008.

HROLFSDOTTIR, L. et al. Maternal macronutrient intake and offspring blood pressure 20 years later. **Journal of the American Heart Association**, v. 6, n. 4, p. e005808, 2017.

HUGHSON, M. et al. Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. **Kidney international**, v. 63, n. 6, p. 2113-2122, 2003.

HUSEBYE, H. et al. Endocytic pathways regulate Toll-like receptor 4 signaling and link innate and adaptive immunity. **The EMBO journal**, v. 25, n. 4, p. 683-692, 2006.

HUXLEY, R.R. et al. The role of size at birth and postnatal catch-up growth in determining systolic blood pressure: a systematic review of the literature. **Journal of hypertension**, v. 18, n. 7, p. 815-831, 2000.

IMAI, A.; FUJIMOTO, E.; SATO, K. The Influence of LPS-Induced Maternal Inflammation on Postnatal Collagen-Induced Arthritis. **Inflammation**, v. 41, n. 5, p. 1842-1851, 2018.

INGVORSEN, C. et al. The effect of maternal inflammation on foetal programming of metabolic disease. **Acta physiologica**, v. 214, n. 4, p. 440-449, 2015.

ITO, M. et al. A role for IL-17 in induction of an inflammation at the fetomaternal interface in preterm labour. **Journal of reproductive immunology**, v. 84, n. 1, p. 75-85, 2010.

ITO, Y. Occurrence of lectins in leaves and flowers of *Sophora japonica*. **Plant science**, v. 47, n. 2, p. 77-82, 1986.

JANSSON, T. et al. Alterations in the activity of placental amino acid transporters in pregnancies complicated by diabetes. **Diabetes**, v. 51, n. 7, p. 2214-2219, 2002.

JEYAPRAKASH, A.A. et al. Structural basis for the energetics of jacalin–sugar interactions: promiscuity versus specificity. **Journal of molecular biology**, v. 347, n. 1, p. 181-188, 2005.

JOHN, F.C.; TABBASUM, K.; RAO, C.P. Chemico-biological aspects of plant lectins with a preference to legume lectins. In: **Studies in Natural Products Chemistry**. Elsevier, 2013. p. 359-381.

JONES, S. E. et al. Intra-uterine environment influences glomerular number and the acute renal adaptation to experimental diabetes. **Diabetologia**, v. 44, n. 6, p. 721-728, 2001.

JONES, S.A. et al. Expression of phagocyte NADPH oxidase components in human endothelial cells. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 271, n. 4, p. H1626-H1634, 1996.

JUNG, K.H. et al. Human bone marrow–derived clonal mesenchymal stem cells inhibit inflammation and reduce acute pancreatitis in rats. **Gastroenterology**, v. 140, n. 3, p. 998-1008. e4, 2011.

KAGAN, J.C. et al. TRAM couples endocytosis of Toll-like receptor 4 to the induction of interferon- β . **Nature immunology**, v. 9, n. 4, p. 361-368, 2008.

KALININA, N. et al. Cytochrome b 558–Dependent NAD (P) H Oxidase–Phox Units in Smooth Muscle and Macrophages of Atherosclerotic Lesions. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 22, n. 12, p. 2037-2043, 2002.

KAR, A.; CHOUDHARY, B. K.; BANDYOPADHYAY, N. G. Comparative evaluation of hypoglycaemic activity of some Indian medicinal plants in alloxan diabetic rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 84, n. 1, p. 105-108, 2003.

KARADI, R. V. et al. Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 105, n. 1-2, p. 306-311, 2006.

KARNCHANATAT, A. Antimicrobial activity of lectins from plants. **Antimicrobial agents. InTech**, p. 145-178, 2012.

KAROWICZ-BILIŃSKA, A. et al. Analysis of 8-isoprostane concentration as a marker of oxidative stress in pregnant women diagnosed with IUGR. **Ginekologia polska**, v. 74, n. 10, p. 1137-1142, 2003.

KAROWICZ-BILINSKA, A.; KĘDZIORA-KORNATOWSKA, K.; BARTOSZ, G.. Indices of oxidative stress in pregnancy with fetal growth restriction. **Free radical research**, v. 41, n. 8, p. 870-873, 2007.

KASOLO, J. N. et al. Phytochemicals and acute toxicity of *Moringa oleifera* roots in mice. 2011.

KATRE, U.V. et al. Structure–activity relationship of a hemagglutinin from *Moringa oleifera* seeds. **International journal of biological macromolecules**, v. 42, n. 2, p. 203-207, 2008.

KAWAI, T.; AKIRA, S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. **Immunity**, v. 34, n. 5, p. 637-650, 2011.

KAWARAZAKI, H. et al. Mineralocorticoid receptor–Rac1 activation and oxidative stress play major roles in salt-induced hypertension and kidney injury in prepubertal rats. **Journal of hypertension**, v. 30, n. 10, p. 1977-1985, 2012.

KAWO, A. et al. Preliminary phytochemical screening, proximate and elemental composition of Moringa oleifera lam seed powder. **Bayero Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 2, n. 1, p. 96-100, 2009.

KHOR, K. Z. et al. The in vitro and in vivo anticancer properties of Moringa oleifera. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

KIM, C.J. et al. Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 213, n. 4, p. S29-S52, 2015.

KIRWAN, J.P. et al. TNF- α is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. **Diabetes**, v. 51, n. 7, p. 2207-2213, 2002.

KLAG, M. J.; WHELTON, P. K.; RANDALL, B.L. et al. **Blood pressure and end-stage renal disease in men. New England Journal of Medicine**, v. 334, p. 13-18, 1996.

KONJE, J.C. et al. Human fetal kidney morphometry during gestation and the relationship between weight, kidney morphometry and plasma active renin concentration at birth. **Clinical science**, v. 91, n. 2, p. 169-175, 1996

KREBS, C. et al. Intrauterine growth restriction with absent end-diastolic flow velocity in the umbilical artery is associated with maldevelopment of the placental terminal villous tree. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 175, n. 6, p. 1534-1542, 1996.

KUMBHARE, M. R.; GULEHA, V.; SIVAKUMAR, T. Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of Moringa oleifera. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, n. 2, p. 144-150, 2012.

LACKLAND, D.T. et al. Low birth weights contribute to the high rates of early-onset chronic renal failure in the southeastern United States. **Archives of internal medicine**, v. 160, n. 10, p. 1472-1476, 2000.

LAM, S.K.; NG, T.B. Lectins: production and practical applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 89, n. 1, p. 45-55, 2011

LAMBETH, J.D. NOX enzymes and the biology of reactive oxygen. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 3, p. 181-189, 2004.

LAMPING, K.G.; FARACI, F.M. Role of sex differences and effects of endothelial NO synthase deficiency in responses of carotid arteries to serotonin. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 21, n. 4, p. 523-528, 2001.

LANGLEY, S.C.; JACKSON, A.A. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. **Clinical science**, v. 86, n. 2, p. 217-222, 1994.

LANGLEY-EVANS, S.C. et al. Weanling rats exposed to maternal low-protein diets during discrete periods of gestation exhibit differing severity of hypertension. **Clinical Science**, v. 91, n. 5, p. 607-615, 1996.

LANGLEY-EVANS, S.C.; WELHAM, S.J.M; JACKSON, A.A. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. **Life sciences**, v. 64, n. 11, p. 965-974, 1999.

LAPCHAROENSAP, W. et al. Hospital variation and risk factors for bronchopulmonary dysplasia in a population-based cohort. **JAMA pediatrics**, v. 169, n. 2, p. e143676-e143676, 2015.

LASSÈGUE, B.; CLEMPUS, R.E. Vascular NAD (P) H oxidases: specific features, expression, and regulation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 285, n. 2, p. R277-R297, 2003.

LASSÈGUE, B.; CLEMPUS, R.E. Vascular NAD (P) H oxidases: specific features, expression, and regulation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative**

LASSÈGUE, B. et al. Novel gp91 phox homologues in vascular smooth muscle cells: nox1 mediates angiotensin II-induced superoxide formation and redox-sensitive signaling pathways. **Circulation research**, v. 88, n. 9, p. 888-894, 2001.

LEDUC, L. et al. Fetal programming of atherosclerosis: possible role of the mitochondria. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 149, n. 2, p. 127-130, 2010. LEE, A.C.C; BLENCOWE, H.; LAWN, J.E. Small babies, big numbers: global estimates of preterm birth. **The Lancet Global Health**, v. 7, n. 1, p. e2-e3, 2019.

LEVY, O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. **Nature Reviews Immunology**, v. 7, n. 5, p. 379-390, 2007.

LI, G. et al. Effect of fetal hypoxia on heart susceptibility to ischemia and reperfusion injury in the adult rat. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v. 10, n. 5, p. 265-274, 2003.

LI, J. et al. Ouabain protects against adverse developmental programming of the kidney. **Nature communications**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2010.

LIN, Su-Chang; LO, Yu-Chih; WU, H. Helical assembly in the MyD88–IRAK4–IRAK2 complex in TLR/IL-1R signalling. **Nature**, v. 465, n. 7300, p. 885-890, 2010.

LIU, Q.; WANG, H.; NG, T.B. First report of a xylose-specific lectin with potent hemagglutinating, antiproliferative and anti-mitogenic activities from a wild ascomycete mushroom. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1760, n. 12, p. 1914-1919, 2006.

LÓPEZ-BERMEJO, A. et al. Prenatal programming of renal function: the estimated glomerular filtration rate is influenced by size at birth in apparently healthy children. **Pediatric research**, v. 64, n. 1, p. 97-99, 2008. LOPEZ, A.D. et al. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. **The lancet**, v. 367, n. 9524, p. 1747-1757, 2006.

LU, L.; CLAUD, E.C. Intrauterine inflammation, epigenetics, and microbiome influences on preterm infant health. **Current pathobiology reports**, v. 6, n. 1, p. 15-21, 2018.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. **The childhood environment and adult disease**, v. 1991, p. 38-55, 1991.

LUCIANO, A.A. et al. Alterations in regulatory T cell subpopulations seen in preterm infants. **PloS one**, v. 9, n. 5, 2014.

LUYCKX, V.A. et al. A developmental approach to the prevention of hypertension and kidney disease: a report from the Low Birth Weight and Nephron Number Working Group. **The Lancet**, v. 390, n. 10092, p. 424-428, 2017.

LUYCKX, V.A. Preterm birth and its impact on renal health. In: **Seminars in nephrology**. WB Saunders, v. 37, n. 4, p. 311-319, 2017.

LUYCKX, V.A. Preterm birth and its impact on renal health. In: **Seminars in nephrology**. WB Saunders, v. 37, n. 4, p. 311-319, 2017.

LUYCKX, V.A.; BRENNER, B.M. Birth weight, malnutrition and kidney-associated outcomes—a global concern. **Nature Reviews Nephrology**, v. 11, n. 3, p. 135, 2015.

LUYCKX, V.A.; BRENNER, B.M. Low birth weight, nephron number, and kidney disease. **Kidney International**, v. 68, p. S68-S77, 2005.

LUZARDO, R. et al. Metabolic programming during lactation stimulates renal Na⁺ transport in the adult offspring due to an early impact on local angiotensin II pathways. **PLoS One**, v. 6, n. 7, 2011.

LYLE, A.N. et al. Poldip2, a novel regulator of Nox4 and cytoskeletal integrity in vascular smooth muscle cells. **Circulation research**, v. 105, n. 3, p. 249-259, 2009.

MA, Z. F. et al. Evaluation of phytochemical and medicinal properties of Moringa (Moringa oleifera) as a potential functional food. **South African Journal of Botany**, 2019.

MACKENZIE, H.S.; LAWLER, E.V.; BRENNER, B.M. Congenital oligonephropathy: The fetal flaw in essential hypertension?. **Kidney International Supplement**, n. 55, 1996.

MAÑALICH, R. et al. Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study. **Kidney international**, v. 58, n. 2, p. 770-773, 2000.

MANNING, J.; VEHASKARI, V.M. Postnatal modulation of prenatally programmed hypertension by dietary Na and ACE inhibition. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 1, p. R80-R84, 2005.

MARTYN, K.D. et al. Functional analysis of Nox4 reveals unique characteristics compared to other NADPH oxidases. **Cellular signalling**, v. 18, n. 1, p. 69-82, 2006.

MAYNE, S.T. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 3, p. 933S-940S, 2003.

MCCURDY, C.E. et al. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. **The Journal of clinical investigation**, v. 119, n. 2, p. 323-335, 2009.

MCMILLEN, I.C.; ROBINSON, J.S. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. **Physiological reviews**, v. 85, n. 2, p. 571-633, 2005.

MILLER J.R; Francis J. NADPH oxidase 4: walking the walk with Poldip2. 2009.

MOENS, A.L.; KASS, D.A. Tetrahydrobiopterin and cardiovascular disease. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 26, n. 11, p. 2439-2444, 2006.

MOFIJUR, M. et al. Comparative evaluation of performance and emission characteristics of Moringa oleifera and Palm oil based biodiesel in a diesel engine. **Industrial crops and products**, v. 53, p. 78-84, 2014.

MOHN, A. et al. Increased oxidative stress in prepubertal children born small for gestational age. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 4, p. 1372-1378, 2007.

MOR, G. et al. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1221, n. 1, p. 80, 2011.

MORI, T.; COWLEY JR, A.W.; ITO, S. Molecular mechanisms and therapeutic strategies of chronic renal injury: physiological role of angiotensin II-induced oxidative stress in renal medulla. **Journal of pharmacological sciences**, p. 0601100006-0601100006, 2006.

MORITZ, K.M.; DODIC, M.; WINTOUR, E.M. Kidney development and the fetal programming of adult disease. **Bioessays**, v. 25, n. 3, p. 212-220, 2003.

MOTSHWENE, P. G. et al. An oligomeric signaling platform formed by the Toll-like receptor signal transducers MyD88 and IRAK-4. **Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 37, p. 25404-25411, 2009.

MOURA, M. C. et al. Preparations of Moringa oleifera flowers to treat contaminated water. **Advances in environmental research**, v. 21, p. 269-285, 2011

MOURALIDARANE, A. et al. Maternal obesity programs offspring nonalcoholic fatty liver disease by innate immune dysfunction in mice. **Hepatology**, v. 58, n. 1, p. 128-138, 2013.

MOYO, B. et al. Nutritional characterization of Moringa (Moringa oleifera Lam.) leaves. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 60, p. 12925-12933, 2011.

MUANGNOI, C. et al. Moringa oleifera pod inhibits inflammatory mediator production by lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 murine macrophage cell lines. **Inflammation**, v. 35, n. 2, p. 445-455, 2012.

MULVANY, M.J. Small artery remodeling and significance in the development of hypertension. **Physiology**, 2018.

MYATT, L. Placental adaptive responses and fetal programming. **The Journal of physiology**, v. 572, n. 1, p. 25-30, 2006.

NAPOLÊÃO, T.H. et al. Termiticidal activity of lectins from Myracrodruon urundeuva against Nasutitermes corniger and its mechanisms. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, n. 1, p. 52-59, 2011.

NASIR, E.; ALI, S. I.; STEWART, R.R. **Flora of West Pakistan: an annotated catalogue of the vascular plants of West Pakistan and Kashmir**. Fakhri, 1972.

NAUSEEF, W.M. Detection of superoxide anion and hydrogen peroxide production by cellular NADPH oxidases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1840, n. 2, p. 757-767, 2014.

NDUBUAKU, U.M. et al. Anti-nutrient, vitamin and other phytochemical compositions of old and succulent moringa (Moringa oleifera Lam) leaves as influenced by poultry manure application. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 32, p. 2502-2509, 2015.

NISIMOTO, Y. et al. Nox4: a hydrogen peroxide-generating oxygen sensor. **Biochemistry**, v. 53, n. 31, p. 5111-5120, 2014.

NITTA, K. et al. Rhamnose-binding lectin from catfish eggs comes to rest cell proliferation in Gb3-expressing Burkitt's lymphoma cells through down-regulation of c-myc. **Chemistry and Physics of Lipids**, n. 149, p. S35, 2007.

NIU, Xi-Lin et al. Nox Activator. 2010.

NÜSKEN, E. et al. Developmental programming of renal function and re-programming approaches. **Frontiers in pediatrics**, v. 6, p. 36, 2018.

OBEN, J. A. et al. Maternal obesity during pregnancy and lactation programs the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. **Journal of hepatology**, v. 52, n. 6, p. 913-920, 2010.

OH, C. et al. Intrauterine hypoxia upregulates proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in fetal guinea pig hearts. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 199, n. 1, p. 78. e1-78. e6, 2008.

OHASHI, M.; FARACI, F.; HEISTAD, D. Peroxynitrite hyperpolarizes smooth muscle and relaxes internal carotid artery in rabbit via ATP-sensitive K⁺ channels. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 289, n. 5, p. H2244-H2250, 2005.

OJEDA, N.B. et al. Early renal denervation prevents development of hypertension in growth-restricted offspring. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 11, p. 1212-1216, 2007.

OKWARI, O. O. et al. Effect of aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* on some renal function indices of rats. **International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)**, v. 6, n. 4, p. 777-782, 2015.

O'NEILL, L.A.J; BRYANT, C.E.; DOYLE, S.L. Therapeutic targeting of Toll-like receptors for infectious and inflammatory diseases and cancer. **Pharmacological reviews**, v. 61, n. 2, p. 177-197, 2009.

ORIENT, A. et al. Novel sources of reactive oxygen species in the human body. 2007.

ÖSTREICHER, I. et al. Changes in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in a low-protein rat model of intrauterine growth restriction. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 25, n. 10, p. 3195-3203, 2010.

OZ, D. Moringa news, articles and information: Moringa: A miracle tree being promoted as a solution to third world malnutrition. 2014.

PAGANO, P.J. et al. Angiotensin II induces p67phox mRNA expression and NADPH oxidase superoxide generation in rabbit aortic adventitial fibroblasts. **Hypertension**, v. 32, n. 2, p. 331-337, 1998.

PARAVICINI, T.M. et al. Increased NADPH oxidase activity, gp91phox expression, and endothelium-dependent vasorelaxation during neointima formation in rabbits. **Circulation research**, v. 91, n. 1, p. 54-61, 2002.

PATTERSON, C. et al. Stimulation of a vascular smooth muscle cell NAD (P) H oxidase by thrombin evidence that p47 phox may participate in forming this oxidase in vitro and in vivo. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 28, p. 19814-19822, 1999.

PEREIRA, A.C.; MARTEL, F. Oxidative stress in pregnancy and fertility pathologies. **Cell biology and toxicology**, v. 30, n. 5, p. 301-312, 2014.

PEREZ, M. et al. Oxygen radical disease in the newborn, revisited: oxidative stress and disease in the newborn period. **Free Radical Biology and Medicine**, 2019.

PERNG, W. et al. A prospective study of maternal prenatal weight and offspring cardiometabolic health in midchildhood. **Annals of epidemiology**, v. 24, n. 11, p. 793-800. e1, 2014.

PEUCHANT, E. et al. Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. **Clinical biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 293-298, 2004.

PEUMANS, W.J. et al. Classification of plant lectins in families of structurally and evolutionary related proteins. In: **The Molecular Immunology of Complex Carbohydrates—2**. Springer, Boston, MA, 2001. p. 27-54.

PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J. Lectins as plant defense proteins. **Plant physiology**, v. 109, n. 2, p. 347, 1995.

PIRES, A.F. et al. A novel N-acetyl-glucosamine lectin of *Lonchocarpus araripensis* attenuates acute cellular inflammation in mice. **Inflammation Research**, v. 65, n. 1, p. 43-52, 2016.

PLANE, F. et al. Evidence that different mechanisms underlie smooth muscle relaxation to nitric oxide and nitric oxide donors in the rabbit isolated carotid artery. **British journal of pharmacology**, v. 123, n. 7, p. 1351-1358, 1998.

PLÓCIENNIKOWSKA, A. et al. Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling. **Cellular and molecular life sciences**, v. 72, n. 3, p. 557-581, 2015.

PONTUAL, E.V. et al. EFFECT OF *Moringa oleifera* FLOWER EXTRACT ON LARVAL TRYPSIN AND ACETHYLCHOLINESTERASE ACTIVITIES IN *Aedes aegypti*. **Archives of insect biochemistry and physiology**, v. 79, n. 3, p. 135-152, 2012.

PONTUAL, E.V. et al. Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut. **Parasitology research**, v. 113, n. 2, p. 727-733, 2014.

POPOOLA, J.O.; OBEMBE, O.O. Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae) in Nigeria. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 2, p. 682-691, 2013.

QUIGLEY, R. Developmental changes in renal function. **Current opinion in pediatrics**, v. 24, n. 2, p. 184-190, 2012.

RÁDIS-BAPTISTA, G. et al. Crotacetin, a novel snake venom C-type lectin homolog of convulxin, exhibits an unpredictable antimicrobial activity. **Cell biochemistry and biophysics**, v. 44, n. 3, p. 412-423, 2006.

RANDRIAMBOAVONJY, J. I. et al. Cardiac protective effects of Moringa oleifera seeds in spontaneous hypertensive rats. **American journal of hypertension**, v. 29, n. 7, p. 873-881, 2016.

REXHAJ, E. et al. Fetal programming of pulmonary vascular dysfunction in mice: role of epigenetic mechanisms. **American journal of physiology-heart and circulatory physiology**, v. 301, n. 1, p. H247-H252, 2011.

REY, F.E.; PAGANO, P.J. The reactive adventitia: fibroblast oxidase in vascular function. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 22, n. 12, p. 1962-1971, 2002.

RIOS, C.; GOMES, I.; DEVI, L.A. μ opioid and CB1 cannabinoid receptor interactions: reciprocal inhibition of receptor signaling and neuritogenesis. **British journal of pharmacology**, v. 148, n. 4, p. 387-395, 2006.

ROBBINS, J.R.; BAKARDJIEV, A.I. Pathogens and the placental fortress. **Current opinion in microbiology**, v. 15, n. 1, p. 36-43, 2012.

ROBERTS, J. M.; LAIN, K. Y. Recent insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. **Placenta**, v. 23, n. 5, p. 359-372, 2002.

ROBERTS, J.M. Pathophysiology of ischemic placental disease. In: **Seminars in perinatology**. WB Saunders, v. 38, n. 3, p. 139-145, 2014.

ROCHA-FILHO, C.A.A et al. Assessment of toxicity of Moringa oleifera flower extract to Biomphalaria glabrata, Schistosoma mansoni and Artemia salina. **Chemosphere**, v. 132, p. 188-192, 2015.

RODRIGUEZ, M.M.; Gomez; AH, Abitbol, C.L, Chandar, J.J, Duara S.; Zilleruelo G.E. Histomorphometric analysis of postnatal glomerulogenesis in extremely preterm infants. **Pediatr Dev Pathol**, v. 7, n. 1, p. 17-25, 2004.

ROGHAIR, R.D. et al. Maternal antioxidant blocks programmed cardiovascular and behavioural stress responses in adult mice. **Clinical science**, v. 121, n. 10, p. 427-436, 2011.

ROLIM, L.A.D.M.M et al. Genotoxicity evaluation of Moringa oleifera seed extract and lectin. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. T53-T58, 2011.

ROMERO, R. et al. Inflammation in preterm and term labour and delivery. In: **Seminars in Fetal and Neonatal Medicine**. WB Saunders, v. 11, n. 5, p. 317-326, 2006.

ROZANSKY, D.J. The role of aldosterone in renal sodium transport. In: **Seminars in nephrology**. WB Saunders, v. 26, n. 2, p. 173-181, 2006.

RUGGAJO, P. et al. Familial factors, low birth weight, and development of ESRD: a nationwide registry study. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 67, n. 4, p. 601-608, 2016.

SABHARWAL, S.S.; SCHUMACKER, P.T. Mitochondrial ROS in cancer: initiators, amplifiers or an Achilles' heel?. **Nature Reviews Cancer**, v. 14, n. 11, p. 709-721, 2014.

SAHAJPAL, V.; ASHTON, N. Renal function and angiotensin AT1 receptor expression in young rats following intrauterine exposure to a maternal low-protein diet. **Clinical Science**, v. 104, n. 6, p. 607-614, 2003.

SALMINEN, A. et al. Maternal endotoxin-induced preterm birth in mice: fetal responses in toll-like receptors, collectins, and cytokines. **Pediatric research**, v. 63, n. 3, p. 280-286, 2008.

SAMPOGNA, R.V.; SCHNEIDER, L.; AL-AWQATI, Q. Developmental programming of branching morphogenesis in the kidney. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 26, n. 10, p. 2414-2422, 2015.

SAMUELSSON, Anne-Maj et al. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 383-392, 2008.

SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; LOPEZ-CERVANTES, J.; VÁZQUEZ, NJ Ríos. High-performance liquid chromatography method to measure α - and γ -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*. **Journal of chromatography A**, v. 1105, n. 1-2, p. 111-114, 2006.

SANDEEP, G. et al. *Moringa* for nutritional security (*Moringa oleifera* Lam.). **Int. J. Bot. Stud**, v. 4, p. 21-24, 2019.

SANDERS, M.W. et al. Reduced uteroplacental blood flow alters renal arterial reactivity and glomerular properties in the rat offspring. **Hypertension**, v. 43, n. 6, p. 1283-1289, 2004.

SANTIAGO, M.Q. et al. Purification, characterization and partial sequence of a pro-inflammatory lectin from seeds of *Canavalia oxyphylla* Standl. & LO Williams. **Journal of Molecular Recognition**, v. 27, n. 3, p. 117-123, 2014.

SANTOS, A. F. S. et al. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. **Water Research**, v. 39, n. 6, p. 975-980, 2005.

SANTOS, A.F.S et al. Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. **Process biochemistry**, v. 44, n. 4, p. 504-508, 2009.

SANTOS, A.F.S et al. *Moringa oleifera*: resource management and multiuse life tree. 2015.

SCHAFER, F.Q.; BUETTNER, G.R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free radical biology and medicine**, v. 30, n. 11, p. 1191-1212, 2001.

SCHMIEDER, R.E. Übersichtsarbeit: Hypertoniebedingte Endorganschäden. **Deutsches Arzteblatt-Arztliche Mitteilungen-Ausgabe B**, v. 107, n. 49, p. 866, 2010

SCHREUDER, M.F. et al. Glomerular number and function are influenced by spontaneous and induced low birth weight in rats. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 16, n. 10, p. 2913-2919, 2005.

SCHRIER, R.W.; WANG, W. Acute renal failure and sepsis. **New England Journal of Medicine**, v. 351, n. 2, p. 159-169, 2004.

SEDEEK, M. et al. Molecular mechanisms of hypertension: role of Nox family NADPH oxidases. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 18, n. 2, p. 122-127, 2009.

SEDEEK, M. et al. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and the kidney: friend and foe. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 24, n. 10, p. 1512-1518, 2013.

SEELY, J.C. A brief review of kidney development, maturation, developmental abnormalities, and drug toxicity: juvenile animal relevancy. **Journal of toxicologic pathology**, v. 30, n. 2, p. 125-133, 2017.

SESHIAH, P.N. et al. Angiotensin II stimulation of NAD (P) H oxidase activity: upstream mediators. **Circulation research**, v. 91, n. 5, p. 406-413, 2002.

SHANKAR, K. et al. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 294, n. 2, p. R528-R538, 2008.

SHARON, N. Lectins: carbohydrate-specific reagents and biological recognition molecules. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 5, p. 2753-2764, 2007.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v. 14, n. 11, p. 53R-62R, 2004.

SIDDHURAJU, P.; BECKER, K.. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2144-2155, 2003.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox biology**, v. 4, p. 180-183, 2015.

SIMMONS, D.L. et al. Monocyte antigen CD14 is a phospholipid anchored membrane protein. 1989.

SIMMONS, R.A. Developmental origins of diabetes: the role of oxidative stress. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 26, n. 5, p. 701-708, 2012.

SIMONETTI, G.D. et al. Salt sensitivity of children with low birth weight. **Hypertension**, v. 52, n. 4, p. 625-630, 2008.

SINCLAIR, K.D. et al. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 49, p. 19351-19356, 2007.

SINHA, N.; KUMAR DABLA, P. Oxidative stress and antioxidants in hypertension—a current review. **Current hypertension reviews**, v. 11, n. 2, p. 132-142, 2015.

SORESCU, D. et al. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, n. 12, p. 1429-1435, 2002.

SOUZA, J.D. et al. A new Bauhinia monandra galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 65, n. 5, p. 696-702, 2011.

STANGENBERG, S. et al. Oxidative stress, mitochondrial perturbations and fetal programming of renal disease induced by maternal smoking. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 64, p. 81-90, 2015.

STELLOH, C. et al. Prematurity in mice leads to reduction in nephron number, hypertension, and proteinuria. **Translational Research**, v. 159, n. 2, p. 80-89, 2012

STEWART, T. et al. Role of postnatal dietary sodium in prenatally programmed hypertension. **Pediatric Nephrology**, v. 24, n. 9, p. 1727-1733, 2009.

STRÅLIN, P. et al. The interstitium of the human arterial wall contains very large amounts of extracellular superoxide dismutase. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 15, n. 11, p. 2032-2036, 1995.

STRITZKE, A. et al. Renal consequences of preterm birth. **Molecular and cellular pediatrics**, v. 4, n. 1, p. 2, 2017.

SUH, Young-Ah et al. Cell transformation by the superoxide-generating oxidase Mox1. **Nature**, v. 401, n. 6748, p. 79-82, 1999.

SULTANA, S. et al. Moringa oleifera Lam. A miraculous medicinal plant. **Pak J Med Biol Sci**, v.2, n. 1, 2018.

SULTANA, Z. et al. Oxidative stress, placental ageing-related pathologies and adverse pregnancy outcomes. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 77, n. 5, p. e12653, 2017.

SUTHERLAND, M.R. et al. Accelerated maturation and abnormal morphology in the preterm neonatal kidney. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 7, p. 1365-1374, 2011.

SYMONDS, M.E. et al. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: mechanisms and critical windows. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 19, n. 1, p. 53-63, 2006.

SZÖCS, K. et al. Upregulation of Nox-based NAD (P) H oxidases in restenosis after carotid injury. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 22, n. 1, p. 21-27, 2002.

TAYLOR, A.F. et al. Mechanically stimulated osteocytes regulate osteoblastic activity via gap junctions. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 292, n. 1, p. C545-C552, 2007.

TEIXEIRA, C.S. et al. Mannose-specific legume lectin from the seeds of *Dolichos lablab* (FRIL) stimulates inflammatory and hypernociceptive processes in mice. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 3, p. 529-534, 2014.

TERADA, T. et al. (Pro) renin and (pro) renin receptor expression during kidney development in neonates. **European journal of pediatrics**, v. 176, n. 2, p. 183-189, 2017.

THAKUR, A. et al. Purification and characterization of lectin from fruiting body of *Ganoderma lucidum*: Lectin from *Ganoderma lucidum*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1770, n. 9, p. 1404-1412, 2007.

THE LOW BIRTH WEIGHT AND NEPHRON NUMBER WORKING GROUP. The impact of kidney development on the life course: A consensus document for action. **Nephron**, v. 136, n. 1, p. 3-49, 2017.

THOM, S. Arterial structural modifications in hypertension: Effects of treatment. **European heart journal**, v. 18, n. suppl_E, p. 2-4, 1997.

THOMPSON, L. P.; AL-HASAN, Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. **Journal of pregnancy**, v. 2012, 2012.

THOMPSON, L.P.; DONG, Y. Chronic hypoxia decreases endothelial nitric oxide synthase protein expression in fetal guinea pig hearts. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v. 12, n. 6, p. 388-395, 2005.

THOMSON, A.J. et al. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. **Human Reproduction**, v. 14, n. 1, p. 229-236, 1999.

TONG, W. et al. Maternal hypoxia alters matrix metalloproteinase expression patterns and causes cardiac remodeling in fetal and neonatal rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 301, n. 5, p. H2113-H2121, 2011.

TONG, W.; ZHANG, L. Fetal hypoxia and programming of matrix metalloproteinases. **Drug discovery today**, v. 17, n. 3-4, p. 124-134, 2012.

TRIGUEROS, V. et al. Xerocomus chrysenteron lectin: identification of a new pesticidal protein. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1621, n. 3, p. 292-298, 2003.

TROTTA, T. et al. Biological role of Toll-like receptor-4 in the brain. **Journal of neuroimmunology**, v. 268, n. 1-2, p. 1-12, 2014.

VALDEZ-SOLANA, M.A. et al. Nutritional content and elemental and phytochemical analyses of Moringa oleifera grown in Mexico. **Journal of Chemistry**, v. 2015, 2015.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VANDENBORRE, G.; SMAGGHE, G.; VAN DAMME, E.J.M. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1538-1550, 2011.

VANHOLDER, R. et al. European Uremic Toxin Work Group. Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality. **Nephrol Dial Transplant**, v. 20, n. 6, p. 1048-1056, 2005.

VARROT, A.; BLANCHARD, B.; IMBERTY, A. Lectin binding and its structural basis. **Carbohydr. Recogn**, p. 329-347, 2011.

VASTA, G.R. et al. Galectins as self/non-self recognition receptors in innate and adaptive immunity: an unresolved paradox. **Frontiers in immunology**, v. 3, p. 199, 2012.

VAZIRI, N. Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. 2008.

VAZIRI, N.D. et al. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. **Kidney international**, v. 63, n. 1, p. 179-185, 2003.

VEHASKARI, V.M.; AVILES, D.H.; MANNING, J. Prenatal programming of adult hypertension in the rat. **Kidney international**, v. 59, n. 1, p. 238-245, 2001.

VENEREO GUTIÉRREZ, J. R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. **Revista Cubana de medicina militar**, v. 31, n. 2, p. 126-133, 2002.

VERMA, A.R. et al. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of Moringa oleifera leaves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 9, p. 2196-2201, 2009.

VIANA PONTUAL, E. **Extrato de flores de Moringa oleifera: atividade larvicida e efeito sobre tripsina e acetilcolinesterase de larvas de Aedes aegypti**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

VICKARYOUS, N.; WHITELOW, E. The role of early embryonic environment on epigenotype and phenotype. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 17, n. 3, p. 335-340, 2005.

VIEIRA-FILHO, L.D. et al. Early changes on proximal tubule Na⁺-ATPase activity precede blood pressure elevation and renal dysfunction induced by intrauterine undernutrition: reprogramming by α -tocopherol. 2013.

VIEIRA-FILHO, L.D. et al. Renal molecular mechanisms underlying altered Na⁺ handling and genesis of hypertension during adulthood in prenatally undernourished rats. **British journal of nutrition**, v. 111, n. 11, p. 1932-1944, 2014.

VIKSE, B.E. et al. Low birth weight increases risk for end-stage renal disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 19, n. 1, p. 151-157, 2008.

WANG, H.; NG, T.B. First report of an arabinose-specific fungal lectin. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 337, n. 2, p. 621-625, 2005.

WANG, J.Q. et al. Toll-like receptors and cancer: MYD88 mutation and inflammation. **Frontiers in immunology**, v. 5, p. 367, 2014.

WANG, R. et al. Abnormal regulation of cytosolic free calcium in vascular endothelial cells from spontaneously hypertensive rats. **Journal of hypertension**, v. 13, n. 9, p. 993-1001, 1995.

WANG, R.; SAUVÉ, R.; DE CHAMPLAIN, J. Altered calcium homeostasis in tail artery endothelial cells from spontaneously hypertensive rats. **American journal of hypertension**, v. 8, n. 10, p. 1023-1030, 1995.

WANG, X. et al. Prenatal lipopolysaccharide exposure causes mesenteric vascular dysfunction through the nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate pathway in offspring. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 86, p. 322-330, 2015.

WANG, X. et al. Prenatal lipopolysaccharide exposure results in dysfunction of the renal dopamine D1 receptor in offspring. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 76, p. 242-250, 2014.

WANG, Xian-Wei et al. A novel C-type lectin (FcLec4) facilitates the clearance of *Vibrio anguillarum* in vivo in Chinese white shrimp. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 33, n. 9, p. 1039-1047, 2009.

WANG, Y. et al. Epidemic of childhood obesity: implications for kidney disease. **Advances in chronic kidney disease**, v. 13, n. 4, p. 336-351, 2006.

WARDLAW, T.M. (Ed.). **Low birthweight: country, regional and global estimates**. Unicef, 2004.

WATERLAND, R.A.; GARZA, C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **The American journal of clinical nutrition**, v. 69, n. 2, p. 179-197, 1999.

WEI, Yan-ling; LI, Xiao-hui; ZHOU, Jian-zhi. Prenatal exposure to lipopolysaccharide results in increases in blood pressure and body weight in rats. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 28, n. 5, p. 651-656, 2007.

WHO. **Born too soon: the global action report on preterm birth**. Geneva: World Health Organization, 2012.

WIJNAND, K. et al. Toll like receptor 4 in atherosclerosis and plaque destabilization. **Atherosclerosis**, v. 209, n. 2, p. 314-320, 2010.

WILSON, C. et al. Increased vascular contractility in hypertension results from impaired endothelial calcium signaling. **Hypertension**, v. 74, n. 5, p. 1200-1214, 2019.

WILSON, C. et al. Increased vascular contractility in hypertension results from impaired endothelial calcium signaling. **Hypertension**, v. 74, n. 5, p. 1200-1214, 2019.

WINGEN, Anne-Margret et al. Randomised multicentre study of a low-protein diet on the progression of chronic renal failure in children. **The Lancet**, v. 349, n. 9059, p. 1117-1123, 1997.

WOODS, L.L. et al. Maternal protein restriction suppresses the newborn renin-angiotensin system and programs adult hypertension in rats. **Pediatric research**, v. 49, n. 4, p. 460-467, 2001.

WOODS, L.L.; WEEKS, D.A.; RASCH, R. VASCULAR BIOLOGY-HEMODYNAMICS-HYPERTENSION Programming of adult blood pressure by maternal protein restriction: Role of nephrogenesis. **Kidney International**, v. 65, n. 4, 2004.

WU, Y.W. et al. Chorioamnionitis and cerebral palsy in term and near-term infants. **Jama**, v. 290, n. 20, p. 2677-2684, 2003.

YIM, H.E.; YOO, K.H. Early life obesity and chronic kidney disease in later life. **Pediatric Nephrology**, v. 30, n. 8, p. 1255-1263, 2015.

YOU, Young-Hyun et al. Role of Nox2 in diabetic kidney disease. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 304, n. 7, p. F840-F848, 2013.

YU, S. et al. Prenatal lipopolysaccharide exposure promotes dyslipidemia in the male offspring rats. **Frontiers in physiology**, v. 9, p. 542, 2018.

YZYDORCZYK, C. et al. Exaggerated vasomotor response to ANG II in rats with fetal programming of hypertension associated with exposure to a low-protein diet during gestation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 4, p. R1060-R1068, 2006.

YZYDORCZYK, C. et al. Fetal Programming. **Hypertension**, v. 52, p. 889-895, 2008.

YZYDORCZYK, C. et al. Neonatal oxygen exposure in rats leads to cardiovascular and renal alterations in adulthood. **Hypertension**, v. 52, n. 5, p. 889-895, 2008.

ZANONI, I. et al. CD14 controls the LPS-induced endocytosis of Toll-like receptor 4. **Cell**, v. 147, n. 4, p. 868-880, 2011.

ZHANG, C. et al. Redox signaling via lipid raft clustering in homocysteine-induced injury of podocytes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1803, n. 4, p. 482-491, 2010.

ZHANG, L. Prenatal hypoxia and cardiac programming. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v. 12, n. 1, p. 2-13, 2005.

ZHANG, M. et al. NADPH oxidases in heart failure: poachers or gamekeepers?. **Antioxidants & redox signaling**, v. 18, n. 9, p. 1024-1041, 2013.

ZHAO, J. K.; WANG, H. X.; NG, T. B. Purification and characterization of a novel lectin from the toxic wild mushroom *Inocybe umbrinella*. **Toxicon**, v. 53, n. 3, p. 360-366, 2009.

ZHAO, S. et al. Lipopolysaccharide exposure during pregnancy leads to aortic dysfunction in offspring rats. **PLoS One**, v. 9, n. 7, 2014.

ZIECH, D. et al. Reactive Oxygen Species (ROS)—Induced genetic and epigenetic alterations in human carcinogenesis. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 711, n. 1-2, p. 167-173, 2011.

ZIMMERMAN, M.C. et al. Requirement for Rac1-dependent NADPH oxidase in the cardiovascular and dipsogenic actions of angiotensin II in the brain. **Circulation research**, v. 95, n. 5, p. 532-539, 2004.

ZONGO, U. et al. Nutricional and clinical rehabilitation of severely malnourished children with *Moringa oleifera* Lam. Leaf poder in Ouagadougou (Burkina Faso). 2013