Débora dos Santos Silva

**Efeitos da corticosterona sobre a produção de
melatonina em macrófagos de linhagem RAW 264.7**

São Paulo

2017

Débora dos Santos Silva

**Efeitos da corticosterona sobre a produção de
melatonina em macrófagos de linhagem RAW
264.7**

**Effects of corticosterone on the production of
Melatonin RAW macrophage lineage
264.7**

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo, para
obtenção de título de Mestre em
Ciências, na área de Fisiologia
Geral.

Orientador: Prof. Dr. Pedro
Augusto Carlos Magno Fernandes

São Paulo
2017

Resumo

A melatonina (MEL) é um hormônio que participa do controle de uma série de processos fisiológicos em situações de vigília e durante processos de defesa. Além da produção noturna pela glândula pineal, células do sistema imunológico também produzem MEL. Diversos estudos demonstram que a produção de MEL pela pineal e células imunes é controlada por agentes endógenos (TNF, catecolaminas) e exógenos (LPS, zimosan) que ativam/controlam o desenvolvimento de processos de defesa. Em macrófagos, a produção de MEL induzida por zimosan, por exemplo, aumenta a fagocitose destas células. Na glândula pineal, glicocorticoides podem tanto potencializar quanto reduzir a síntese de MEL dependendo do padrão de estimulação adrenérgica imposto sobre a glândula. Contudo, não existem relatos sobre os efeitos dos glicocorticoides sobre a produção de MEL por células imunocompetentes. Tendo em vista a importância da produção de MEL no funcionamento adequado de macrófagos, o presente estudo investigou os efeitos da corticosterona (CORT) sobre a produção de MEL induzida por diferentes estímulos em macrófagos da linhagem RAW 264.7. Constatamos que os efeitos induzidos pela CORT sobre a produção de MEL dependem do contexto aos quais essas células foram submetidas. Tanto CORT quanto zimosan aumentam a produção de MEL. Todavia, quando as células são pré-incubadas com CORT, a produção de MEL induzida pelo zimosan é inibida. Em ambos os casos, os efeitos da CORT parecem ser dependentes da ativação dos receptores de glicocorticoides (GR). Com relação à produção de MEL induzida por zimosan, o efeito dos GRs está associado com a inibição da via do NFκB. Este trabalho pode ser relevante para a compreensão dos efeitos da CORT sobre o funcionamento das células imunes em condições de estresse crônico, uso excessivo de corticoides e diante de desafios imunológicos.

Palavras-chave: Melatonina; Corticosterona; Zimosan; Receptores de glicocorticoides; Macrófagos.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Melatonina

A melatonina (MEL) é um hormônio produzido e secretado pela glândula pineal. É parte do sistema neuroendócrino responsável pela organização temporal de diversos processos fisiológicos e comportamentais. A produção circadiana deste hormônio é fundamental para a adaptação dos indivíduos às variações temporais cíclicas do meio ambiente, estando associada, por exemplo, à regulação do ciclo sono-vigília, ciclos reprodutivos (Soares *et al.*, 2003; Morris *et al.*, 2012; Fisher *et al.*, 2013; Maitra & Hasan, 2016) e ao controle do funcionamento do sistemas cardiovascular e imunológico (Macchi *et al.*, 2004; Markus *et al.*, 2007).

A glândula pineal sempre foi alvo de curiosidades e investigações. Relatos históricos, datados de 300 a.C., mostram as primeiras tentativas de descrevê-la pelos médicos anatomistas, Herófilo e Erasístrato. Eles achavam que a glândula era uma válvula que regularia o fluxo dos *spiritus* ou *pneuma*, por meio de ventrículos encefálicos. Entre 130-200 A.C, o médico e filósofo grego Cláudio Galeno, contrariado com essa descrição, verificou que a glândula não estava no sistema ventricular, sugerindo com seus estudos que poderia ser uma glândula linfática. Galeno também foi responsável pela nomenclatura da glândula, batizando-a de glândula pineal, devido ao seu formato de pinha (para revisão, Crespo & Viegas, 1991).

O matemático e filósofo francês René Descartes no século 17, em um de seus tratados afirmou que “há uma pequena glândula no cérebro, na qual a alma exerce suas funções mais particularmente do que nas outras partes” (Descartes, 1973). Descartes acreditava que a glândula pineal seria capaz de captar o espírito do animal e controlar

diversas funções como movimento, sensações, memória e imaginação. Em 1958, Aaron Lerner conseguiu isolar de pineais de bovinos um fator que agregava melanóforo, no caso, a MEL. Lerner acreditava que era um hormônio produzido exclusivamente pela pineal e era sintetizado a partir da serotonina (Lerner *et al.*, 1959). Em 1961, Axelrod & Weissbach evidenciaram que a pineal era o único órgão a produzir MEL a partir da serotonina, sendo produzida de forma rítmica, dependente da iluminação diurna e noturna. Atualmente, sabemos que novas fontes de melatonina foram descritas no decorrer dos anos, como vamos discorrer posteriormente.

Hoje, sabemos que a síntese de melatonina pela pineal ocorre na fase de escuro e é dependente da ativação do sistema nervoso autônomo simpático e consequente liberação de noradrenalina (NAd) pelos terminais que inervam esta glândula (Fálcon, 1999). Na pineal, a NAd, interagindo com os receptores adrenérgicos pós-sinápticos dos tipos β_1 e α_1 -adrenérgicos presentes nos pinealócitos, desencadeia uma série de eventos bioquímicos intracelulares que levam à síntese de melatonina (Klein, 1985). Neste processo, o triptofano capturado da circulação é convertido em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) sob a ação da enzima triptofano hidroxilase 1 (TPH1) (Lovenberg *et al.*, 1967). O 5-HTP será descarboxilado por meio da enzima 5-HTP descarboxilase, dando origem a serotonina (5-HT) (Snyder & Axelrod, 1964). A serotonina, por sua vez, é acetilada pela ação da enzima araquilamina-N-acetiltransferase (AANAT), originando a N-acetilserotonina (NAS) (Voisin *et al.*, 1984) que será, posteriormente, metilada pela enzima hidroxiindol-O-metiltransferase (HIOMT), também chamada de N-acetylserotonina-O-metiltransferase (ASMT), formando a melatonina (Ribelayga & Simonneaux, 2003).

Além da glândula pineal, existem outras fontes extra pineais de síntese de MEL descritas na literatura. A retina, por exemplo, é um importante local de produção de

MEL, como descrito em 1971 por Cardinali & Rosner, que identificaram a presença da enzima HIOMT na retina de ratos. Posteriormente em 1974, Bubenik e seus colaboradores relataram pela primeira vez, a presença do ritmo diário de melatonina por meio de cortes histológicos da retina de ratos com dois dias de idade, onde se observou que o ritmo de MEL aumentou nos tecidos conforme o crescimento desses animais.

A importância neuromoduladora da MEL na retina é bem conhecida, estando associada ao processamento das informações ambientais pelos neurônios retiniais. MEL regula na parte mais externa da retina a atividade de fotoreceptores e internamente potencializa *inputs* de células amácrinas glicinérgicas para células gânglionares em ratos (Huang *et al.*, 2012). Estas ações da MEL sobre os neurônios da retina são mediados por sinalizações intracelulares distintas e por diferentes subtipos de receptores de MEL, sendo importantes para a percepção da iluminação do ambiente (Huang *et al.*, 2012).

Em 1975, após a descoberta de MEL na retina, Raikhlin e colaboradores, observaram que havia síntese de MEL em células enterocromafins da mucosa do intestino de ratos, e puderam estimar que o conteúdo de MEL produzida no trato gastrointestinal era cerca de 400 vezes maior do que na pineal e cerca de 10 a 100 vezes maior do que as concentrações plasmáticas (Raikhlin *et al.*, 1975). Alguns estudos observaram que a MEL produzida não dependia do ritmo diário, ao contrário do que já havia sido visto na retina, essa produção não era rítmica e sim, controlada pela ingestão de alimentos. Além disso, sabendo-se que a maioria dos alimentos possuem MEL, boa parte encontrada no trato gastrointestinal poderia ser proveniente da alimentação (Raikhlin *et al.*, 1976; Bubenik *et al.*, 1978, Bubenik, 1980) tendo função antioxidante, reduzindo a secreção de ácido clorídrico, promovendo a regeneração epitelial e aumento da microcirculação (Bubenik, 2002, 2008). A partir desses estudos as funções da melatonina no trato gastrointestinal vêm sendo muito discutidas, vários grupos vêm

abordando as propriedades anti-oxidantes e citoprotetora da melatonina (Konturek *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2011; Bertrand *et al.*, 2014).

Além da retina e do trato gastrointestinal, muitos estudos têm observado a produção de MEL em importantes órgãos e células do sistema imunológico, dentre eles o timo, o baço, linfócitos, mastócitos, leucócitos, plaquetas e células endoteliais (Kvetnoy, 1999). No timo a MEL exerce efeitos protetores sobre os timócitos de ratos, modulando processos de apoptose, proliferação celular e como antioxidante (Gomez-Corvera *et al.*, 2009; Sanchez-Hidalgo *et al.*, 2009; Sokolovic *et al.*, 2013). Em linfócitos humano, a MEL desempenha papel crucial na modulação do sistema de receptores IL-2/IL2R, sendo essa interleucina fundamental na maturação de linfócitos (Carrilo-Vico *et al.*, 2004). Nos mastócitos, a MEL tem efeito protetor contra citotoxicidade (Maldonado *et al.*, 2013) e no tecido endotelial a melatonina atua na redução do rolamento e adesão de neutrófilos, tendo assim, um possível efeito regulatório sobre a montagem de respostas inflamatórias (Tamura *et al.*, 2010).

Em macrófagos peritoneais a produção de serotonina e MEL foi identificada por Martins e colaboradores em 2004, que observaram que na presença de triptofano, macrófagos exibiam alta expressão de AANAT e MEL, sendo esse processo regulado por interferon α e γ (IFN- α / IFN γ), *acetato miristato de forbol (PMA)* e Lipopolissacarideo (LPS). Além dos macrófagos peritoneais, a produção de MEL por outros tipos de macrófagos já foi demonstrada, como por exemplo, macrófagos de colostro humano (Pontes *et al.*, 2006; Pires-lapa *et al.*, 2013) e em macrófagos de linhagem 264.7 (Muxel *et al.*, 2012).

A modulação e os efeitos da melatonina produzida pela pineal e células imunocompetentes formam o arcabouço experimental que permitiram a descrição de um Eixo Imune-Pineal, como descrito em detalhes a seguir.

1.2 Eixo Imune Pineal

Na década de 70 foram notados os primeiros indícios de que a glândula pineal está relacionada com a modulação do sistema imunológico (Klein *et al.*, 1972). Estes estudos demonstraram que animais pinealectomizados apresentaram aceleração na involução do timo, órgão do sistema imune responsável pela maturação de linfócitos (Klein *et al.*, 1972; Klein, 1979). Estudos demonstraram que a melatonina atua como um importante agente imunomodulador, aumentando a proliferação de linfócitos T, a apresentação de antígenos e a fagocitose de macrófagos (Carrillo-Vico *et al.*, 2005; Pontes *et al.*, 2006; Pires-Lapa *et al.*, 2013; Markus & Cecon, 2013; Carrilo-Vico *et al.*, 2013).

Tendo em vista a interdependência entre os sistemas produtores de melatonina e o sistema imunológico, nosso grupo de trabalho tem avaliado o papel da melatonina (produzida pela pineal ou por células imunocompetentes) como parte integrante da regulação dos processos imunológicos. Como mencionado anteriormente, o conjunto de dados obtidos permitiu a percepção e descrição do eixo imune-pineal (EIP; Markus *et al.*, 2007). Neste contexto, a melatonina produzida pela glândula pineal inibe parcialmente a migração de leucócitos da corrente sanguínea para os tecidos (Lotufo *et al.*, 2001 e 2006; Tamura *et al.*, 2009) e, durante processos inflamatórios, agentes imunológicos exógenos (lipopolissacarídeos de bactérias gram-negativas LPS, da Silveira Cruz Machado *et al.*, 2010) e endógenos (TNF, tumor necrosis factor, Fernandes *et al.*, 2006) reduzem, transitoriamente, a produção de MEL pela pineal, por um mecanismo dependente da ativação do fator nuclear κ B (NF κ B). No contexto do EIP, a diminuição dos níveis de MEL circulante resulta em maior adesão e migração de células imunocompetentes pelo endotélio vascular (Tamura *et al.*, 2009) sendo,

portanto, um importante mecanismo regulatório da montagem de processos inflamatórios.

No local da inflamação, células imunocompetentes, como linfócitos (Carrillo-Vico *et al.*, 2005) e macrófagos (Muxel *et al.*, 2012 e Pires-Lapa *et al.*, 2013) passam a produzir altas concentrações de melatonina em resposta a padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) como o LPS (Muxel *et al.*, 2012) e o zimosan, que é um β -glucano constituinte estrutural da parede celular de fungos. (Pires-Lapa *et al.*, 2013). Como exemplo, podemos citar estudos realizados em células imunocompetentes do colostro humano que demonstram a produção de melatonina induzida por bactérias *Escherichia coli* enteropatogênica (Pontes *et al.*, 2006) e zimosan (Pontes *et al.*, 2006, Pires-Lapa *et al.*, 2013). Tanto LPS quanto zimosan ativam a translocação de NF κ B em macrófagos de colostro e de linhagem (RAW 264.7) e a utilização de um inibidor desta via inibe a produção de melatonina induzida por estes PAMPs (Muxel *et al.*, 2012 e Pires-Lapa *et al.*, 2013). Mais ainda, ensaios por eletromobilidade em gel na presença de anticorpos específicos demonstraram que o zimosan induz em macrófagos RAW um aumento das subunidades de NF κ B Rel-c, Rel-A e p50 na forma dos dímeros p50/Rel-A e p50/Rel-c. (Muxel *et al.*, 2012).

A produção de melatonina por células imunocompetentes regula diversas funções. Em células mononucleares fagocíticas do colostro, por exemplo, foi demonstrada que a melatonina exógena e endógena controla positivamente a capacidade fagocítica destas células por um mecanismo dependente de receptores de melatonina (Pires-Lapa *et al.*, 2013). Tomados em conjunto, os dados descritos mostram que a produção de melatonina produzida por fagócitos é dependente da ativação da via do NF κ B e esta produção modula a atividade destas células. Deste modo, é interessante notar que esse fator de transcrição é fundamental no processo inflamatório, pois inibe a produção de

melatonina pela pineal (permitindo uma maior migração de células para o foco da lesão) e estimula a local por células imunocompetentes (Markus *et al.*, 2013).

1.3 Glicocorticoides e produção de melatonina

Durante quadros de infecções não controladas adequadamente a produção excessiva de citocinas circulantes pode causar à morte do hospedeiro (Hack *et al.*, 1997), ficando claro que o controle temporal e a quantidade das suas produções devam ser bem regulados. O contraponto da resposta pró-inflamatória é dado pela ação de moduladores regulatórios como, por exemplo, os glicocorticoides (Turnbull & Rivier, 1999). Deste modo, a dinâmica de um processo de defesa tem, em sua base funcional, a ativação do eixo HPA (hipotálamo – hipófise – adrenal) e consequente liberação de glicocorticoides.

Os efeitos dos glicocorticoides foram observados, pela primeira vez em 1855, pelo médico britânico Thomas Addison, que observou que lesões nas glândulas adrenais levavam a morte dos pacientes, descrevendo assim uma síndrome decorrente da destruição das adrenais, que posteriormente levou seu nome, síndrome de Addison (Smans & Zelissen, 2012). No ano seguinte, o fisiologista Charles Édouard Brown-Séquard, ao remover as glândulas adrenais de diferentes animais sadios, notou uma drástica redução na sobrevivência destes animais, concluindo que a morte resultava da falta de substâncias vitais produzidas pelas glândulas adrenais que eram liberadas na corrente sanguínea (Aminoff, 1996). Atualmente, entende-se que Brown-Séquard se referia às catecolaminas (noradrenalina e adrenalina) e aos corticoides (glicocorticoides e mineralocorticoides) produzidos por estas glândulas.

Enquanto as catecolaminas são sintetizadas na medula da glândula adrenal por meio da estimulação do sistema nervoso autônomo simpático, os corticoides são

liberados pelo córtex da glândula adrenal, sob estímulos diversos, como por exemplo, estresse físico, emocional ou bioquímico, que provocam a ativação do eixo Hipotálamo-hipófise/pituitária – adrenal (HPA/HHA) – (Turnbull & Rivier, 1999). A estimulação do hipotálamo leva à liberação do hormônio corticotrófico (CRH) que são produzidos pelas células no núcleo paraventricular (PVN) (Turnbull & Rivier, 1999). Por exemplo, neurotransmissores produzidos por neurônios catecolaminérgicos ou glutamatérgicos e mediadores inflamatórios como citocinas e mediadores lipídicos induzem um aumento dos níveis intracelulares de cálcio no PVN, promovendo a fusão das vesículas contendo CRH à membrana plasmática que será então transportado até a hipófise através do sistema porta-hipofisário (Checkley, 1996). Na hipófise o CRH induzirá o aumento de Adenosina- 3,5- Monofosfato cíclico (AMPC), que ativará a enzima PKA - proteína quinase A que, por sua vez, fosforila canais de cálcio, aumentando os níveis de cálcio intracelular e promovendo a liberação na corrente sanguínea do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que induzirá a síntese de glicocorticoides pelas adrenais (Nemeroff, 1996; Guyton & Hall, 2002).

Os glicocorticoides são hormônios esteroides que induzem diversas respostas fisiológicas afetando, por exemplo, o metabolismo dos carboidratos e modulando respostas de defesa. (Bavaresco *et al.*, 2005, Caratti *et al.*, 2015). Apesar da síntese e liberação ocorrerem naturalmente pelo organismo de forma circadiana, segundo o hábito de vida de cada espécie, fatores associados a perigo (infecções, por exemplo) aumentam a liberação de glicocorticoides que, por sua vez, modulam a atividade de células imunocompetentes (Goodman & Gilman, 2003). Os glicocorticoides podem interagir diretamente nas células por meio de dois tipos de receptores intracelulares, os receptores de MR (MR, do inglês, *mineralocorticoids receptors*) e os GR (GR, do inglês *glucocorticoids receptors*) - (Krozowski & Funder, 1983). Estes receptores

atuam como fatores de transcrição gênica regulando a programação da fisiologia celular (Bledsoe *et al.*, 2002; Kumar & Thompson, 2005; Ramamoorthy & Cidlowski, 2013; 2016).

Os glicocorticoides como, por exemplo, a corticosterona (CORT) tem maior afinidade por MR do que por GR (Reul & De Kloet, 1985). A ativação de GR é obtida quando há altas concentrações de glicocorticoides que podem ser atingidas a partir da estimulação do eixo HPA. A interação do hormônio adrenal com GR localizados no hipotálamo, por exemplo, é um dos passos da autorregulação do eixo HPA, levando a uma diminuição da síntese de ACTH e reduzindo o estímulo sobre a adrenal (Kloet *et al.*, 1998).

Estudos do nosso grupo mostram que glicocorticoides apresentam uma ação dual sobre a síntese de melatonina na glândula pineal (Lopes *et al.* 1997, 2001; Ferreira *et al.*, 2005, Fernandes *et al.*, 2006, 2009, 2016). Dependendo do modelo experimental, este hormônio pode tanto potencializar quanto inibir a síntese de melatonina. (Fernandes *et al.*, 2009). A corticosterona potencializa a produção da melatonina em glândulas pineais estimuladas com baixas concentrações de NAd (Ferreira *et al.*, 2005 Fernandes *et al.*, 2006). Por outro lado, em estudo feito com incubação de glândulas pineais com alta dose de corticosterona (100 μ M) e com estimulação máxima de adrenoreceptores, foi observada uma inibição na produção de melatonina (Yuwiler, 1989).

Estudos recentes de nosso grupo esclareceram parte deste efeito dual da CORT sobre a produção de melatonina pela glândula pineal. Demonstramos que a CORT potencializa a produção de melatonina quando a glândula pineal está sob estimulação β -adrenérgica, mas inibe esta produção hormonal quando a pineal é estimulada concomitantemente com agonistas β e α_1 -adrenérgicos sendo que, em ambos os casos, os efeitos são mediados pela ativação de GR (Ferreira *et al.*, 2005; Fernandes *et al.*,

2017). Deste modo, o contexto de ativação diferencial de receptores adrenérgicos é um fator determinante no padrão de resposta desencadeada pelos glicocorticoides sobre a produção de melatonina pela glândula pineal.

1.4 Macrófagos, glicocorticoides e melatonina

O ano de 2016 marcou os cem anos de aniversário de morte de Élie Metchnikoff (1845-1916), cientista que descreveu os macrófagos pela primeira vez no final do século 19, a ele creditado o descobrimento da fagocitose pelo qual foi premiado em 1908 com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina. O trabalho de Metchnikoff influenciou e influenciou as pesquisas em imunologia (Underhill *et al.*, 2016)

Os macrófagos são células especializadas, que desempenham diferentes funções dependendo do ambiente onde se encontram, dentre elas a fagocitose de micro-organismos e restos celulares, apresentação de antígenos e produção de citocinas, que são moléculas moduladoras da resposta imunológica que auxiliam no andamento do processo de defesa (Mosser *et al.*, 2008).

Para que ocorra o processo de fagocitose, os macrófagos possuem receptores de membrana para o reconhecimento de patógenos, sendo estes denominados de PAMPs e Padrões Moleculares Associados a Perigo (DAMPs), sendo considerados como a primeira linha de defesa contra infecções (Aderem & Underhill, 1999). Dentre esses receptores podemos citar os receptores do tipo Toll (TLRs) - (Akira & Takeda, 2004), receptores para fagocitose como a dectina-1 (Brown *et al.*, 2002), receptores Scavenger (Park, 2014) e receptores para imunoglobulinas IgG Fc (Karsten *et al.*, 2012).

Os macrófagos são descritos conforme seu estágio de ativação, podendo adquirir propriedades funcionais distintas dependendo dos tipos de estímulos aos quais são submetidos. São denominados classicamente ativados quando os macrófagos residentes, ou seja, os teciduais, são estimulados por interferon- γ (IFN- γ), interleucina-1 (IL-1) ou TNF (Fator de necrose tumoral), atuando, neste caso como células com grande poder microbicida (Mackaness, 1977; O'Shea & Murray, 2008). Na presença de IL-4 eles se tornam regeneradores teciduais, responsáveis pela recuperação de tecidos lesionados (Loke *et al.*, 2007). Quando ativados por prostaglandinas (Strassmann *et al.*, 1994), IL-10 (Martinez *et al.*, 2008), complexos imunes (Gerber & Mosser, 2001), ligantes de receptores acoplados à proteína G - GPCRs (Hasko *et al.*, 2007), células apoptóticas (Erwig & Henson, 2007) e glicocorticoides (Sternberg, 2006), esses macrófagos assumem a função anti-inflamatória tornando-se assim macrófagos regulatórios.

Os efeitos dos glicocorticoides sobre as células imunes vêm sendo amplamente estudados, devido à interferência direta sobre o funcionamento dessas células. Em macrófagos os glicocorticoides podem suprimir a maturação, proliferação e induzir apoptose (Sternberg, 2006), além de regular a expressão gênica por meio da interação entre outros fatores de transcrição como o NF κ B (Ogawa *et al.*, 2005). O NF κ B está, em sua forma inativa, ligado ao inibidor de NF κ B (I κ B - proteína inibitória κ B). Após ativação das células, NF κ B é liberado do I κ B, translocando-se para o núcleo, onde pode ser ligar a regiões promotoras específicas e regular a expressão de citocinas pró-inflamatórias (Ghosh *et al.*, 1998). Os glicocorticoides inibem NF κ B interagindo com a subunidade p65 (REL A), e pela indução da expressão de I κ B (Ghosh *et al.*, 1998). Coerente com a inibição de NF κ B, glicocorticoides em doses fisiológicas ou exógenos, a partir do tratamento com a cortisol/corticosterona ou a hidrocortisona, levam a diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF

(Scheinman, 1995). Em macrófagos peritoneais de ratos, foi observado que na ausência de desafios imunológicos, as atividades quimiotáticas e fagocíticas dessas células aumentam, quando essas células foram estimuladas com baixas concentrações de CORT (30, 150 nM), enquanto que em alta concentração (3µM) não foi observado esse efeito (Zhong *et al.*, 2013).

Como mencionado anteriormente, macrófagos produzem melatonina em resposta a padrões associados a patógenos como LPS (Muxel *et al.*, 2012) e zimosan (Pires-Lapa *et al.*, 2013) e também a moduladores adrenérgicos (Pires-Lapa *et al.*, em fase de preparação). Vale lembrar que, a ação desses PAMPs ocorre via receptores de membrana do tipo Toll (TLR), no caso do LPS, receptores TLR 4 e no caso do zimosan receptores TLR 2/6 (Akira & Takeda, 2004). A produção de melatonina em macrófagos induzida por PAMPs regula diversas funções destas células, dentre elas atua potencializando a fagocitose por meio da regulação de dectina 1 (Pires-Lapa *et al.*, 2013).

Deste modo, a produção de melatonina por macrófagos parece ser um fenômeno controlado por diferentes sinais de perigo presentes durante respostas de defesa. Haja vista que os efeitos duais dos glicocorticoides sobre a produção de MEL na glândula pineal são dependentes do contexto, a presente dissertação buscou avaliar os efeitos dos glicocorticoides sobre a produção de melatonina por macrófagos *per se* ou induzida por zimosan, LPS e adrenalina. Temos como hipótese do presente trabalho, que a corticosterona modula de forma específica a produção de melatonina em macrófagos de linhagem RAW 264.7 em diferentes contextos.

1. Conclusões

O presente trabalho nos permite concluir que:

1. A corticosterona possui um efeito dual na produção de MEL por macrófagos RAW 264.7, efeito este, dependente do estímulo no qual essas células foram submetidas. Tanto corticosterona quanto zimosan aumentam a produção de MEL, mas incubados concomitantemente, reduzem a produção desse hormônio.
2. A produção de MEL via estimulação com corticosterona e corticosterona mais zimosan é dependente da ativação de GR e MR, e que o bloqueio de GR em células estimuladas com CORT mais zimosan leva a redução na expressão da subunidade p65 de NFκB nuclear e total.
3. A corticosterona reduz a fagocitose em macrófagos de linhagem RAW 264.7.

2. Referências Bibliográficas

ADEREM, A.; UNDERHILL, D.M. **Mechanisms of phagocytosis in macrophages.** *Annu Rev Immunol* , v. **17**, p.593-623, 1999.

ADCOCK, I.M.; NASUHARA, Y.; STEVENS, D.A. & BARNES, P.J. **Ligand - induced differentiation of glucocorticoid receptor (GR) trans-repression and transactivation: preferential targetting of NF-kappaB and lack of I-kappaB involvement.** *Br J Pharmacol*, v.127, p. 1003-1011, 1999.

AKIRA, S.; TAKEDA K. **Toll-like receptor signalling.** *Nat Rev Immunol* 2, v. 4, p.499-511, 2004.

AMINOFF, M.J. **Brown-Séquard and his syndrome.** *J Hist Neurosci*, v.5, p.14-20, 1996.

ATUCHA, E.; ZALACHORAS, I.VAN DEN HEUVEL, J.K.; VAN WEERT, L.T.; MELCHERS,D.; MOL, I.M.; BELANOFF, J.K.; HOUTMAN, R.; HUNT, H.; ROOZENDALL, B.; MEIJER, O.C.A **mixed glucocorticoid/mineralocorticoid selective modulator with dominant antagonism in the male rat brain.** *Endocrinology*, v.156,p. 4105-41014, 2015.

AXEROLD, J. & WEISSBACH, H. **Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin.** *Science*, v.131, p. 1312, 1960

BAVARESCO, I.; BERNARDI, A.; BASTTASTINI, A. M. O. **Glicocorticóides: usos clássicos e emprego no tratamento do câncer.** *Infarma*, v. 17, n. 7/9, p. 58-60, 2005.

BERTRAND, P.P; POLGLAZE, K.E; BERTRAND, R.L; SANDOW, S.L, POZO, M.J. **Detection of melatonin production from the intestinal epithelium using electrochemical methods.** *Curr Pharm Des*, v. 20 (30), p. 4802-4806, 2014.

BLEDSON, R.K.; MONTANA, V.G.; STANLEY, T.B.; DELVES, C.J.; APOLITO, C.J.; MCKEE, D.D. **Crystal structure of the glucocorticoid receptor ligand binding domain reveals a novel mode of receptor dimerization and coactivator recognition.** *Cell*, v. 110, p.93-105, 2002.

BROWN GD, TAYLOR PR, REID D.M.; WILLMENT, J.A.; WILLIAMS, D.L.; MARTINEZ-POMARES, L.; WONG, S.Y.; GORDON,S. **Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages.** *J Exp Med*, v.196, p.407-412, 2002.

BUBENIK G.A; BROWN G.M; UHLIR I.; GROTA L.J. **Immunohistological localization of N-acetylmethylalkylamines in pineal gland, retina and cerebellum.** *Brain Res*, v. 81, p. 233–242, 1974.

BUBENIK G.A; BROWN G.M; GROTA L.J. **Immunohistological localization of melatonin in the rat digestive system.** *Experientia*, v. 33, p.662–663, 1978.

BUBENIK G.A. **Localization of melatonin in the digestive tract of the rat. Effect of maturation, diurnal variation, melatonin treatment and pinealectomy.** *Horm Res*, v. 12, p.313–323, 1980.

BUBENIK G.A. **Gastrointestinal melatonin location, function and clinical relevance.** *Dig Dis Sci*, v.47, p.2336-2348, 2002.

BUBENIK G.A. **Thirty-four years since the discovery of gastrointestinal melatonin.** *J. Physiol Pharmacol*, v. 59, p. 33-51, 2008.

CARDINALI D.P. & ROSNER J.M. **Retinal localization of the hydroxyindole-O-methyl transferase (HIOMT) in the rat.** *Endocrinology* , v.89, p. 301–303, 1971.

CARATTI, G.; MATTHEWS, L.; POOLMAN, T.; KERSHAW, S.; BAXTER, M.; RAY, D. **Glucocorticoid receptor function in health and disease.** *Clin Endocrinol*, v. 83, p. 441-448, 2015.

CARRILO-VICO, A.; LARDONE, P.; FERNÁNDEZ-SANTOS, J.M.; MARTÍN-LACAVE, I.; CALVO, J.R.; KARASEK, M.; GUERRERO, J.M. **Human lymphocyte-synthesized melatonin is involved in the regulation of the interleukin-2/interleukin-2 receptor system.** *J Clin Endocrinol Metab*, v.90, p. 992-1000, 2004.

CARRILLO-VICO A.; GUERRERO, J.M.; LARDONE, P.; REITER, R.J. **A review of the multiple actions of melatonin on the immune system.** *Endocrine*, v.27, p.189–200, 2005.

CARRILO-VICO, A.; REITER, R.J.; LARDONE, P.J.; HERREIRA, J.L.; FERNÁNDEZ-MONTESINOS, R.; GUERRERO, J.M ; POZO, D. **The modulatory role of melatonina on imune responsiveness,** *Curr Opin Investig Drugs*, v. 7, p. 423-431.2006.

CHECKLEY, S. **The neuroendocrinology of depression and chronic stress.** *Br Med Bull*.v.52(3), p.597-617, 1996.

CHEN, C.Q.; FICHNA. J.; BASHASHATI, M.; LI, Y.Y.; STORR, M. **Distribution, function and physiological role of melatonin in the lower gut,** *J Gastroenterol*, v. 34, p.3888-3898, 2011.

CHEN,Y.; WANG,Y.; ZHUANG Y.; ZHOU, F.; HUANG L. **Mifepristone increases the cytotoxicity of uterine natural killer cells by acting as a glucocorticoid antagonist via ERK activation.** *Plos One* , v. 7, e- 36413, p. 1-10, 2012.

CRESPO, E.G. & VIEGAS, E.G. **Evolução do complexo pineal dos vertebrados.** *Col Nat, Nova Série*, v. 16, p.5-86, 1991.

COOPER, R.A. E. **The human pineal gland and pineal cysts.** *J Anat*, v.67, p. 28-46, 1932.

DA SILVA CRUZ-MACHADO, S.; CARVALHO-SOUZA, C.E.; TAMURA, E.K.; PINATO, L.; CECOM, E.; FERNANDES, P.A.; DE AVELLAR, M.C.; FERREIRA, Z.S.; MARKUS, R.P. **TLR4 and CD14 receptors expressed in rat pineal gland trigger NF κ B pathway.** *J pineal Res*, v. 49, p. 182-192, 2010.

DESCARTES, R. **As paixões da alma. In os pensadores.** Ed. Civita, Abril Cult e Indust, v. 15, p. 238, 1973.

DE KLOET, E.R.; REUL, J.M. **Feedback action and tonic influence of corticosteroids on brain function: a concept arising from the heterogeneity of brain receptor systems.** *Psychoneuroendocrinology*, v. 12, p. 83-105, 1987.

ERWIG, L. P. & HENSON, P. M. **Immunological consequences of apoptotic cell phagocytosis.** *Am. J. Pathol*, v.171, p. 2-8, 2007.

FÁLCON, J. **Cellular circadian clocks in the pineal.** *Prog Neurobiol*, v.58, p.121-162, 1999.

FERNANDES, P.A.C.M.; CECOM, E.; MARKUS, R.P.; FERREIRA, Z.S. **Effect of TNF-alpha on the melatonin synthetic pathway in the rat pineal gland: basis for a 'feedback' of the immune response on circadian timing.** *J Pineal Res*, v. 41, p. 344- 350.2006.

FERNANDES, P.A.C.M. **Regulação da produção hormonal da glândula pineal de ratos por moduladores do processo inflamatório.** *Tese apresentada ao Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo*, 2009.

FERREIRA, Z.S.; FERNANDES, P.A.; DUMA, D.; ASSREUY, J.; AVELLAS, M.C.; MARKUS, R.P. **Corticosterone modulates noradrenaline-induced melatonin synthesis through inhibition of nuclear factor kappa B.** *J Pineal Res*, v.38, p.182-188, 2005.

FISHER, S.P.; FOSTER, R.G.; PEIRSON, S.N. **The circadian control of sleep.** *Handb Exp Pharmacol*, v. 217, p.157-183, 2013.

GERBER, J. S. & MOSSER, D. M. **Reversing lipopolysaccharide toxicity by ligating the macrophage Fcγ receptors.** *J. Immunol*, v.166, p. 6861–6868, 2001.

GHOSH, S.; MAY, M.J.; KOPP, E.B. **NFκB and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses.** *Annu. Rev. Immunol*, v. 16, p. 225–260, 1998.

GOMEZ-CORVERA, A.; CERRILLO, I.; MOLINERO, P. **Evidence of immune system melatonin production by two pineal melatonin deficient mice, C57BL/6 and Swiss strains.** *J Pineal Res*, v.47, p. 15-22, 2009.

GOODMAN & GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica.** Rio de Janeiro: *Mc Graw Hill*, v. 10, p. 422- 424, 2003.

GOTTLICHER, M.; HECK, S.; HERRLICH, P. **Transcriptional cross-talk, the second mode of steroid hormone receptor action.** *J Mol Med*, v.76, p. 480–489, 1998.

GUYTON, A.C.; Hall, J. E. **Tratado de fisiologia médica,** Guanabara Koogan, v.11, p.944-960, 2006.

HACK, C.E.; AARDEN, L.A.; THIJS, L.G. **Role of cytokines in sepsis.** *Adv Immunol*, v. 66, p. 101-195, 1997.

HASKO, G.; PACHER, P.; DEITCH, E. A. & VIZI, E. S. **Shaping of monocyte and macrophage function by adenosine receptors.** *Pharmacol. Ther.*, v. 113, p. 264–275, 2007.

HAYDEN, M.S. & GHOSH, S. **Shared principles in NF-KappaB signaling.** *Cell*, v.132, p. 344-362, 2008.

HUANG, H.; WANG, Z.; WENG, S.J.; SUN, X.H.; YANG, X.L. **Neuromodulatory role of melatonina in retinal information processing.** *Prog Retin Eye Res*, v. 32, p. 64-87, 2012.

KARSTEN, C.M.; KOHL, J. **The immunoglobulin, IgG Fc receptor and complement triangle in autoimmune diseases.** *Immunobiology*, v. 217, p.1067-1079, 2012.

KLEIN D.C. & WELLER, J.L. **Rapid light-induced decrease in pineal serotoninina N - acetyltransferase activity.** *Science*, V.177, p.532-533, 1972.

KLEIN D.C. **Circadian rhythms in the pineal gland.** In: Krieger, D.T. ed. **Endocrine rhythms**, New York, *Raven Press*, p. 203-224, 1979.

KLEIN, D.C. **Photoneural regulation of the mammalian pineal gland.** *Ciba Found Symp*, v. 117, p. 38-56, 1985.

KONIG, H.; PONTA, H. RAHMSDORF, H.J.; HERRLICH, P. **Interference between pathway-specific transcription factors: glucocorticoids antagonize phorbol ester-induced AP-1 activity without altering AP-1 site occupation in vivo.** *EMBO J*, v. 11, p. 2241–2246, 1992.

KONTUREK, S.J.; KONTUREK, P.C.; BRZOZOWSKI, T. **Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and in healing of chronic gastric ulcers.** *J Physiol Pharmacol*, v. 57, p. 51-66, 2006.

KROZOWSKI, Z.S. & FUNDER, J.W. **Renal mineralocorticoid receptors and hippocampal corticosterone-binding species have identical intrinsic steroid specificity.** *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 80, p. 6056-6060, 1983.

KUMAR, R. & THOMPSON, E.B. **Gene regulation by the glucocorticoid receptor: structure, function relationship.** *J Steroid Biochem Mol Biol*. V. 94, p. 383-394, 2005.

KVETNOY, I.M. **Extrapineal melatonin: location and role within diffuse neuroendocrine system.** *Histochem J*, v.31, p. 1-12, 1999.

LERNER, A.B, CASE, J.D, TAKAHASHI, D. **Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes.** *J Am Chem Soc*, v.80, p. 2057-2058, 1958.

MACCHI, M.M.; BRUCE, J.N. **Human pineal physiology and functional significance of melatonin.** *Front Neuroendocrinology*, v.25 (3-4), p. 95-177, 2004.

LOKE, P.; GALLAGHER, I.; NAIR, M.G.; ZANG, X.; BROMBACHER, F.; MOHRS, M.; ALLISON, J.P.; ALLEN, J.E. **Alternative activation is an innate response to injury that requires CD4⁺ T cells to be sustained during chronic infection.** *J. Immunol*, v.179, p. 3926–3936, 2007.

LOPES, C.; DELYRA, J.L.; MARKUS, R.P. & MARIANO, M. **Circadian rhythm in experimental chronic inflammation is modulated by melatonin.** *J Pineal Res*, v.23, p.72-78, 1997.

LOPES, C.; MARIANO, M. & MARKUS, R.P. **Interaction between the adrenal and the pineal gland in chronic experimental inflammation induced by BCG in mice.** *Inflammation Res*, v. 50, p. 6-11, 2001.

LOTUFO, C.M.; LOPES, C.; DUBOCOVICH, M.L.; FARSKY, S.H.; MARKUS, R.P. **Melatonin and N-acetylserotonin inhibit leukocyte rolling and adhesion to rat microcirculation.** *Eur J Pharmacol*, v.430, p.351-357, 2001.

LOVENBERG, W.; JEQUIER, E. & SJOERDSMA, A. **Tryptophan hidroxilation: measurement in pineal gland, brainstem, and carcinoid tumor.** *Science*, v.155, p. 217-219, 1967.

MACKANESS, G. B. **Cellular immunity and the parasite.** *Adv. Exp. Med. Biol*, v. 93, p.65–73, 1977.

MAITRA, S.K.; HASAN, K.N. **The role of melatonin as a hormone and an antioxidant in the control of fish reproduction.** *Front Endocrinol (Lausanne)*, v. 4, p. 7-38, 2016.

MALDONADO, M.D.; GARCIA-MORENO, H.; CALVO, J.R. **Melatonin protects mast cells against cytotoxicity mediated by chemical stimuli PMACI: possible clinical use.** *J Neuroimmunol*, v. 262, p. 62-65, 2013.

MARKUS, R. P.; CECÓN, E. **O tempo biológico e a defesa do organismo: uma conversa bidirecional entre a glândula pineal e o sistema imunológico.** *Cienc. Cult. [online]*, v.65, n.1, p. 52-55. ISSN 0009-6725, 2013.

MARKUS, R.P.; FERREIRA, Z.S.; FERNANDES, P.A.C.M.; CECÓN, E. **The immune-pineal axis: a shuttle between endocrine and paracrine melatonin sources.** *Neuroimmunomodulation*, v.14, p.126-133, 2007.

MARTINEZ, F. O.; SICA, A.; MANTOVANI, A. & LOCATI, M. **Macrophage activation and polarization.** *Front. Biosci*, v.13, p. 453–461, 2008.

MARTINS, E. JR.; FERREIRA, A.C.; SKORUPA, A.L.; AFECHE, S.C.; CIPOLLA NETO, J.; COSTA ROSA, L.F. **Tryptophan consumption and indoleamines production by peritoneal cavity macrophages.** *J Leukoc Biol*, v.75, p.1116–1121, 2004.

MAUBEC, E.; LAOUÉNAN, C.; DESCHAMPS, L.; NGUVEN, V.T.; SCHEER-SENVARICH, I.; WACKENHEIM-JACOBS, A.C.; STEFF, M.; DUHAMEL, S.; TUBIANA, S.; BRAHIMI, N.; LECLERC-MERCIER, S.; CRICKX, B.; PERRET, C.; ARACTINGI, S.; ESCOUBET, B.; DUVAL, X.; ARNAUD, P.; JAISSER, F.; MENTRÉ, F.; FARMAN, N. **Topical mineralocorticoid receptor blockade limits glucocorticoid-induced epidermal atrophy in human skin.** *J Invest dermatol*, v. 135, p. 1781-1789, 2015.

MEDZHITOV, R. & JANEWAY, C. JR. **Innate immune recognition: mechanisms and pathways.** *Immunol Rev*, v.173, p. 89 -97. 2000.

MEFFERT, M.K. & BALTIMORE, D. **Physiological functions for brain NF-kappaB.** *Trends Neurosci*, v. 28, p. 37-43, 2005.

MORRIS, C.J.; AESCHBACH, D.; SCHEER, F.A. **Circadian system, sleep and endocrinology.** *Mol Cell Endocrinol*, v. 349, p. 91-104, 2012.

MOSSER, D.M.; EDWARDS, J.P.; **Exploring the full spectrum of macrophage activation.** *Nat Rev Immunol*, v. 8, p.958-969, 2008.

MUXEL, S.M.; LAPA, M.A.P.; MONTEIRO, A.W.A.; CECON, E.; TAMURA, E.K.; FLOETER-WINTER, L.M.; MARKUS, R.P. **NF-κB drives the synthesis of melatonin in RAW 264.7 macrophages by inducing the transcription of the Arylalkylamine-N-Acetyltransferase (AA-NAT) gene,** *Jornal list Plos One*, v. 7 (12), PMC 3528721. 2012.

NEMEROFF, C.B. **The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions.** *Mol Psychiatry*, v.1(4), p.336, 1996.

OGAWA, S.; LOZACH, J.; BENNER, C.; PASCUAL,G.; TANGIRALA, R.K.; WESTIN,S.; HOFFMANN, A.; SUBRAMANIAM, S. DAVID, M.; ROSENFELD, M.G.; GLASS, C.K. **Molecular determinants of crosstalk between nuclear receptors and Toll-like receptors.** *Cell*, v.122, p. 707–721, 2005.

ORO, A.E.; HOLLENBERG, S.M. & EVANS, R.M. **Transcriptional inhibition by a glucocorticoid receptor-beta-galactosidase fusion protein.** *Cell*, v.55, p.1109-1114, 1988.

O'SHEA, J. J. & MURRAY, P. J. **Cytokine signaling modules in inflammatory responses.** *Immunity*, v.28, p.477–487, 2008.

PARK ,Y.M. **CD36, a scavenger receptor implicated in atherosclerosis.** *Exp Mol Med*, v.46, p.99, 2014.

PAWLAK, J.; SINGH, J.; LEA, R.W.; SKWARLO-SONTA, K . **Effect of melatonin on phagocytic activity and intracellular free calcium concentration in testicular macrophages from normal and streptozotocin-induced diabetic rats.** *Mol Cell Biochem*, v.275, p. 207-213, 2005.

PEETERS, B.W.; RUIGT, G.S.; CRAIGHEAD, M.; KITCHENER,P. **Differential effects of the new glucocorticoid receptor antagonista ORG34517 and RU486 (mifepristone) on glucocorticoid receptor nuclear translocation in the AtT20 cell line.** *Ann N Y Acad Sci*, v.1148, p. 536-541, 2008.

PIRES-LAPA, M.A.; TAMURA, E.K.; SALUSTINO, E.M.A.; MARKUS, R.P. **Melatonin synthesis in human colostrum mononuclear cells anhances dectin-1-mediated phagocytosis by mononuclear cells.** *J. Pineal Res*, v.55. p.240-246, 2013.

PONTES, G.N.; CARDOSO, E.C.; CARNEIRO-SAMPAIO, M.S.M.; MARKUS, R.P. **Injury switches melatonin production source from endocrine (pineal) to paracrine (phagocytes) - melatonin in human colostrum and colostrum phagocytes.** *J.Pineal Res*, v.41, p.136-141, 2006.

RAIKHLIN, N.T.; KVETNOY, I.M.; TOLKACHEV, V.N. **Melatonin may be synthesised in enterochromaffin cells.** *Nature*, v.255, p.344–345, 1975.

RAIKHLIN, N.T.; KVETNOY, I.M. **Melatonin and enterochromaffine cells.** *Acta Histochem*, v.55, p.19–24, 1976.

RAMAMOORTHY, S. & CIDLOWSKI, J.A. **Exploring the molecular mechanisms of glucocorticoid receptor action from sensitivity resistance.** *Endocr Dev*, v. 24, p. 41-56, 2013.

RAMAMOORTHY, S. & CIDLOWSKI, J. **Corticosteroids-mechanisms of action in health and disease.** *Rheum Dis Clin North Am*, v. 42, p. 15-31, 2016.

RAY, A. & PREFONTAINE, K.E. **Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor.** *Proc Natl Acad Sci USA*, v.91, p. 752-756, 1994.

RAO, N.A.; MCCALMAN, M.T.; MOULOS, P.; FRANCOIS, K.J.; CHATZIOANNOU, A.; KOLISIS, F.N.; ALEXIS, M.N.; MITSIOU, D.J STUNNENBERG, H.G. **Coactivation of GR na NFκB alters the repertoire of their biding sites ant target genes.** *Genome res*, v. 21, p.1404-1416, 2011.

REUL, J.M.; DE KLOET, E.R. **Two receptor systems for corticosterone in rat brain microdistribution and differential occupation.** *Endocrinology*, v. 117, p. 2505-2511, 1985.

RIBELAYGA, C.; PÉVET, P. & SIMONNEAUX, V. **HIOMT drives the photoperiodic changes in the amplitude of the melatonin peak of the Siberian hamster.** *Am. J. Physiol*, v.278, p.1339-1345, 2000.

SANCHEZ-HIDALGO, M.; DE LA LASTRA, C.A.; CARRASCOSA-SALMORAL, M.P.; NARANJO, M.C.; GOMEZ-CORVERA, A.; CABALLERO, B.; GUERRERO, J.M. **Age-related changes in melatonin synthesis in rat extrapineal tissues.** *Exp Gerontol*, v.44, p.328–334, 2009.

SCHEINMAN, R.I.; COGSWELL, P.C.; LOFQUIST, A.K. & BALDWIN, A.S. JR. **Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids.** *Science*, v. 270, p. 283-286, 1995.

SCHEINMAN, R. I.; GUALBERTO, A.; JEWELL, C.; CILOWSKI, J.A; BALDWIN, A. S. JR. **Characterization of mechanisms involved in transrepression of NFkB by activated glucocorticoid receptors.** *Mol Cell Bio*, v.15, p. 943-953, 1995.

SMANS, L.C. & ZELISSEN, P.M. **Thomas Addison and the adrenal gland.** *Ned Tijdschr Geneeskde*, v. 156, p. A 4778, 2012.

SMOAK K.A.; CIDLOWSKI J.A. **Mechanisms of glucocorticoid receptor signaling during inflammation.** *Mech.Ageing Dev*, v.125 (10-11), p. 697-706, 2004.

SNYDER, S.H.; & AXELROD,J. **A sensitive assay for 5-hydroxytryptophan decarboxylase.** *Biochem Pharmacol*, v.13, p.805-806, 1964.

SOARES JR, J.M.; SIMÕES, R.S.; SIMÕES, M.J.; BARACAT , E.C. **Aspectos moleculares dos receptores de melatonina na reprodução.** *Femina*, v.31 (6), p.495-500, 2003.

SOKOLOVIC, D.; DJORDJEVIC, B.; KOCIC, G.; VELJKOVIC, A.; MARINKOVIC, M.; BASIC, J.; JEVTOVIC-STOIMENOV, T.; STANOJKOVIC, Z. SOKOLOVIC, D.M.; PAVLOVIC, V.; DJINDJIC, B.; KRSTIC, D.

Melatonin protects rat thymus against oxidative stress caused by exposure to microwaves and modulates proliferation/apoptosis of thymocytes. *Gen Physiol Biophys*, v.32, p. 79-90, 2013.

SPIGA, F.; KNIGHT, M.D.; DROSTE, K.S.; CONWAY-CAMPBELL, B.; KERSHAW, Y.; MACSWEENEY, P. C.; THOMSON, J.F.; CRAIGHEAD, M.; PEETERS, M.M. W.B.; LIGHTMAN, L., S. **Differential effect of glucocorticoid receptor antagonists on glucocorticoid receptor nuclea translocation and DNA biding.** *J Psychopharmacol*, v. 25, p. 211–221, 2011.

STERNBERG, E. M. **Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens.** *Nature Rev. Immunol*, v.6, p.318–328, 2006.

STRASSMANN, G.; PATIL-KOOTA, V.; FINKELMAN, F.; FONG, M. & KAMBAYASHI, T. **Evidence for the involvement of interleukin 10 in the differential deactivation of murine peritoneal macrophages by prostaglandin E2.** *J. Exp. Med.* v.180, p.2365–2370, 1994.

SUHONG, Y.; XINGTIAN, Y.; YEWEI, Z.; FANGWEI, X.; YUSHENG, L.; TING, Y.; CUICUI, Y.; JINGWEI, S.; YU, G.; FAN M.O.; GUONENG C.; PATRICK, J. S.; LEE, J. **Systems pharmacology of mifepristone (RU486) reveals its 47 hub targets and network: Comprehensive analysis and pharmacological focus on FAK-Src-Paxillin complex.** *Sci Rep*, v. 7830, p.1-10, 2015.

TAMURA, E.K.; CECON, E.; MONTEIRO A.W., SILVA C.L., MARKUS R.P. **Melatonin inhibits LPS-induced NO production in rat endothelial cells.** *J Pineal Res*, v. 46, p. 268-274, 2009.

TANAKA, J.; FUJITA, H.; MATSUDA, S.; TOKU, K.; SAKANAKA, M. MAEDA, N. **Glucocorticoid- and mineralocorticoid receptors in microglial cells;**

the two receptors mediate differential effects of corticosteroids. *Glia*, v. 20, p. 23-37, 1997.

TURNBULL, A.V.& RIVIER, C.L. **Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action.** *Physiol Rev*, v. 79, p. 1-71, 1999.

UNDERHILL, D.M.; GORDON,S.; IMHOF,B.A.; NÚÑEZ, G.; BOUSSO, P. **Élie Metchnikoff (1845-1916): celebrating 100 years of cellular immunology and beyond.** *Nat Rev immunol*, v.16 (10), p.651-656, 2016.

VOISIN, P.; NAMBOODIRI, M.A.A.; & KLEIN, D.C. **Arylamine N-acetyltransferase and aryl-alkylamine N-acetyltransferase in the mammalian pineal gland.** *J biol chem*, v.259, p. 10913-10918, 1984.

WISSINK, S.; VAN HEERDE, E.C.; SCHMITZ, M.L.; KALKHOVEN, E.;VAN DER BURG, B.; BAEUERLE, P.A. & VAN DER SAAG, P.T. **Distinct domains of the RelA NF-kappaB subunit are required for negative cross-talk and direct interaction with the glucocorticoid receptor.** *J Biol Chem*, v. 272, p. 22278-22284, 1997.

YUWILER, A. **Effects of steroids on serotonin-N-acetyltransferase activity of pineals in organ culture.** *J Neurochem*, v. 52, p. 46-53, 1989.

ZHONG, H.J.; WANG, H.Y.; YANG,C.; ZHOU, J.Y.; JIANG, J.X. **Low concentrations of corticosterone exert stimulatory effects on macrophage function in a manner dependent on glucocorticoid receptors.** *Int J Endocrinol*, v.2013, p.9-18, 2013.