ANA MARIA DE SOUZA LOPES

Efeitos do exercício físico sobre a atividade metabólica do tecido adiposo e muscular de ratos pinealectomizados tratados ou não com melatonina

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração:
Fisiologia Humana

Orientador:
Prof. Dr. José Cipolla Neto

São Paulo

2009

RESUMO

LOPES, A.M.S. **Efeitos do exercício físico sobre a atividade metabólica do tecido adiposo e muscular de ratos pinealectomizados tratados ou não com melatonina.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Nesse estudo investigamos o efeito do exercício físico no metabolismo do tecido adiposo e muscular de ratos pinealectomizados tratados ou não com melatonina. Ratos Wistar subdivididos em seis subgrupos: 1) controle sedentários (Csd); 2) controle treinados (Cex); 3) pinealectomizados sedentários (Psd); 4) pinealectomizado treinados; 5) pinealectomizados sedentários tratados com melatonina e 6) pinealectomizados treinados tratados com melatonina. Sacrificados ao final de oito semanas de treino. Amostras de sangue coletadas para determinações plasmáticas (glicemia, colesterol e triglicérides). Amostras do tecido adiposo peri epididimal retiradas para isolamento de adipócitos, submetidos a testes biológicos *in vitro* (captação de glicose estimulada por insulina, lipólise, oxidação e lipogênese, e para avaliação da atividade máxima das enzimas G6PDH e málica. Amostras do músculo sóleo retiradas para avaliação da atividade da enzima citrato sintase e testes biológicos (oxidação, captação de glicose e síntese de glicogênio), do músculo gastrocnêmio e fígado para dosagem de glicogênio. O treinamento físico mostrou-se eficiente através do aumento da velocidade máxima, atingida no final do treinamento, e da atividade da citrato sintase no músculo. Entretanto a adaptação dos animais pinealectomizados foi significantemente menor e quando estes animais foram tratados com melatonina a adaptação recuperou-se, equivalendo à dos animais controles. O treinamento promoveu redução do peso corporal e um aumento da resposta lipolítica nos animais intactos e não ocorrida nos animais pinealectomizados, quando tratados com melatonina o quadro foi revertido. A captação de glicose (2-DG), estimulada pela insulina, mostrou-se reduzida com a pinealectomia e houve uma recuperação funcional induzida pelo tratamento com a melatonina, tanto no tecido adiposo como no tecido muscular. O treinamento promoveu um aumento na taxa de oxidação, e houve uma redução da taxa de oxidação de acetato em adipócitos provocada pela pinealectomia que foi revertida pela administração de

melatonina, e na musculatura estriada esquelética, a queda pela ausência de melatonina é muito acentuada, e a recuperação também é plena com a reposição. As determinações plasmáticas dos animias pinealectomizados apresentaram taxas aumentadas de glicemia, colesterol e triglicérides e quando tratados com melatonina o quadro foi revertido. O treinamento promoveu um aumento dos estoques de glicogênio hepático e muscular e a pinealectomia reduziu os níveis de glicogênio desses animais, tendo o tratamento com melatonina revertido o quadro.

Em conclusão, os resultados demonstram que a glândula pineal tem um papel na regulação do metabolismo de lipídeos e carboidratos em resposta ao treinamento físico, a remoção da glândula causa alterações na resposta adaptativa do tecido adiposo e muscular e o tratamento com melatonina é capaz de reverter o desajuste metabólico instaurado pela pinealectomia.

Palavras-chave: Glândula Pineal; Melatonina; Exercício Físico; Tecido Adiposo; Tecido Muscular.

ABSTRACT

LOPES, A.M.S. **Effects of exercise on the metabolic activity of adipose tissue and muscle of rats treated or not with melatonin**. Master Tesis – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

The current study investigated the effects of exercise on the adipose tissue and muscle metabolism in pinealectomized rats treated or not with melatonin. Wistar rats divided into six groups: 1) sedentary control (CSD), 2) trained control (Cex), 3) sedentary pinealectomized (PSD), 4) trained pinealectomized, 5) sedentary pinealectomized treated with melatonin and 6) trained pinealectomized treated with melatonin. The animals were sacrificed at the end of eight weeks of training. Blood samples of were collected for plasma determinations (glucose, cholesterol and triglycerides). Samples of peri-epididymal adipose tissue were removed for isolation of adipocytes and subjected to biological *in vitro* testing (uptake of glucose stimulated by insulin, lipolysis, oxidation and lipogenesis, and to determine maximal enzyme activity of G6PDH and malic). Samples of the soleus muscle were removed for determination of maximal enzyme citrate synthase activity and other biological tests (oxidation, glucose uptake and glycogen synthesis). Samples of the gastrocnemius muscle and liver were collected for determination of glycogen. The physical training was efficient by increasing the maximum speed reached by the end of training period, and the activity of citrate synthase in muscle. However, the adaptation to the exercise in pinealectomized animals was significantly lower and when these animals were treated with melatonin, levels equal to the control groups were obtained. The training promoted reduction of body weight and increased lipolytic response in intact animals and not in pinealectomized animals. When these animals were treated with melatonin the situation was reverted. The uptake of glucose (2-DG) stimulated by insulin, was reduced by the pinealectomy and had a functional recovery induced by treatment with melatonin, both in adipose and muscular tissues . The training promoted an increase in the rate of oxidation, and there was a reduction in the rate of acetate oxidation in adipocytes caused by pinealectomy which was reverted by the administration of melatonin. In the skeletal muscle, the fall by the lack of melatonin is very strong and full recovery is attained with melatonin replacement. Pinealectomized animals showed elevated rates of plasma glucose,

cholesterol and triglycerides. When animals were treated with melatonin the picture was reverted. The training promoted an increase in liver glycogen stores and muscle in control rat whereas pinealectomy inhibited this effect.. However, when the rats were treated with melatonin the picture was reverted.

In conclusion, the results show that the pineal gland has an essential role in the metabolic adaptation to physical training, since the removal of the gland causes changes in the adaptive response in adipose and muscle tissues. The treatment of pinealectomized animals with melatonin drunk in the nocturnal water, was able to reverte the metabolic mismatch introduced by pinealectomy.

Key words: Pineal Gland; Melatonin; Physical Activity; Adipose Tissue; Muscle Tissue.

INTRODUÇÃO

Glândula Pineal

O órgão pineal origina-se, embriologicamente, de uma evaginação dorsal do teto do III ventrículo e no cérebro adulto constitui, junto com os núcleos habenulares, a maior parte do epitálamo (EKSTRÖM e MEISSL, 2003). Acompanhando sua evolução, vemos que em lampreias, peixes cartilaginosos e ósseos, anfíbios, tartarugas, lagartos e pássaros, o órgão pineal é diretamente fotossensível.

Nos roedores, a glândula pineal apresenta três porções distintas que formam o complexo pineal: pineal profunda, pedúnculo pineal e pineal superficial. A pineal profunda, ou lâmina intercalar, está localizada entre as comissuras posterior e habenular, delimitando uma região ventricular chamada de recesso pineal, e da sua porção dorsal emerge o pedúnculo pineal que se comunica com a pineal superficial (MOLLER, 1992). Nos mamíferos, entretanto, o órgão perde sua capacidade fotorreceptora e passa a estar sob o controle do sistema nervoso central, notadamente do simpático cervical. Assim, as influências do ciclo de iluminação ambiental passam a se dar de forma indireta, através de projeções da retina para estruturas diencefálicas e destas para os neurônios pós-ganglionares simpáticos que podem, através da inervação simpática periférica, atingir a glândula pineal (VOLLRATH, 1981). Então vemos que o tipo celular majoritário do corpo pineal, o pinealócito, teve uma evolução conjunta com a irradiação dos vertebrados, com uma perda gradual da função fotorreceptora e um aumento da função neuroendócrina, presente em todos esses animais (COLLIN, 1969, 1971).

O controle da função hormonal da glândula é assim feito pelo ciclo dia-noite. Tal controle é bastante refinado, com o seu hormônio, a melatonina, sendo produzido na maior parte das espécies durante a noite. Dessa forma, a melatonina circulante tem também seu perfil plasmático variável de acordo com as noites mais longas ou mais curtas típicas das diversas estações do ano (REITER, 1993). Fica claro assim a função fisiológica da glândula pineal: sinalizar para o meio interno pela presença e ausência diária da melatonina na circulação e nos diversos líquidos corpóreos, se é noite ou dia no meio exterior e, através da duração do seu perfil secretório noturno, qual é a estação do ano.

O sistema circadiano, formado pelos núcleos supraquiasmáticos que são sincronizados ao ciclo claro-escuro pela via retino-hipotalâmica (JOHNSON *et al.,* 1988, SPEH e MOORE, 1993), temporiza o sistema neural que controla a síntese e secreção de melatonina que começa nos núcleos paraventriculares hipotalâmicos que se projetam, direta e indiretamente, sobre o simpático cervical pré-ganglionar situado na coluna intermédio lateral da medula torácica alta. Esses neurônios, por sua vez, projetam-se sobre o gânglio cervical superior que, através de ramos carotídeos internos e nervos conários, inervam a pineal. O neurotransmissor principal dessas terminações simpáticas é a noradrenalina, que estimula a síntese de melatonina agindo sobre os adrenoceptores β e α (subtipos β1 e α1), presentes na membrana dos pinealócitos.

Esse controle noradrenérgico simpático sobre a pineal varia circadianamente, sendo que, na transição do claro para o escuro, a densidade e afinidade dos receptores β_1-adrenérgicos são máximas (GONZALEZ *et al.*, 1988). Encontram-se, ainda adreno-receptores do tipo α1 (subtipo α1B). Esses receptores, extremamente importantes por seu efeito potencializador da estimulação β-adrenérgica, não apresentam variação circadiana.

Em função desse papel de temporizador do meio interno, a glândula pineal tem um papel mediador entre fenômenos cíclicos ambientais e processos regulatórios fisiológicos. Acredita-se, através da secreção de melatonina, estar envolvida na modulação das diversas funções fundamentais para sobrevivência do indivíduo e da espécie: regulação de fenômenos circadianos e sazonais associadas à reprodução (REITER, 1991); termorregulação (RALPH, 1984), regulação do sistema cardiovascular (MCKINLEY *et al.,* 1990); regulação do sistema imunológico (FRANSCHINI *et al.,* 1990), regulação endócrina e metabólica (BORGES-SILVA *et al.,* 2005).

Melatonina

A noradrenalina liberada no interstício da glândula interage principalmente com os adrenoreceptores do tipo β_1 e α_1 (KLEIN, *et al.,* 1983; VANECEK, *et al.,* 1985). Com a ativação do adrenoreceptor β_1 mediado pela proteína G estimulatória (Gs), ocorre um aumento na quantidade intracelular de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) pela ativação da enzima adenilato ciclase (AC). Esse efeito é potencializado pela estimulação

dos adrenoceptores α (α_{1B}), cujos efeitos são mediados por uma proteína Gq, levando à ativação da fosfolipase C, promovendo a hidrólise de fosfoinositídios de membrana, e conseqüente produção de trifosfato de inositol (IP_3) e diacilglicerol (DAG). O IP_3, atuando em seus receptores no retículo endoplasmático, induz a liberação do cálcio desses estoques, tendo como conseqüência um aumento do cálcio citoplasmático. O aumento do cálcio induzido por noradrenalina caracteriza-se por um pico seguido de um platô que parece ser devido ao influxo de cálcio pelos canais da membrana plasmática responsáveis pela reposição dos estoques intracelulares (GOMPERTS *et al.,* 2002).

O cálcio e o diacilglicerol ativam a proteína quinase C (PKC), potencializando o aumento do AMPc, pois essa enzima pode fosforilar a adenilato ciclase ou a proteína Gs, ativando-as. O AMPc e o cálcio intracelular são fundamentais para o processo de ativação da enzima AANAT. Em ratos, esse processo sinérgico entre AMPc e cálcio resulta na transcrição e, conseqüentemente, na síntese e ativação da AANAT **(**BORJIGIN *et al.,* 1995; KLEIN *et al.,* 1983; KLEIN *et al.,* 1988; SUGDEN *et al.,* 1985; SUGDEN *et al.,* 1988; VANECEK *et al.,* 1985). A AANAT quando fosforilada pela PKA, interage com a proteína 14-3-3 formando um complexo protetor contra proteólise proteassomal (KLEIN *et al.,* 2002) Após o pico agudo de AMPc, ocorre uma redução inicial na quantidade de AMPc provocada principalmente: pela imediata dessensibilização dos receptores α_1, devida à ação da PKC (ativada pelo cálcio e pelo diacilglicerol), pela dessensibilização lenta dos receptores β_1 e também pelo aumento no metabolismo do AMPc por fosfodiesterases (SUDGEN, 1989). No entanto, a indução máxima da atividade da AANAT ocorre aproximadamente 4 a 6 horas após o início da estimulação noradrenérgica, quando os níveis de AMPc já não são tão elevados (KLEIN *et al.,* 1978).

Após a segunda metade da noite um mecanismo de regulação inibitória que acontece devido à desfosforilação da CREB. Esse processo ocorre em paralelo a um mecanismo inibitório direto envolvendo a síntese da proteína ICER (*inducible cAMP early repressor*), a qual inibe a transcrição do gene da AANAT, e causa uma conseqüente redução na atividade da AANAT. Esses dois fatores contribuem para a queda circadiana da atividade da AANAT que ocorre no fim da noite (KLEIN *et al.,* 1970),

Os eventos pós-transcricionais também têm um papel importante na regulação da AANAT, a fotoestimulação noturna reduz a atividade da enzima sem alterar a quantidade

de RNAm (Romero *et al.,* 1975). A AANAT estabiliza sua atividade enzimática, através da fosforilacão pela PKA, devido à conseqüente associação com a proteína 14-3-3, formando um complexo AANAT/14-3-3 (GANGULY *et al*., 2001). Essa associação impede que a AANAT seja metabolizada por um mecanismo de proteólise proteassomal (GASTEL *et al.,* 1998).

A melatonina (N-acetil 5-metoxitriptamina) é uma indolamina, de peso molecular 232,3, é sintetizada a partir do triptofano que é transformado em serotonina após uma hidroxilação (catalisada pela triptofano hidroxilase) e uma descarboxilação subseqüente. A serotonina, por sua vez, é acetilada pela AANAT e, a seguir, tem o hidrogênio do grupamento hidroxila trocado por metil pela hidroxi-indol-oxi-metiltransferase (HIOMT) A HIOMT por sua vez, age na N-acetilserotonina (NAS) transformando-a em melatonina (AFECHE *et al.,* 2008).

Na glândula pineal do rato, a enzima triptofano hidroxilase (TPH) apresenta um ritmo circadiano de atividade, com valores mais elevados no período noturno, fazendo com que a síntese de 5-hidroxitriptofano concentre-se durante a noite. Esse aumento da atividade de cerca de 2 vezes durante à noite deve-se tanto à sua síntese aumentada, pela indução de transcrição gênica e síntese protéica, como à ativação da enzima por fosforilação (BESANÇON *et al.,* 1996; SHIBUYA *et al.,* 1978).

A atividade da HIOMT apresenta um aumento de 1.5 vezes, enquanto o seu RNAm tem um aumento de 2 vezes (RIBELAYGA *et al.,* 1999; Simonneaux e RIBELAYGA, 2003). O ritmo circadiano do RNAm da HIOMT é dependente da estimulação adrenérgica, através da ativação do receptor β-adrenérgico, e do aumento na concentração de AMPc. Já a regulação do ritmo de atividade da enzima HIOMT parece ser dependente de eventos pós-transcricionais, induzidos por neurotransmissores que aumentam a concentração intracelular de cálcio (SIMONNEAUX *et al.,* 1999).

A AANAT é uma enzima instável e a manutenção de sua atividade depende de muitos fatores. Quando cessa a estimulação simpática, ou se administram antagonistas adrenérgicos ou se submete o animal a uma fotoestimulação no meio da noite, a atividade da AANAT cai com uma meia vida de aproximadamente 3 min (CIPOLLA-NETO e AFECHE, 2007; KLEIN e WELLER, 1972; KLEIN *et al.,* 1978; PARFITT *et al.,* 1976).

Considera-se que toda a melatonina produzida é imediatamente secretada, uma vez que é altamente lipossolúvel. Esse fato explica o porquê ela não pode ser detectada por métodos histoquímicos celulares em grânulos de secreção nos pinealócitos. A melatonina é liberada nos espaços perivasculares da glândula, difundindo-se, para a circulação. Em ratos a melatonina liquórica parece vir tanto através da circulação sanguínea quanto por secreção direta da glândula no recesso pineal. O seu transporte plasmático se dá principalmente ligado à proteínas, em especial a albumina.

A concentração plasmática quando do pico noturno é, no rato, de aproximadamente 100 pg/ml ($0,43 \times 10^{-9}$M). No entanto, deve-se ter cuidado ao considerar esta como a única dose "fisiológica", uma vez que, em certos tecidos e compartimento, a melatonina pode ser encontrada em concentrações mais altas (até 100 a 1000 vezes maior), como no líquor, por exemplo.

A meia vida da melatonina circulante é de aproximadamente 20 minutos sendo que sua metabolização periférica se dá essencialmente pela transformação hepática (aproximadamente 90% da melatonina circulante) em 6-hidroximelatonina, que após conjugação com sulfatos (a maior parte) ou com glucoronídeos é excretada na urina. O metabólito urinário, 6-sulfatoximelatonina, é um importante elemento a ser usado em estudos clínicos não invasivos. No sistema nervoso central e na própria glândula pineal a melatonina pode ser transformada em quinuraminas sob a ação da 2,3 indolamina dioxigenase.

A melatonina pode agir nas células por meio de receptores específicos. Nos mamíferos estão bem caracterizados três tipos de receptores de membrana. Os receptores de alta afinidade, MT1 e MT2, pertencem à superfamília dos receptores ligados à proteína G. Em particular, ligam-se à proteína Gi , promovendo, ambos, uma redução na produção do AMPc. No caso do MT1, além de ligar-se à Gi, o receptor tem afinidade pela proteína Gq/11 o que lhe confere a característica de dependendo das circunstâncias, potencializar a produção de diacilglicerol e IP3, podendo aumentar a concentração intracelular de cálcio e atividade da PKC. Por outro lado, está demonstrado em vários sistemas, que a melatonina, mediada pelo receptor MT1 pode ativar correntes retificadoras de potássio, diminuindo a despolarização celular, resultando numa redução do influxo de cálcio através dos canais de cálcio dependentes de voltagem. Os mecanismos mobilizados pela Gi, quando o receptor

MT2 é ativado também podem resultar numa redução do GMPc. Os receptores de alta afinidade estão distribuídos por todo o organismo desde o sistema nervoso central, onde está presente em várias estruturas, até a periferia do organismo, em muitos órgãos e tecidos. Por exemplo, recentemente descobriram a presença de receptores funcionais de melatonina (MT1, MT2) em adipócitos de ratos e humanos. O efeito da melatonina, nestes adipócitos, é via receptor associado a proteína Gi, acoplado negativamente ao sistema adenil ciclase (BLASK *et al.,* 1999; BRYDON *et al.,* 2001; ZALATAN *et al.,* 2001).

O terceiro tipo de receptor de membrana para melatonina existente em mamíferos é o MT3, um receptor cuja estrutura molecular é muito parecida com uma enzima, a quinona redutase, e cujas ações não estão completamente esclarecidas.

Tecido Adiposo

O tecido adiposo é o principal reservatório energético do organismo representando um papel fundamental na sobrevivência, evolução e capacidade adaptativa no mundo animal. É constituído por células diferenciadas, os adipócitos, que estão inseridas na matriz do tecido conjuntivo podendo variar muito de tamanho e volume (20 – 200 um de diâmetro) conforme a quantidade de gordura armazenada (FRUHBECK *et al.,* 2001).

Os adipócitos além de importante função como reservatório energético corporal secretam inúmeros compostos protéicos e não protéicos que agem sobre os próprios adipócitos e outros tecidos do organismo. Dessa forma, esses fatores modulam o comportamento funcional do tecido adiposo ao mesmo tempo em que cria mecanismos de feedback entre eles.

A regulação dos processos de resposta do tecido adiposo ocorre por meio de nutrientes e sinais aferentes dos sistemas neurais e hormonais e depende das necessidades energéticas do indivíduo (AHIMA e FLIER, 2000), age como um órgão endócrino expressando e secretando uma série de hormônios, fatores de crescimento e citocinas (leptina, fator de necrose tumoral (TNFα), interleucina-6 (IL6), angiotensinogênio, adipsina, adiponectina entre outros).

O papel primário do adipócito é estocar triacilglicerol durante períodos de aporte calórico e mobilizar esta reserva energética quando o consumo excede a ingestão. Os

adipócitos realizam essas funções, pois possuem muitas enzimas e proteínas regulatórias necessárias para cumprir lipólise e lipogênese.

A capacidade de armazenamento energético do tecido adiposo é virtualmente ilimitada. Resulta do aumento das reservas de cada adipócito (favorecimento da lipogênese relativamente à lipólise) e da replicação e diferenciação de pré-adipócitos (adipogênese). A ausência de limite representa vantagem adaptativa em curto prazo e desvantagem em longo prazo traduzida em disfunção endócrina-metabólica.

Fatores neuroendócrinos, nutricionais, parácrinos e autócrinos intervêm na proliferação ou recrutamento de células adiposas, e assume um importante papel permitindo ao organismo: adaptar-se a diferentes mudanças metabólicas, tais como jejum, exercício físico, infecção, bem como em períodos de excesso de oferta de energia (FRUHBECK *et al.,* 2001).

O tecido adiposo está ativamente envolvido na regulação da função celular e influencia a resposta de muitos tecidos, incluindo sistema nervoso central (hipotálamo, por exemplo), pâncreas, fígado, músculo esquelético, rim, endotélio e sistema imune, entre outros.

O sistema nervoso autônomo tem controle direto sobre o tecido adiposo através de seus componentes simpático e parassimpático. A inervação simpática relaciona-se principalmente com as ações catabólicas, tais como a lipólise mediada pelos receptores β-adrenérgicos e dependente da atividade da enzima lipase hormônio-sensível (LHS) (PÉNICAUD *et al.,* 2000). Por outro lado, o sistema nervoso parassimpático está envolvido na execução de efeitos anabólicos sobre os depósitos adiposos, como a captação de glicose e de ácidos graxos estimulada pela insulina.

Treinamento Físico e Metabolismo

O treinamento físico aeróbio proporciona inúmeras adaptações agudas e crônicas sobre o sistema cardiovascular, hormonal e neural, com a finalidade de liberar oxigênio e substratos metabólicos para os grupos musculares em atividade e, ao mesmo tempo, manter a distribuição destes substratos para os órgãos vitais (RICHTER *et al.,* 1998). Durante o exercício físico, os combustíveis metabólicos tornam-se disponíveis através de um sistema

complexo, que envolve um rápido aumento na oxidação de glicose associada à rápida mobilização das reservas de glicogênio do próprio tecido, e das reservas de tricilgliceróis, estimuladas pela ativação do sistema nervoso simpático (HOELZER *et al.,* 1986).

A glicose e os ácidos graxos, principais combustíveis metabólicos para o músculo, são liberados na circulação a partir do fígado e do tecido adiposo, respectivamente, e os aminoácidos encontram-se disponíveis através do aumento de sua liberação pelo músculo (AHLBORG *et al.,* 1974).

A glicogenólise e gliconeogênese realizadas no fígado têm o intuito de manter a glicemia relativamente constante durante o exercício. A gliconeogênese contribui com cerca de 25% na fase inicial do exercício (FELIG e WAHREN, 1975). O inicio do exercício também está associado à ativação da lipólise no tecido adiposo e a liberação de ácidos graxos livres e glicerol na circulação, sendo que as concentrações de ácidos graxos livres elevam-se e são captados e utilizados pelos músculos em exercício. Em repouso o músculo utiliza relativamente pouca glicose em torno de 10% para o fornecimento energético e 85% a 90% da oxidação de ácidos graxos e 1 a 2% dos aminoácidos (AHLBORG *et al.,* 1974). A utilização de substratos energéticos pelo músculo durante o exercício varia de acordo com o tipo de atividade, intensidade e duração. Contudo, durante exercícios de alta intensidade 40% da energia provem da oxidação da glicose (FELIG e WAHREN, 1975).

À medida que ocorre a depleção dos estoques de glicogênio muscular, a atividade da enzima lípase de lipoproteínas (LPL), localizada no endotélio capilar muscular, aumenta, elevando assim, em cerca de 50% a captação dos triglicerídeos plasmáticos por este tecido (LITHELL *et al.,* 1984). Com o aumento na captação de ácidos graxos pelo tecido muscular esse passa a preservar a utilização de glicose e a obter energia para as sua necessidades metabólicas a partir dos ácidos graxos (AHBORG e FELIG, 1982).

Com o início do exercício existe um aumento na liberação de adrenalina e noradrenalina os quais se ligarão aos receptores $ß_3$ das membranas dos adipócitos, a enzima lípase hormônio-sensível é fosforilada passando da forma inativa para a ativa. Essa enzima junto com a enzima monoacilglicerol lípase, é responsável pela degradação do triglicerídeos (TG) em 1 molécula de glicerol e 3 de ácidos graxos. Uma vez desligado dos ácidos graxos, tanto no tecido adiposo quanto muscular, o glicerol obrigatoriamente irá

para a corrente sanguínea, não podendo ser utilizado diretamente para a ressíntese de novos TGs, devido a ausência da enzima glicerolquinase nesses tecidos. Os ácidos graxos (AGL) ligam-se à albumina porque são lipossolúveis e não conseguem ser transportados livres no plasma, sendo levados posteriormente até o músculo esquelético para serem utilizados como fonte energética.

As fontes metabólicas utilizadas para fornecer energia para a contração muscular podem ser de origem exógena (dieta), como também de origem endógena, através da glicogenólise, gliconeogênese e lipólise (SMITH, 1993).

Segundo Ben-ezra *et al.* (1995) e Brambrink *et al.* (1997), o exercício físico é capaz de aumentar a sensibilidade e/ou a responsividade a insulina durante e após o exercício físico. O exercício físico também aumenta o transporte de glicose e a proteína GLUT4 em células adiposas (STALLKNECHT *et al.,* 1991; HIRSHMAN *et al.*, 1992) e em músculo esquelético (REYNOLDS *et al.,* 1997).

O treinamento físico potencia os efeitos do exercício sobre a sensibilidade insulínica, através de múltiplos fatores, incluindo aumento da massa muscular, aumento do fluxo sanguíneo, aumento da capacidade das enzimas oxidativas mitocôndrias e ativação do sistema de transporte de glicose (KOIVISTO *et al.,* 1986).

Influência da glândula pineal sobre a biologia do adipócito

Existe um elo funcional entre a glândula pineal e o tecido adiposo que se tornou evidente em estudos envolvendo adipócitos isolados de tecido adiposo branco incubados com a melatonina, mostrando que este hormônio aumenta a sensibilidade à insulina medida através de testes de captação de glicose (LIMA *et al*., 1994), e que a pinealectomia leva ao desenvolvimento de resistência à insulina, com redução do conteúdo e da expressão gênica de GLUT4 neste tecido (LIMA *et al.,* 1998). Em estudos recentes (ALONSO-VALE *et al.,* 2004a), foi constatado que a pinealectomia provocou resistência insulínica e hipercorticosteronemia em todos os horários estudados ao longo das 24h do dia e, ainda, provocou uma alteração diária nos parâmetros metabólicos dos adipócitos de forma a resultar num quadro de inadequação entre os requerimentos energéticos e a capacidade de mobilizá-los de acordo com o ciclo diário de atividade-repouso. Esse mesmo efeito de

desorganização rítmica metabólica provocada pela pinealectomia foi constatado quando se estudou resposta secretória de insulina em ilhotas pancreáticas isoladas frente a um estímulo glicêmico (PICINATO *et al.,* 2002).

Estudos (ALONSO-VALE *et al.,* 2004b) sobre as respostas adaptativas ao jejum de 36 h em animais pinealectomizados mostraram que a pinealectomia intensificou a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal de forma a elevar consideravelmente a corticosteronemia, além de induzir queda importante da leptina plasmática. Com efeito, a pinealectomia acentuou a resistência insulínica ao longo do jejum, ao mesmo tempo em que reduziu a atividade anabólica de adipócitos determinada por testes biológicos *in vitro*, isto é, intensificou a oxidação de glicose e reduziu a síntese de lipídios. Em adição, a produção hormonal de leptina pelo TAB de ratos pinealectomizados se mostrou reduzida em relação aos de animais intactos durante o jejum, ao mesmo tempo em que os níveis plasmáticos de corticosterona estavam elevados.

Alonso-Valle *et al.* (2006) estudaram efeito da exposição circadiana de adipócitos isolados *in vitro* com melatonina e desta em associação com insulina e dexametasona, notou-se que 12 horas após a incubação tanto a melatonina como a insulina separadas não afetaram a expressão de leptina, no entanto, juntas aumentaram sua expressão em 105%. A dexametasona aumentou a expressão do mRNA e secreção em 70%, não sendo reforçada pela melatonina. No entanto, 60h após a incubação observou-se sinergismo entre a melatonina e a dexametasona, essa interação promoveu aumento de 70% na expressão e secreção de leptina, em comparação a dexametasona sozinha, mostrando que a exposição circadiana à melatonina potencializada pela dexametasona é importante para a ação e os efeitos promovidos pela insulina na expressão de leptina.

Em 2008 Allonso-Valle *et al.,* investigaram os efeitos *in vitro* da exposição circadiana de melatonina na presença ou ausência de insulina na expressão gênica e metabolismo de adipócitos isolados, observaram, durante à noite induzida *in vitro* pela presença de melatonina, aumento na expressão de mRNA dos genes relógio *Per1* e *Clock*, aumento na resposta lipogênica e na secreção de leptina, e diminuição na atividade lipolítica dos adipócitos corroborando com os resultados observados *in vivo*, mostrando assim a relevância fisiológica do padrão circadiano da secreção de melatonina e sua

interação com a insulina, contribuindo para uma melhor compreensão da biologia dos adipócitos

Deste modo, podemos entender que a resposta à insulina é modulada pela melatonina, e esta interação não está limitada aos aspectos metabólicos, mas abrange outras funções do adipócito, interferindo com a sua habilidade de funcionar como um órgão endócrino.

Glândula Pineal, Tecido Adiposo e Exercício Físico

Mazepa *et al.* (2000) investigaram o efeito da melatonina sobre vários parâmetros do metabolismo de carboidratos e lipídios em ratos exercitados até a exaustão (efeito agudo) e não exercitados. Os resultados mostraram que a melatonina tem um efeito poupador dos estoques de glicogênio tendo o conteúdo de glicogênio hepático e muscular aumentado nos animais tratados com melatonina em comparação com os sedentários.

Borges-Silva (2005) estudou os efeitos do exercício físico e da pinealectomia no metabolismo do tecido adiposo e demonstraram que a pinealectomia resultou em uma diminuição significativa na captação de glicose, estimulada pela insulina, nos adipócitos além de influenciar a capacidade dos adipócitos em oxidar substratos (glicose, palmitato) e aumentou as taxas de lactato e acetato, mostrando que a glândula pineal altera os padrões de utilização dos substratos pelo adipócito de tal forma que sua ausência perturba a capacidade do adipócito em adaptar-se a demandas metabólicas evocadas pelo exercício. Em outro estudo Borges-Silva *et al.* (2005) mostraram uma diminuição da capacidade lipolítica e aumento da capacidade lipogênica no tecido adiposo de ratos pinealectomizados adaptados ao treinamento.

Em 2007 Borges-Silva *et al.,* estudaram o papel da glândula pineal e os efeitos do treinamento crônico em tecidos envolvidos no metabolismo de carboidratos, como o músculo estriado esquelético sóleo e o fígado. O treinamento físico nos animais intactos promoveu um aumento no conteúdo de glicogênio hepático, mas causou uma redução na atividade das enzimas dos adipócitos envolvidas no metabolismo de carboidratos. Os animais pinealectomizados submetidos ao treinamento mostraram uma diminuição no conteúdo de glicogênio hepático e muscular, e aumento da atividade das enzimas

envolvidas no metabolismo de carboidratos nos adipócitos, mostrando que a integridade da glândula pineal é necessária para o controle homeostático do metabolismo energético entre os tecidos adiposo, muscular e hepático.

Resultados obtidos após o treinamento físico de ratos por 8 semanas mostraram a incapacidade de ajuste metabólico dos animais pinealectomizados frente ao estímulo do exercício físico. Os ratos pinealectomizados não conseguiram melhorar o seu desempenho metabólico frente ao exercício, persistindo a resistência à insulina e uma piora geral do quadro metabólico. Adicionalmente, o conteúdo plasmático de leptina nestes animais mostrou-se significativamente reduzido em decorrência da pinealectomia (BORGES-SILVA *et al.,* 2005). Além disso, a produção hormonal de leptina pelo TAB de ratos pinealectomizados se mostrou mais reduzida que a de animais intactos durante o programa de treinamento físico, ao mesmo tempo em que aos níveis plasmáticos de corticosterona estava mais elevado. Como se pode ver, a glândula pineal, por atuar como um sincronizador interno do metabolismo energético e como um elo de conexão entre o meio ambiente e o organismo animal, parece funcionar em conjunto com o tecido adiposo como um grande sistema da adaptação metabólica aos desafios ambientais e ao estresse.

Sabendo que atividade metabólica dos tecidos adiposo e muscular tem um importante papel na regulação metabólica, e que a ausência da glândula pineal causa um desajuste nessa regulação, propomos complementar os estudos sobre as adaptações metabólicas do tecido adiposo ao exercício, estendendo, agora, o estudo para o tecido muscular. Além disso, pretende-se estudar se a reposição terapêutica de melatonina é capaz de reverter às modificações metabólicas do animal pinealectomizado em resposta ao treinamento.

CONCLUSÃO

Em resumo as tabelas 1 e 2 mostram as alterações na atividade metabólica do tecido adiposo e tecido muscular.

TABELA 1. Atividade Metabólica no Tecido Adiposo

Captação de Glicose	**Controle**	**Pinealectomia**	**Tratados com Melatonina**
Sedentário	↓	↓	↑
Treinado	↑	↓	↑
Oxidação de Glicose			
Sedentário	↓	↓	↑
Treinado	↑	↓	↑
Lipogênese			
Sedentário	↑	↑	↓
Treinado	↓	↑	↓
Lipólise			
Sedentário	↓	↓	↑
Treinado	↑	↓	↑

TABELA 2. Atividade Metabólica no Tecido Muscular

Captação de Glicose	**Controle**	**Pinealectomia**	**Tratados com Melatonina**
Sedentário	↓	↓	↑
Treinado	↑	↓	↑
Oxidação de Glicose			
Sedentário	↓	↓	↑
Treinado	↑	↓	↑
Síntese de Glicogênio			
Sedentário		↓	
Treinado			
Conteúdo de Glicogênio			
Sedentário	↓	↓	↑
Treinado	↑	↓	↑

Em conclusão, os resultados demonstram que a glândula pineal tem um papel na regulação do metabolismo de lipídeos e carboidratos em resposta ao treinamento físico, a remoção da glândula causa alterações na resposta adaptativa do tecido adiposo e do tecido muscular e o tratamento com melatonina é capaz de reverter o quadro de desajuste metabólico instaurado pela pinealectomia.

Demonstrando dessa forma a importância da melatonina na regulação das adaptações metabólicas ao treinamento físico aeróbio, muito provavelmente, entre outras coisas, pela sua capacidade de regular a sensibilidade periférica (e central) á insulina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

AFECHE, S.C.; AMARAL, F.G.; VILELLA, D.C.M.; ABRAÃO, M.V.; PERES, R.; CIPOLLA-NETO, J. Melatonin and Pineal Gland: In: ROMANO E.; DE LUCA S. (Ed.). **New Research on Neurosecretory Systems**. New York: Nova Science Publishers, 2008.

AHIMA, R.S.; FLIER, J.S. Adipose tissue as na endocrine organ. **Trends Endocrinol. Metab**., v.8, p.327-332, 2000.

AHLBORG, G.; FELIG, P.; HAGENFELDT, L.; HENDLER, P.; WAHPEN, J. Substrate turnover during prolonged exercise. **J. Clin. Invest.**, v.53, p.1080-1090, 1974.

AHLBORG, G.; FELI G, P. Lactate and glucose exchange across the forearms, legs, and splanchnic bed during and after prolonged leg exercise. **J. Clin. Invest.,** v.69, p.45-54, 1982.

ALONSO-VALE, M.I.C.; BORGES-SILVA, C.N.; FORATO-ANHÊ, G.; ANDREOTTI, S.; MACHADO, M.A.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F.B. Light/dark cycle-dependent metabolic changes in adipose tissue of pinealectomized rats. **Horm. Metab. Res**., v.36, p.474-9, 2004a.

ALONSO-VALE, M.I.C.; FORATO-ANHÊ, G., BORGES-SILVA, C.N.; ANDREOTTI, S.; PERES, S.B.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F.B. Pinealectomy alters adipose tissue adaptability to fasting in rats. **Metabolism**, v.53, p.500-6, 2004b.

ALONSO-VALE, M.I.C.; ANDREOTTI, S.; BORGES-SILVA, C.N.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F.B. Intermittent and rhythmic exposure to melatonin in primary cultured adipocytes enhances the insulin and dexamethasone effects on leptin expression **J. Pineal Res.,** v.41, p.28-34, 2006.

ALONSO-VALE, M.I.C.; ANDREOTTI, S.; MUKAI, P.Y; BORGES-SILVA, C.N; PERES, S.B.; CIPOLLA-NETO, J.; LIMA, F.B. Melatonin and the circadian entrainment of metabolic and hormonal activities in primary isolatd adipocytes. **J. Pineal Res.,** v.45, p.422-429, 2008.

---

* **De acordo com:**
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023:** Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ARENDT, J. **Melatonin and the mammalian pineal gland**. London: Chapman e Hill, 1995.

BESANÇON, R.; SIMONNEAUX, V.; JOUVET, A.; BELIN, M.F.; FÈVRE-MONTANGE, M. Nycthmeral expression of tryptophan hydroxylase mRNAs in the rat pineal gland. **Mol. Brain Res.**, v.40, p.136-8, 1996.

BEN-EZRA, V.; JANKOWSKI, C.; KENDRICK K.; NICHOLS, D. Effect of intensity and energy expenditure on postexercise insulin responses in women. **J. Appl. Physiol.,** 79:2029-2034, 1995.

BLASK, D.E.; SAVER, L.A.; DAUCHY, R.T.; HOLOWACHUK, E.W.; RUHOFF, M.S; KOPFF, H.S. Melatonin inhibition of cancer growth in vivo involves suppression of tumor fatty acid metabolism via melatonin receptor medeated signal transduction events. **Cancer Res**., v.59, p.4693-4701, 1999.

BORGES-SILVA, C.N. **A pinealectomia modifica a resposta metabólica do tecido adiposo ao treinamento físico e ratos.** Dissertação (Doutorado) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BORGES-SILVA, C.N.; ALONSO-VALE M.I.C.; FRANZÓI DE MORAES S.M.; TAKADA J.; ANDREOTTI S.; PERES S.B.; SKOPURA, A.L.; CIPOLLA-NETO, J.; PITHON-CURI, T.C.; LIMA, F.B. Pinealectomy impairs adipose tissue adaptability to exercise in rats. **Pineal Res.**, v.38, p.278-83, 2005.

BORGES-SILVA, C.N.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M.I.C.; PERES, S.B.; FONSECA-ALANIZ, M.H.; ANDREOTTI, S.; CIPOLLA-NETO, J.; PITHON-CURI, T.C.; LIMA, F.B. Pinealectomy reduces hepatic and muscular glycogen content and attenuates aerobic power adaptability in trained rats. **J. Pineal Res.,** v.43, p.96-103, 2008.

BORJIGIN, J.; WANG, M. M.; SNYDER, S. H. Diurnal variation in mRNA encoding serotonin N-acetyltransferase in pineal gland. **Nature**, v. 378, p. 783-5, 1995.

BRAMBRINK, J. K.; FLUCKEY, J. D.; HICKEY, M.S.; CRAIG, B.W. Influence of muscle mass and work on post-exercise glucose and insulin responses in young untrained subjects. **Acta Physiol. Scand**., v.161, p.371-377, 1997.

BRYDON, L.; PETIT, L.; STROSBERG, A.D.; JOCKERS, R. Functional expression of MT2 (Mel 1b) melatonin receptors in human PAZ6 adipocytes. **Endocrinology**, v.142, p.4264-4271, 2001.

CHALLISS, R. A.; ESPINAL, J.; NEWSHOLME, E. A. Insulin sensitivity of rates of glycolysis and glycogen synthesis in soleus, stripped soleus, epitrochlearis, and hemi-diaphragm muscles isolated from sedentary rats. **Biosci. Rep.**, v.3, n.7, p.675-9, 1983.

CHALLISS, R. A. J.; LOZEMAN, F. J.; LEIGHTON, B.; NEWSHOLME, E. A. Effects of the beta-adrenoceptor agonist isoprenaline on insulin-sensibility in soleus muscle of the rat. **Biochem. J.**, v.233, n.2, p.377-81, 1986.

CIPOLLA-NETO, J.; AFECHE, S.C. Glândula Pineal: in Aires, M.M. (Ed.). Fisiologia. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999, p. 805-811

COLLIN, J.P. Contribution A` L'e´Tude De L'organe Pine´Al. De L'e´Piphyse Sensorielle A` La Glande Pine´Ale : Modalite´S De Transformation Et Implications Fonctionelles. **Ann. Stn Biol**., *Besse-En-Chandesse,* v.1, p.359, 1969. Suppl. 1.

COLLIN, J.P. The Pineal Gland In: WOLSTENHOLME, G.E.W.; KNIGHT, J. (Ed.). **Differentiation and Regression of The Cells of The Sensory Line in the Epiphysis Cerebri.** London: J. A. Churchill, 1971. p. 79–125.

CRETTAZ, M.; PRENTKI, M.; ZANINETTI, D.; JEANRENAUD, B. Insulin resistance in soleus muscle from obese Zucker rats. Involvement of several defective sites. **Biochem. J.**, v.186, n.2, p.525-34, 1980.

DOLE, V.P.; MEIRNETZ, H. Microdetermination of long chain fatty acids in plasma and tissues. **J. Biol. Chem**., v.235, p.2595-2599, 1960.

DUFLOTH, D.L.; MORRIS, M.; MICHELINI, L.C. Modulation of exercise Tachycardia by vasopressin in the nucleus tractus solitari. **Am. J. Physiol**., v.273, p.1271-1287, 1997.

EKSTROM, P.; MEISSL H. Evolution of photosensory pineal organs in new light: the fate of neuroendocrine photoreceptors. **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.,** v.358, n.1438, p.1679-700; 2003. Review.

ESPINAL, J.; DOHM, G. L.; NEWSHOLME, E. A. Sensitivity to insulin of glycolysis and glycogen synthesis of isolated soleus muscle strips from sedentary, exercised-trained rats. **Biochem. J.**, v.212, p.453-8, 1983.

FELIG, P.; WHAREN J. Fuel homeostasis in exercise. **N. Engl. J. Méd.**, v. 293, p. 1073-1804, 1975.

FRANZ I.W.; LOHMANN F.W.; KOCH G.; QUABBE H.J. Aspects of hormonal regulation of lipolysis during exercise: effects of chronic ß- receptor blockade. **Int. J. Sports Med.,** v.4, p.14-20, 1983.

FRASCHINI, F.; SCAGLIONE, F.; FRANCO, P.; DERMARTINI, G.; LUCINI, V.; STANKOV, B.; SACERDOTE, P. Melatonin and immunity. **Acta Oncol.**, v. 29, p. 775-76, 1990.

FRUHBECK, G.; GOMEZ-AMBROSI, J.; MURUZABAL, F.; BURREL, M. A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.,** v.280, p.827-847, 2001.

GANGULY, S.; GASTEL, J. A.; WELLER, J. L.; SCHWARTZ, C.; JAFFE, H.; NAMBOODIRI, M. A. A.; COON, S. L.; HICKMAN, A. B.; ROLLAG, M.; OBSIL, T.; BEAUVERGER, P.; FERRY, G.; BOUTIN, J. A.; KLEIN, D. C. Role of a pineal cAMP-operated arylalkylamine N-acetyltransferase/ 14-3-3-binding switch in melatonin synthesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 98, p.8083-8, 2001.

GASTEL, J. A.; ROSEBOOM, P.H.; WELLER, J. L.; KLEIN, D. C. Melatonin production: proteasomal proteolysis in serotonin N-acetiltransferase regation. **Science**, v. 279, p. 1358-60, 1998.

GONZALES, B.A.; JONES, D.J.; ADEME, R. M.; REITER, R.J. Characterization and measurements of [125] l-iopindol binding in individual rat. Pineal Glands: existence of 24h rhythm in beta adrenergic receptor density. **Brain Res.,** v.438, p.108-114, 1988.

GOMPERTS, B. D.; KRAMER, I. M.; TATHAM, P. E. R. **Signal transduction**. San Diego: Academic Press, 2002.

HILLGARTENER, F.B.; SALATI, L.M.; GOODRIDGE, A.G. Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. **Physiol. Rev.,** v.75, p. 47-76, 1995.

HIRABARA, S. M.; CARVALHO, C. R. O.; MENDONÇA, J. R.; HABER, E. P.; FERNANDES, L. C.; CURI, R. Palmitate acutely raises glycogen synthesis in rat soleus muscle by a mechanism that requires its metabolization (Randle cycle). **FEBS Lett.**, v.541, p.109-14, 2003.

HIRSHMAN, J.; MARCUS, C.; SONNENFELD, T.; ARNER, P. Mechanisms for differences is lipolysis between human subcutaneous and omental fat cells. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.75, p.15-20, 1992.

HOELZER, D.R. *et al.* Glucoregulation during exercise: hypoglycemia is prevented by reduntant glucoregulatory systems, sympathochromaffin activation, and changes in islet hormone secretion. **J. Clin. Invest.**, v.77, p.212-221,1986.

JOHNSON, R.F.; MORIN, L.P.; MOORE, R.Y. Retinohypothalamic projections in the hamster and rat demonstrated using cholera toxin. **Brain Res**., v 462, p.301-312, 1988.

KAPPERS, J. A. The development topographical relation and innervation of epiphysis cerebri in tha albino rat. **Z. Zellforsch.**, v. 52, p.163-215, 1960.

KLEIN, D.C.; WELLER J.L. Rapid light-induced decrease in pineal serotonin n-acetyltransferase activity. **Science**, v.177, p.532-3, 1972.

KLEIN, D.C.; BUDA M.J.; KAPOOR C.L.; KRISHNA, G. Pineal serotonin N-acetyltransferase activity: Abrupt decrease in adenosine 3',5'-monophosphate may be signal for "turnoff". **Science**, 199: 309-11, 1978.

KLEIN, D. C.; SUGDEN, D.; WELLER, J. L. Postsynaptic α-adrenergic receptors potentiate the β-adrenergic stimulation of pineal serotonin N-acetyltransferase. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 80, p. 599-603, 1983.

KLEIN, D. C.; GANGULY, S.; COON, S.; WELLER, J. L.; OBSIL, T.; HICKMAN, A.; DYDA, F. 14-3-3 Proteins and photoneuroendocrine transduction: role in controlling the daily rhythm in melatonin. **Biochem. Soc. Trans.**, v.30, p.365-373, 2002. Part 4.

KOIVISTO, V.A.; YKI-JARVINEN, H. DEFRONZO R.A. Physical training and insulin sensitivy. **Diabetes Metab. Rev.,** v.1, p.4445-4481, 1986.

LEIGHTON, B.; BUDOHOSKI, L.; LOZEMAN, F. J.; CHALLISS, R. A.; NEWSHOLME, E. A. The effect of prostaglandins E1, E2 and F2 alpha and indomethacin on the sensitivity of glycolysis and glycogen synthesis to insulin in stripped soleus muscles of the rat. **Biochem. J.,** v.227, n.1, p. 337-40, 1985.

LIMA, F.B.; MATSUSHITA, D.H.; HELL, N.S.; DOLNIKOFF, M.S.; OKAMOTO, M.M.; CIPOLLA-NETO, J. The regulation of insulin action in isolated adipocytes. Role of the periodicity of food intake, time of the day, and melatonin. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.27, p.995-1000. 1994.

LIMA, F.B.; MACHADO, U.F.; BARTOL, I. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. **Endocrinol. Metab.,** v.38, p.E934-41, 1998.

LIMA-SILVA, A.E.; ADAMI, F.; NAKAMURA, F. Y.; OLIVEIRA, F.R.; GEVAERD, M.S. Metabolismo de gordura durante o exercício físico: Mecanismos de regulação. **Rev. Brás. Cineantropom. Desempenho Humano,** v.8, n.4, p.106-114, 2006.

LITHEL, H.; SCHELE, R.; VESSBY, B.; JACOB, I. Lipoproteins, lipoprotein lipase, and glycogen after prolonged physical activity. **J. Appl. Physiol**., 53: 698-702, 1984.

MAZEPA, R.C.; CUEVAS, M.J.; COLLADO, P.S.; GONZALEZ-GALLEGO, J. Melatonin increases muscle and liver glycogen content in non exercised and exercised rats. **Life Sci.,** v.66, p.153-160, 2000.

MCKINLEY, M. J.; MCACLEN, R. M.; MENDELSOHN, F. A. O, ALLEN, A. M.; CHAI, S. Y.; ALDFIELD, B. J. Circunventricular organs: Neuroendocrine interfaces between the brain and the hemal milieu. **Frontiers Neuroendocrinol**., v.11, p.91-127, 1990.

MOLLER, M. Fine structure of the pinealopetal innervation of the mammalian pineal gland. **Microsc. Res. Techn**., v. 21, n. 3, p.188-204, 1992.

MOROSKA, A.; DEAK, T.; SPENCER, R.L.; MOROSKA A.; ROTH, D.; FLESHNER, M. Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in

Sprague-Dawley rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.,** v.279, p.1321-1329, 2000.

NEGRÃO, C. E.; MOREIRA, E. D.; SANTOS, M. C. L. M.; FARAH, V. M. A.; KRIEGER, E. M. Vagal function impairment after exercise training**. J. Appl. Physiol**., v.72, p.1749-53, 1992.

PARFITT, A.; WELLER, J.L.; KLEIN D.C. Beta adrenergic-blockers decrease adrenergically stimulated n-acetyltransferase activity in pineal glands in organ culture. **Neuropharmacology**, v.15, p.353-8, 1976.

PÉNICAUD, L.; COUSIN, B.; LELOUP, C.; LORSIGNOL, A.; CASTEILLA, L. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. **Nutrition**, v.16, p.903-8, 2000.

PICINATO, M.C.; HABER, E.P.; CARPINELLI, A.R.; CIPOLLA-NETO, J. Daily rhythm of glucose-induced insulin secretion by isolated islets from intact and pinealectomized rat. **J. Pineal Res**., v.33, p.172-177, 2002.

RALPH, C.L. Pineal bodies and thermoregulation. In: REITER, R.J. (Ed.). **The pineal gland**. New York: Raven, 1984. p.193-220.

REITER, J. Pineal Melatonin: Cell biology of its syntesis an of its physiological interactions. **Endocrine Rev.,** 12:151-180, 1991.

REITER R.J. The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. **Experientia,** v.49, p.654-664, 1993.

REYNOLDS, T.H.; BROZINICK, J.T.; ROGERS, JR M.A.; CUSHMAN, S.W. Effects of exercise training on glucose transport and cell surface GLUT-4 in isolated rat epitrochlearis muscle. **Am. J. Physiol**., v.272, p.320-325, 1997.

RIBELAYGA, C.; GAUER, F.; CALGARI, C.; PEVET, P.; SIMONNEAUX, V. Photoneural regulation of rat pineal hydroxyindole-o-methyltransferase (hiomt) messenger ribonucleic acid expression: an analysis of its complex relationship with HIOMT activity. **Endocrinology**, v.140, p.1375-84, 1999.

RIBELAYGA, C.; GARIDOU, M-L.; MALAN, A.; GAUER, F.; CALGARI, C.; PÉVET, P.; SIMONNEAUX, V. Photoperiodic control of the rat pineal AA-NAT and HIOMT gene expression and its effect on melatonin synthesis. **J. Biol. Rhythms**, v.14, n.2, p.105 -115, 1999.

RICHARD, D.; RIVEST, S. The role of exercise in thermogenesis and energy balance. **Can. J. Physiol. Pharmacol.,** v.67, p.402-409, 1989.

RICHTER, E.A.; JENSEN, P.; KIENS, B.; KRISTIANSEN, S. Sarcotemmal glucose transport and GLUT-4 translocation during exercise are diminished training. **Am. J. Physiol.,** v.274, p.89-95, 1998.

ROMERO, J. A.; ZATZ, M.; AXELROD, J. Beta-adrenergic stimulation of pineal N-acetyltransferase: adenosine 3':5'-cyclic monophosphate stimulates both RNA and protein synthesis**. Proc. Nat. Acad. Sci. USA**, v.72, n.6, p.2107-11, 1975.

SHIBUYA, H.; TORU, M.; WATANABE, S. A circadian rhythm of tryptophan hydroxylase in rat pineals. **Brain Res.**, v.138, p.364-8, 1978.

SIMONNEAUX, V.; RIBELAYGA, C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: A Review Of The Complex Regulation Of Melatonin Synthesis By Norepinephrine, Peptides, And Other Pineal Transmitters**. Pharmacol. Rev.,** v.55, p.325-95, 2003.

SMITH, U. Regional differences in adipocyte metabolism and possible consequences in vivo. **Int. J. Obes.,** v.1, p.145-148, 1985.

SPEH, J.C.; MOORE, R.Y. Retinohypothalamic tract development in the hamster and rat. **Dev. Brain Res.,** v.76, p.171-178, 1993.

STALLKNECHT, B.; VINTEN, J.; PLOUG, T.; GALBO, H. Increased activities of mitochondrial enzymes in white adipose tissue in trained rats. **Am. J. Physiol.,** v.24, p.414-414, 1991.

SUGDEN, D.; VANECEK, J.; KLEIN, D.C.; THOMAS, T.; ANDERSONS, W. B. Activation of protein kinase C potetiates isoprenaline-induced cAMP accumulation in rat pinealocytes. **Nature**, v. 61, p.314-59, 1985.

SUGDEN, D.; KLEIN, D.C. Activators of protein kinase C act at a postreceptor site to amplify cyclic AMP production in rat pinealocytes. **J. Neurochem**., v.50, p149-55, 1988.

SUGDEN, D. Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland. **Experientia**, v. 45, p.922-31, 1989.

VANECEK, J.; SUGDEN, D.; WELLER, J.; KLEIN, D.C. Atypical synergistc α1-adrenergic and β-adrenergic regulation of adenosine 3',5' monophosphate and guanosine 3',5' monophosphate in rat pinealocytes. **Endocrinology**, v.11, n.6, p.2167-73, 1985.

VOLLRATH L. The Pineal Organ. **In:** A. Oksche e L. Vollrath **(Ed.). Handbuch Der Mikroskopischen Anatomie Des. Menschen.** Berlin–Heidelberg/New York: Springer, 1981. v. 6/7.

ZALATAN, F.; KRAUSE, J.A.; BLASK, D.E. Inhibition of isoproterenol-induced lipolysis in rat inguinal adipocytes in vitro by physiological melatonin via a receptor-mediated mechanism. **Endocrinology,** v.142, p.3783-3790, 2001.